



Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

Campus Ensenada

Tesis:

**“DETECCIÓN DE SÍNTOMAS ASOCIADOS A LAS
ENFERMEDADES DEL ENROLLAMIENTO DE LA HOJA Y
MANCHA ROJA EN VID (*VITIS VINIFERA*), CON
ALGORITMOS DE REDES NEURONALES
CONVOLUCIONALES”**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIOINGENIERA**

Presenta:

Carolina Lazcano Garcia

Ensenada, Baja California, 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO



**"Detección asociados a las enfermedades del enrollamiento de la hoja y mancha roja
en *Vitis vinifera*, con algoritmos de redes neuronales convolucionales"**

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

Bioingeniería

PRESENTA

**Carolina Lazcano Garcia
365318**

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una
revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P, las y los señores
profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rúbrica:

M.C. Karen Guadalupe
Garcia Resendiz
DIRECTORA

Dr. Oscar Adrian Aguirre
Castro
CODIRECTOR

Dr. David Cervantes
Vásquez
SINODAL

Dr. Everardo Inzunza
González
SINODAL

Dra. Jimena Carrillo Tripp
SINODAL

"Por la Realización Plena del Ser"

C.c.p.- Archivo
C.c.p.- Minutario

RESUMEN

Los procesos moleculares empleados en el diagnóstico de enfermedades en plantas son costosos, por lo que se está incorporando cada vez más la tecnología de aprendizaje automático. Estos modelos permiten la detección temprana de síntomas foliares asociados a enfermedades virales en plantas de vid. El presente trabajo profundiza el proceso de detección de síntomas de las enfermedades de mancha roja (GRBD, por sus siglas en inglés) y enrollamiento de la hoja (GLD, por sus siglas en inglés) de la vid, por medio de visión artificial mediante Redes Neuronales Convolucionales (CNNs). El sistema de visión artificial basado en el modelo YoloV5, alcanzó una asertividad del 94% en la categoría de asintomático y 91% en sintomáticos, con una precisión del 94.22%. Con una recuperación del 88.34% y un F1-score del 91.28%. Estas métricas proporcionan cuál de los modelos entrenados tienen un mejor rendimiento al categorizar la sintomatología de GRBD y/o GLD presentes (o no) en las hojas. Los resultados confirman que las tecnologías de aprendizaje automático, ofrecen una opción atractiva para poder proveer un diagnóstico preventivo.

Palabras clave: Visión artificial; Aprendizaje profundo; Enfermedad de la mancha roja de la vid; Enfermedad del enrollamiento de la hoja de la vid

ABSTRACT

The molecular processes used to diagnose plant diseases are expensive, so machine learning technology is increasingly being incorporated. These models allow early detection by foliar symptoms associated with viral diseases in grapevine plants. The present work deepens the process of detecting symptoms of grapevine red blotch (GRBD) and leafroll (GLD) diseases of the grapevine through artificial vision using Convolutional Neural Networks. (CNNs). Based on the YoloV5 model, the artificial vision system achieved an assertiveness of 94% in the asymptomatic category and 91% in the symptomatic category, with a Precision of 94.22% with a recall of 88.34% and an F1 score of 91.28%. These metrics show which of the trained models performs better in categorizing the symptomatology of GRBD and GLD present (or not) in the leaves. The results confirm that machine learning technologies offer an attractive preventive diagnosis option.

Keywords: Computer vision; Deep learning; Grapevine red blotch disease; Grapevine leafroll disease.

Dedicatoria

A mi madre, quien me dio la vida y siempre ha estado ahí para mí, gracias por hacerme comprender que soy y siempre seré un águila.

A mi padre, quien siempre se preocupa por darnos una vida digna.

A mi hermana Lucía, mi hermana Andrea y mi hermano Jorge, gracias por siempre alimentar mi curiosidad y ayudar a poder desarrollar las habilidades que me sirven en mi vida diaria.

Gracias por siempre respaldarme en todos los pasos que doy, este es el primer avance de los muchos que planeo dar, espero siempre puedan verlos y disfrutarlos conmigo.

A mis amigos, a las personas que aprecio demasiado LM, DI, KF, RL y AJ gracias por quedarse a pesar de siempre decir que puedo sola.

Agradecimientos

El presente trabajo se deriva del proyecto: Prevalencia de virosis de la vid, Enrollamiento de la hoja y Mancha roja, en Baja California; desarrollado en colaboración entre el Laboratorio de Virología Agrícola del CICESE y el equipo de la Campaña contra plagas de la vid del CESVBC.

Este trabajo fue apoyado por fondos otorgados a JCT [CONAHCYT (FOP02-2021-4 Beca 316602), proyecto institucional CICESE (683210)] y a CESVBC (SADERBC, Proyecto de Manejo Fitosanitario de la Vid).

A UABC, junto con sus doctores, maestros y docentes que me han permitido crecer mediante sus enseñanzas.

A CICESE, por permitirme este nuevo paso en mi camino.

A mi Directora M.C Karen García por la paciencia y asesoramiento a través de este proyecto, apoyarme en todo momento, por ser amable y comprensiva conmigo.

A mi Codirector Dr. Oscar Aguirre por enseñarme un poco más, por sus comentarios y observaciones durante el desarrollo del proyecto.

A la Dra. Jimena Carrillo, por adoptarme en el Virolab y darme la oportunidad de realizar este proyecto.

A todos en ViroLab, por ayudarme a aprender un poco más sobre como es el trabajo en equipo y lo que es compañerismo, que me brindaron su amistad y apoyo personal.

A todos los implicados en este proyecto, por su apoyo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
Palabras clave.....	3
ABSTRACT.....	4
Keywords.....	4
I. INTRODUCCIÓN.....	12
1. JUSTIFICACIÓN.....	21
2. HIPÓTESIS.....	21
3. OBJETIVOS.....	21
Objetivo general.....	21
Objetivos específicos.....	21
II. METODOLOGÍA.....	23
III. RESULTADOS.....	32
IV. DISCUSIÓN.....	63
V. CONCLUSIÓN.....	67
VI. TRABAJO A FUTURO.....	68
REFERENCIAS.....	69
ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla. 1. Costo en pesos mexicanos de material y reactivos para desarrollar los diagnósticos de GLRaV-3 por Sandez-Salas, 2021.....	15
Tabla. 2. Reactivos para extracción de ARN.....	26
Tabla 3. Resultados de los análisis de PCR en tiempo real de muestras entre los años 2022 y 2023. García-Reséndiz et al. (en preparación).....	33
Tabla 4. Resultados totales de sintomático y asintomático 2022-2023. García-Reséndiz et al. (en preparación).....	33
Tabla 5. Cuadro comparativo de todos los modelos realizados.....	58
Tabla 6. Cuadro comparativo de métricas de evaluación de los modelos realizados.....	59
Tabla 7. Tabla de las etapas de trabajo.....	64
Tabla 8. Buffer CTAB 2% + PVP 2%.....	74
Tabla 9. Buffer SSTE.....	74
Tabla 10. Cebadores utilizados.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura. 1. Fotografías de vid con síntomas de GRBD y/o GLD.....	13
Figura. 2. Fotografía de hoja de vid con síntomas de GLD.....	14
Figura. 3. Fotografía de hoja de vid con síntomas de GRBD y GLD.....	14
Figura. 4. Gráfica de Machine Learning (ML).....	17
Figura. 5. Gráfica de Redes neuronales convolucionales.....	18
Figura. 6. Sistema de imágenes hiperespectrales de Gao, Z, et al, 2020.....	19
Figura. 7. Clasificación de hojas de Sawyer E, et al, 2023.....	20
Figura. 8. Esquema de procedimiento.....	23
Figura. 9. Sitios de muestreo en Baja California.....	24
Figura. 10. Hojas transportadas al Laboratorio de Virología Agrícola de CICESE.....	25
Figura. 11. Equipos utilizados para extracción de ARN.....	27
Figura 12. Hojas clasificadas por sintomatología.....	29
Figura. 13. Arquitectura YoloV5.....	30
Figura 14. Viñedos de diversos ranchos visitados para la recolección de muestras.....	32
Figura 15. Hojas etiquetadas mediante Roboflow.....	35
Figura 16. Ejemplo de código para entrenamiento de base de datos.....	36
Figura 17. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del primer modelo.....	37
Figura 18. Matriz de confusión del primer modelo.....	38
Figura 19. Predicción de algunas fotografías en base al primer modelo.....	39
Figura 20. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del segundo modelo.....	40
Figura 21 Matriz de confusión del segundo modelo.....	41
Figura 22. Predicción de algunas fotografías con base en el segundo modelo.....	42
Figura 23. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del tercer modelo.....	43
Figura 24. Matriz de confusión del tercer modelo.....	44
Figura 25. Predicción de algunas fotografías con base en el tercer modelo.....	45
Figura 26. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente en campo (tercer modelo).46	
Figura 27. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del cuarto modelo.....	47
Figura 28. Matriz de confusión del cuarto modelo.....	48

Figura 29. Predicción de algunas fotografías con base en el cuarto modelo.....	49
Figura 30. Detección de hojas sintomáticas en vid directamente en campo (cuarto modelo)..	50
Figura 31. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente en campo (cuarto modelo)....	51
Figura 32. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del modelo final.....	52
Figura 33. Matriz de confusión del modelo final.....	53
Figura 34. Predicción de algunas fotografías con base en el último modelo.....	54
Figura 35. Detección de hojas sintomáticas en vid directamente de campo (modelo final)....	55
Figura 36. Detección de hojas sintomáticas en vid directamente de campo a contraluz (modelo final).....	56
Figura 37. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente de campo (modelo final)..	57
Figura 38. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente de campo (modelo final)..	57
Figura 39. Inicio de la interfaz.....	60
Figura 40. Selección de la fotografía en la interfaz.....	60
Figura 41. Fotografía seleccionada en la interfaz.....	61
Figura 42. Detección de GRBD y/o GLD en la fotografía seleccionada.....	62

ACRÓNIMOS

Abreviatura	Significado
CMV	Consejo Mexicano Vitivinícola
GRBV	Grapevine Red Blotch Virus
GRBD	Grapevine Red Blotch Disease
GLD	Grapevine Leafroll Disease
GLRaVs	Grapevine Leafroll-Associated Viruses
IA	Inteligencia Artificial
ELISA	Enzimoimmunoanálisis de adsorción
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción.
RT-LAMP	Amplificación isotérmica mediada por bucle mediante transcriptasa inversa
ddPCR	Droplet digital PCR
CNN	Redes Neuronales Convolucionales
DL	Deep Learning
ML	Machine Learning

I. INTRODUCCIÓN

La viticultura (arte y ciencia del cultivo de la vid) mexicana se remonta al siglo XVII; durante la conquista española, los misioneros franciscanos establecieron sus viñedos en el país, abarcando regiones como Puebla, Coahuila, Nuevo León, Querétaro, Guanajuato, Aguascalientes, San Luis Potosí y Baja California, para la producción de vino ([Vázquez Elorza, A. et al. 2022](#)). En 1860 el gobierno mexicano tuvo la iniciativa de impulsar la producción del vino, por lo que se estableció la Escuela Nacional de Viticultura en Baja California y se lograron fundar diversas bodegas, un ejemplo, Casa Madero, la cual es la más antigua de América y una de las más reconocidas en México ([La historia del vino en México, 2023](#)).

En la actualidad, México se destaca por su industria vitivinícola, debido a que cuenta con más de 35,823 hectáreas de viñedos en todo el país y un aproximado de 400 bodegas de vino, que se encuentran principalmente en Baja California, Coahuila, Sonora y Querétaro, teniendo una producción de 452,927 toneladas de uva y más de 73,000 toneladas de uva industrial en el año 2023 ([Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2023](#)).

En Baja California se tiene una región importante en donde se practica la viticultura, y ha tenido un crecimiento exponencial en los últimos años, denotando que cuenta con una superficie de 4,365 hectáreas ([RABC, 2023](#)); el Consejo Mexicano Vitivinícola (CMV) afirmó que en 2023 se obtuvo un valor comercial de 6,034 millones de pesos de la ganancia total generada por la venta de uvas y productos derivados de la uva en México durante ese año ([Torres, M., 2024](#)).

En Ensenada, Baja California, durante los años 2016 y 2017 se tomaron 46 muestras de plantas de vid que presentaban sintomatología de manchas rojas, fueron analizadas mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y se encontraron muestras positivas a grapevine red blotch virus (GRBV). Este virus ocasiona la enfermedad de la mancha roja (grapevine red blotch disease, GRBD) ([Gasperin-Bulbarela, J., et al, 2019](#)). Los geminivirus como lo es el GRBV se suelen propagar mediante insectos vectores, como las moscas blancas, pulgones y chicharritas, así como a través de material vegetativo propagativo infectado ([Krenz, B., et al, 2023](#)). Cuando una planta de vid está infectada por el GRBV, se puede presentar una sintomatología que comprende manchas rojas irregulares en las hojas (en píxeles), especialmente en los bordes, nervaduras de color rojizo y bordes irregulares (Figura 1 y 2) ([Beltrán-Beache, M., et al, 2021](#)). Cabe destacar que infecta a una gran variedad de

plantas de vid de variedades claras (Chardonnay, Riesling, Sauvignon blanc, etc.) o tintas (Cabernet franc, Cabernet Sauvignon, Malbec, Merlot, Mourvèdre, Petit Verdot, Petite Syrah, Pinot noir, Zinfandel, etc.) (Krenz, B., et al, 2023).



Figura. 1. Fotografías de vid con síntomas de GRBD y/o GLD.

Adicionalmente, las vides se pueden infectar por otros virus, por ejemplo, la enfermedad del enrollamiento de la hoja (grapevine leafroll disease, GLD), causada por los grapevine leafroll-associated viruses (GLRaVs), pertenecientes a la familia *Closteroviridae* (Almeida, R., et al, 2013), estos virus pueden transmitirse por vectores como varias especies de cochinillas como *Planococcus ficus*, *Pseudococcus maritimus*, *Pseudococcus calceolariae*, *Pseudococcus citricus comstock*, *Phenacoccus aceris* y *Heliococcus bohemicus Sulc*, además de cocoideos como *Pluvitaria vitis*, *Parthenolecanium corni*, *Ceroplastes rusci*, *Coccus longulus*, etc, igualmente por multiplicación de material vegetativo propagativo infectado (Herbario Virtual Cátedra de Fitopatología, 2020). En las últimas dos décadas, GLD ha sido una de las principales enfermedades que afecta la producción de la vid, con una reducción aproximada de 40% de la producción y una disminución en la calidad de la uva (Vaughan, W., et al, 2018).



Figura. 2. Fotografía de hoja de vid con síntomas de GLD.

Algunos de los síntomas de la GLD son compartidos por GRBD, como son el enrojecimiento de las hojas, sin embargo, en GLD también se presenta el enrollamiento de los márgenes de las hojas y nervaduras de color verde intenso (Figura 2 y 3) ([Almeida, R., et al, 2013](#)).



Figura. 3. Fotografía de hoja de vid con síntomas de GRBD y GLD.

Es importante mencionar que las virosis GRBD y GLD afectan a la planta en su fisiología y metabolismo, lo que a su vez, afecta la rentabilidad de los viñedos al reducir sustancialmente la calidad de la fruta y la maduración ([Sistema Nacional Argentino de](#)

Vigilancia y Monitoreo de Plagas, 2022), repercutiendo en la economía de los productores, obteniendo pérdidas de hasta 2,213-68,528 US\$ (Ricketts, et al, 2017).

Ante la sospecha de GRBD y/o GLD, se recurre al diagnóstico molecular de GLRaVs y GRBV mediante técnicas como el Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), Reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (RT-PCR) punto final, RT-PCR en tiempo real y amplificación isotérmica mediada por bucle mediante transcriptasa inversa (RT-LAMP, por sus siglas en inglés) (Sandez-Salas, 2021) y Droplet digital PCR (ddPCR) (Martínez-Diz, M, et al, 2020) que son técnicas muy sensibles pero costosas como se muestra en la Tabla 1.

Tabla. 1. Costo en pesos mexicanos de material y reactivos para desarrollar los diagnósticos de GLRaV-3 por Sandez-Salas, 2021.

Técnica	Cantidad de diagnósticos			
	1	10	50	100
RT-PCR punto final	\$ 87.82	\$ 158.1	\$ 439.6	\$ 770.6
RT-PCR en tiempo real	\$ 112.63	\$ 211.7	\$ 745.3	\$ 1,414.9
RT-LAMP	\$ 191.75	\$ 315.2	\$ 818.3	\$ 1,434.19

Nota- no se incluye el costo de los equipos, instalaciones, servicios ni pago de personal técnico.

En el trabajo realizado por Sandez-Salas (2021), se comparan RT-PCR punto final, RT-PCR en tiempo real y RT-LAMP para el diagnóstico del virus GLRaV-3 asociado al enrollamiento de la hoja en plantas de vid, teniendo como referencia la técnica de RT-PCR de punto final, obteniendo como resultado que la técnica de RT-LAMP suele ser mucho más sensible, capaz de detectar hasta una copia de transcrito viral, pero suele ser muy propensa a contaminación ambiental; a diferencia de RT-PCR en tiempo real, que fue la más adecuada para establecer un diagnóstico confiable de GLD al detectar a GLRaV-3 de manera específica (Sandez-Salas, 2021).

Asimismo, existen métodos que utilizan imágenes hiperespectrales que ayudan a detectar los síntomas visuales obteniendo precisiones del clasificador en el rango de 66.67 a 89.93% para la detección de GLD (Gao, Z, et al, 2020).

La inteligencia artificial (IA) definida por la Comisión Europea, comprende sistemas de software que se encuentran diseñados por humanos y que pueden actuar percibiendo su entorno o razonando sobre el conocimiento (Samoili, S., et al., 2020). Cuando la IA comprende su entorno, basa su percepción en la adquisición e interpretación de datos; mientras que el razonamiento sobre el conocimiento, se da mediante el procesamiento de la información derivada de un conjunto de datos, que deriva en la toma de decisiones para lograr un objetivo.

Se entiende que la IA es un conjunto de técnicas con capacidad de aprender (aprendizaje automático) (Rouhiainen, L., 2018). Dentro del aprendizaje automático, se encuentra una de las principales tecnologías, el Machine Learning (aprendizaje máquina, ML) y por otro lado el Deep Learning (aprendizaje profundo, DL), que mediante algoritmos probabilísticos tienen la capacidad de poder imitar las acciones del cerebro humano mediante redes neuronales artificiales (Sarker, I.H., 2021). Estas redes procesan la información proporcionada en múltiples etapas sucesivas para tener en cuenta todas aquellas interacciones complejas entre los datos observados, en donde a mayor profundidad de la red (capas que lo compongan) se puede llegar a conseguir un mejor nivel de abstracción, obteniendo un menor margen de error (IIC, 2020), esto quiere decir que el sistema aprende mediante datos brutos y puede aumentar su capacidad de detección incrementando la información suministrada a los modelos de ML y DL.

La Figura 4 muestra la arquitectura interna de un modelo de Machine Learning (ML), que permite comprender su funcionamiento, el cual se describe en la Ecuación 1. En las Capas de entrada (Input Layers), se reciben los datos iniciales que se procesarán. En el caso de una imagen, será la información proveniente de una base de datos correctamente clasificada, posteriormente siguen las capas ocultas (Hidden Layers), en esta etapa se suelen extraer todas las características de los datos, entre más capas tenga, mayor cantidad de características se podrán analizar, y finalmente la capa de salida (Output Layers) la cual es la etapa que da el reconocimiento de las imágenes para poder clasificar el contenido.

Ecuación 1:

$$Y_1 = \omega_0 + \omega_1 X_1 + \omega_2 X_2 + \dots + \omega_n X_n$$

Donde:

Y_1 , son las salidas del modelo de ML.

ω_n , son los pesos del modelo ML

X_n , son las entradas del modelo ML

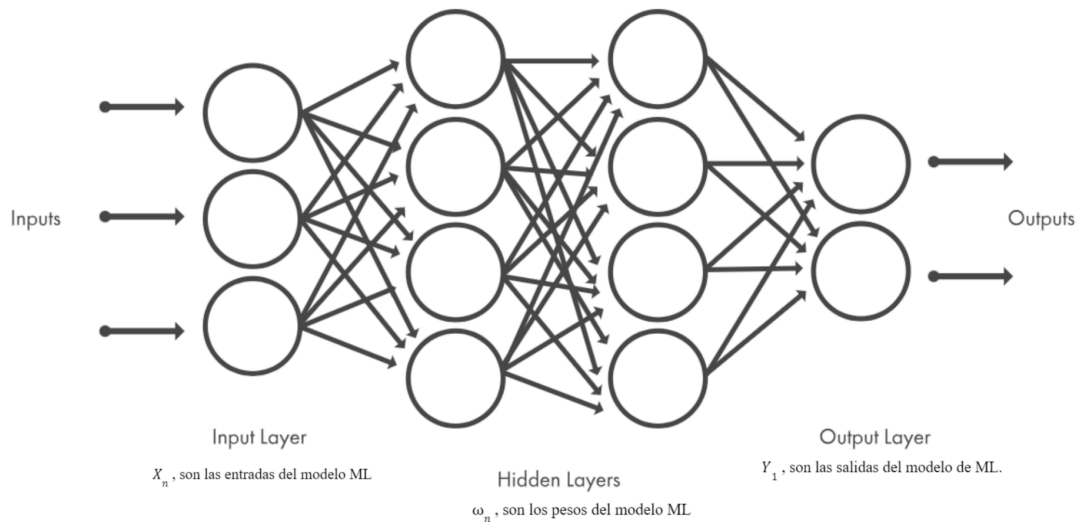


Figura. 4. Gráfica de Machine Learning (ML).

Extraída de: Introducción a Deep Learning. (2023)

Las redes neuronales convolucionales (CNN, por sus siglas en inglés) se encuentran diseñadas para poder procesar matrices estructurales, encargadas de clasificar mediante patrones. Este tipo de red neuronal artificial suele utilizarse para imágenes brutas (raw images) debido a que no necesitan un procesamiento previo (O'Shea, K., et al, 2015).

La Figura 5 permite comprender el funcionamiento de las CNN, en la primera etapa (imagen de entrada) se reciben los datos de la imagen sin procesar mostrándose como una matriz de píxeles, las capas de convolución (convolution) se destacan por ser lo principal en las CNN, debido a que extraen diversas características de las imágenes utilizando filtros convolucionales. Posteriormente, están las capas de submuestreo (subsampling), también conocidas como capas de agrupación, que tienen la finalidad de ayudar a reducir las dimensiones espaciales de los mapas (capas convolucionales) mientras se conserva toda aquella información importante. A continuación, siguen las capas completamente conectadas (full connection), que conectan todas aquellas neuronas de la capa anterior, formando una representación global de la imagen en el que se realiza la extracción de características de alto

nivel en las imágenes y la toma de decisiones para la capa de salida, en la que se genera la clasificación final de la imagen.

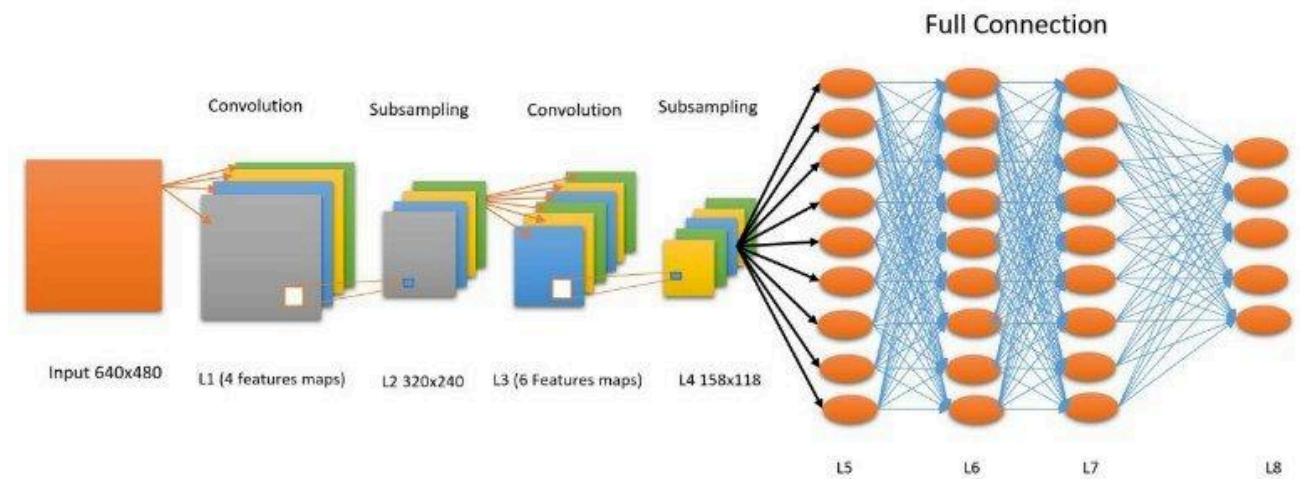


Figura. 5. Gráfica de Redes neuronales convolucionales.

Extraída de: Contreras, S., & De la Rosa, F. (2016)

Existen trabajos en los que se utilizan las redes neuronales para poder detectar la infección por el virus GLRaV-3 que se encuentra asociado al GLD en vides. Debido a que este virus, afecta la maduración del fruto teniendo una cantidad menor de azúcar y menor rendimiento, se implementaron imágenes hiperespectrales (imágenes en donde se recopila y procesa toda aquella información a lo largo del espectro electromagnético) para identificar las longitudes de onda de las hojas de las vides infectadas con el virus GLRaV-3 para poder tener una detección temprana (Figura 6) (Gao, Z, et al, 2020).



Figura. 6. Sistema de imágenes hiperespectrales de Gao, Z, et al, 2020.

Otro ejemplo de trabajo donde se utilizaron imágenes hiperespectrales y dos métodos de aprendizaje automático, es decir, Random Forest (RF) y 3D-Convolutional Neural Network (CNN), para poder detectar tanto el GRBD y el GLD (Figura 7) fue el de [Sawyer E, et al. 2023](#). Cabe destacar que en esta investigación también se basaron en corroborar la infección viral mediante análisis de PCR usando los pecíolos de un conjunto de cuatro hojas recolectadas por planta. Este proyecto fue validado mediante un conjunto de datos de muestras de vides infectadas, que mostraban los síntomas más evidentes obteniendo un 87% de precisión general en la clasificación de GRBD y/o GLD.

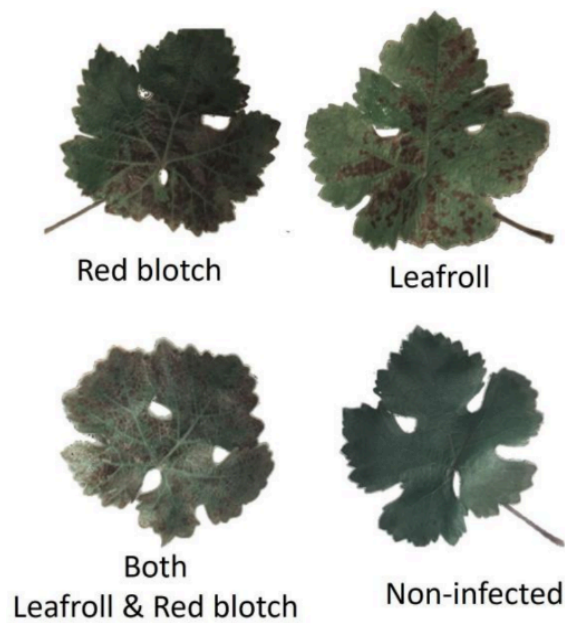


Figura. 7. Clasificación de hojas de Sawyer E, et al, 2023.

El orden de los siguientes capítulos de la presente tesis es el siguiente. Primero, en el Capítulo 1 se hace el planteamiento del problema donde se explica el escenario y contexto de la investigación. Además, también se especifican los límites que definen el trabajo realizado. Continuando, en el Capítulo 2 se presenta la metodología propuesta para la realización de este trabajo de tesis. En el Capítulo 3 se exponen los resultados obtenidos, utilizando la metodología propuesta. En el Capítulo 4, se discuten los resultados obtenidos en comparación del estado del arte. Seguido del Capítulo 5, en el cual se hace un recuento de las conclusiones a las que se llegaron después de analizar los resultados.

1. JUSTIFICACIÓN

Aunque el diagnóstico molecular es el más confiable para las virosis, es posible tener una aproximación de la presencia de enfermedades en vid, a través de la sintomatología de las hojas. Por lo anterior, es necesario recurrir a la inteligencia artificial para realizar un trabajo eficaz en la clasificación de las hojas dependiendo de la presencia (o no) de síntomas de GRBD y/o GLD, de manera que se puede obtener un diagnóstico preventivo de dichas virosis a través de imágenes.

2. HIPÓTESIS

La implementación de detección basada en inteligencia artificial, será capaz de detectar síntomas y mejorar la velocidad de diagnóstico de hojas de plantas de vid (*Vitis vinifera*) que potencialmente tengan GRBD y/o GLD.

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar un detector con base en la Inteligencia Artificial para categorizar fotografías de hojas de vides como sintomáticas o asintomáticas a GRBD y/o GLD.

Objetivos específicos

- 1) Elaborar una base de datos de fotografías de hojas de vid etiquetadas conforme a síntomas (GRBD y GLD) y diagnóstico molecular (GRBV y GLRaVs).

- 2) Obtener un modelo de inteligencia artificial para la clasificación de fotografías de hojas de vid como asintomática o sintomática a GRBD y/o GLD.
- 3) Validar el modelo de IA con base en métricas de precisión.
- 4) Generar una interfaz de fácil empleo para la exposición de resultados a partir del mejor modelo obtenido.

II. METODOLOGÍA

En esta sección se expone la metodología propuesta para el cumplimiento de los objetivos, dividida en nueve etapas para desarrollar un modelo de IA que pueda diagnosticar síntomas de GRBD y/o GLD de la vid a partir de fotografías de las hojas. En la Figura 8, se muestra el procedimiento sistemático, empezando desde la selección de sitios de muestreo, la recolecta de muestras (hojas de vid para la obtención de fotografías y diagnóstico molecular); así como los resultados moleculares, clasificación de las imágenes conforme a la sintomatología y al diagnóstico molecular. Con base en lo anterior, se logró generar una base de datos balanceada (similar cantidad de fotografías en cada categoría) para posteriormente obtener un modelo de IA validado con métricas de precisión y finalmente la exposición de los resultados mediante una interfaz.

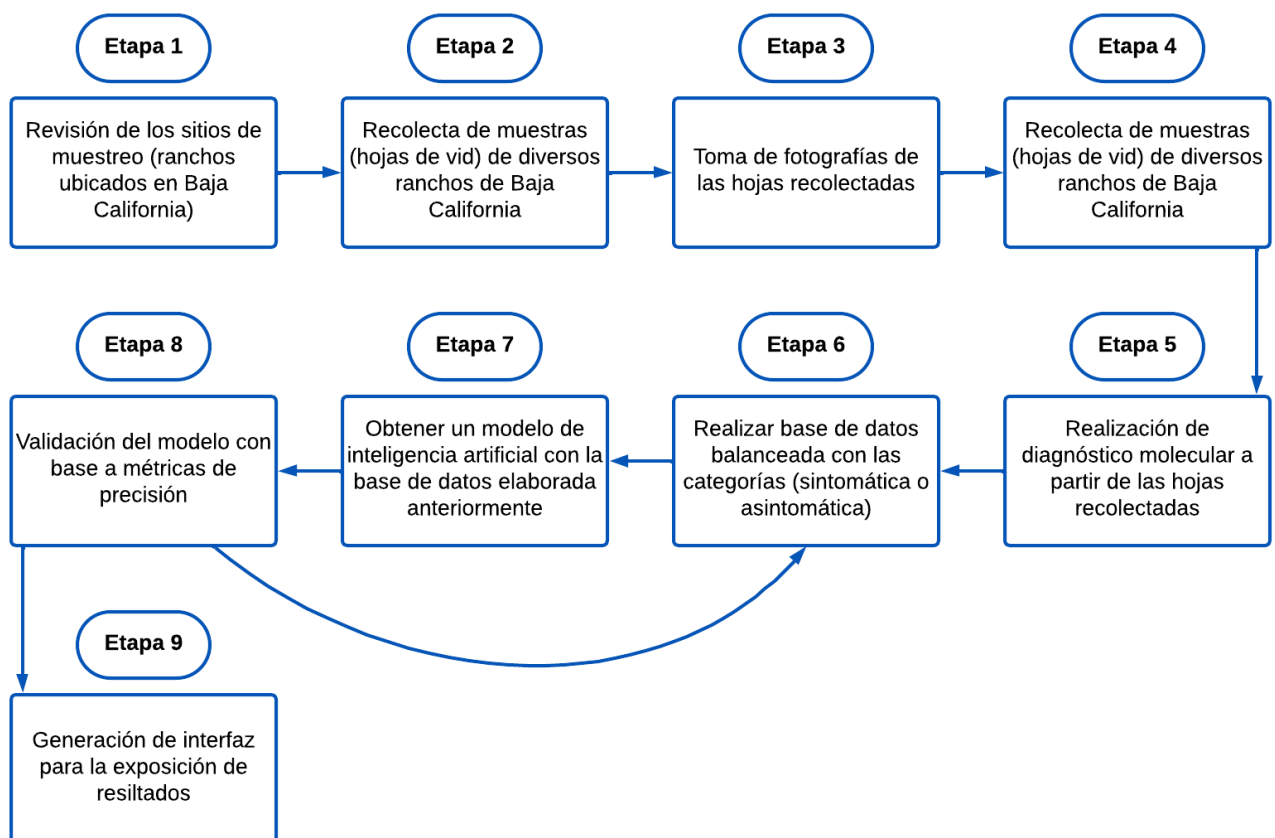


Figura. 8. Esquema de procedimiento.

Etap 1. Selección de sitios de muestreo (viñedos en Baja California)

Se realizó la selección aleatorizada de 121 sitios (viñedos) en Baja California, conforme a los 175 ranchos registrados hasta el año 2021 en el Padrón Estatal de Productores (tamaño de muestra con proporción del 50%, CI=10%, nivel de confianza del 95%). En la Figura 9 se pueden observar los sitios seleccionados con un rombo de color rojo.

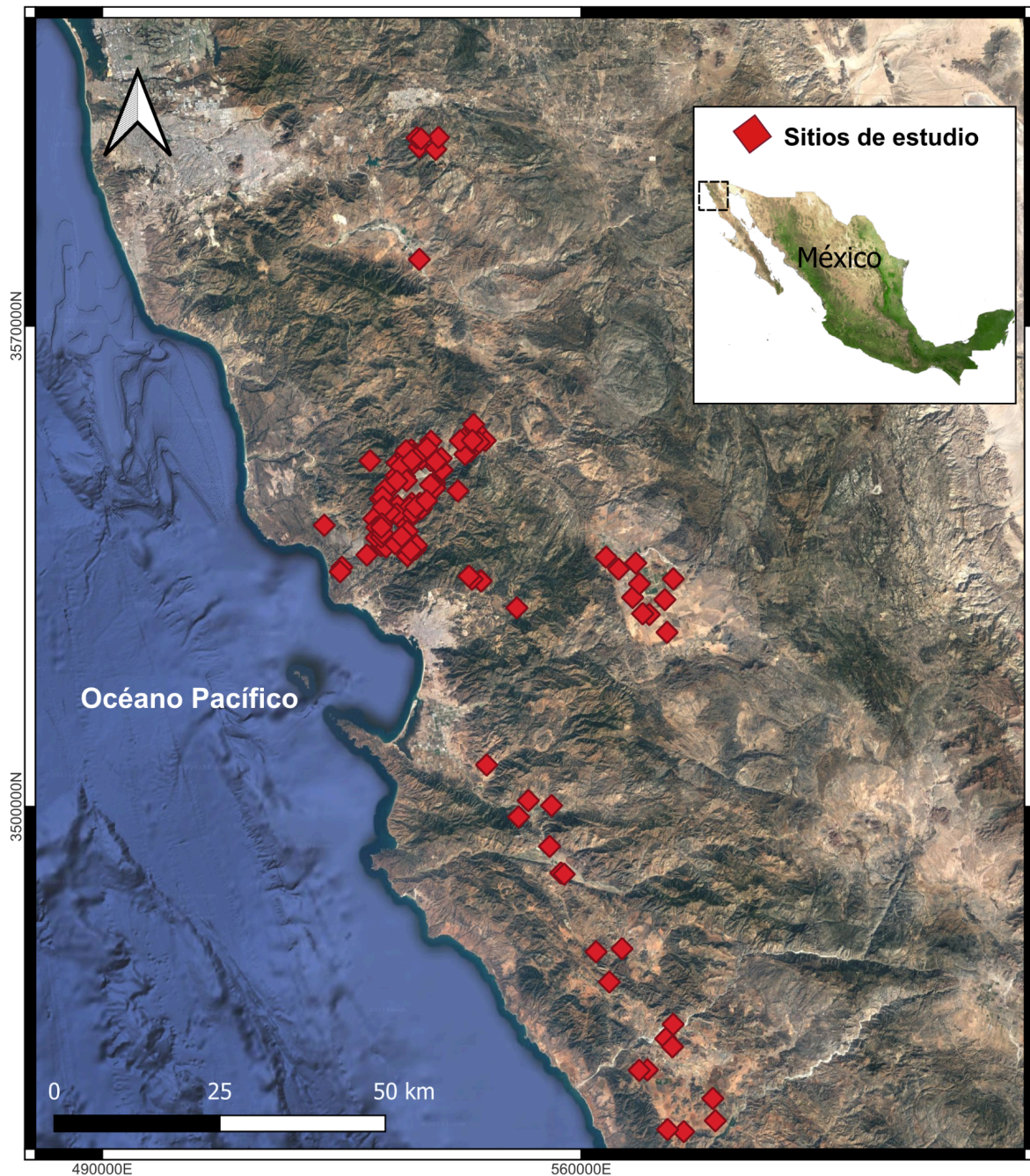


Figura. 9. Sitios de muestreo en Baja California.

Etapla 2: Recolección de muestras (hojas de vid)

La toma de muestras se realizó por estudiantes, técnicos y personal capacitado como parte del proyecto en colaboración “Prevalencia de virosis de la vid, Enrollamiento de la hoja y Mancha roja, en Baja California”, desarrollado entre el Laboratorio de Virología Agrícola del CICESE y el equipo de la Campaña contra plagas de la vid del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Baja California (CESVBC) ([García-Reséndiz, en preparación](#); [García-Reséndiz et al., sometido](#)). Se realizaron visitas a los sitios durante los años 2020, 2021, 2022 y 2023, para poder recolectar de manera dirigida hojas de vid con y sin síntomas de GRBD y/o GLD. Se colectaron 10 hojas de cada planta de distintas secciones de la copa y se colocaron en una bolsa ziploc previamente etiquetada (Figura 10). Posteriormente, se transportaron al Laboratorio de Virología Agrícola de CICESE, se tomaron fotografías y se almacenaron a 4°C hasta su procesamiento para sus análisis moleculares.



Figura. 10. Hojas transportadas al Laboratorio de Virología Agrícola de CICESE.

Etapa 3: Toma de fotografías.

Las fotografías de las hojas se tomaron con cámara de celular (iPhone modelos 8, 10, 13 y 14), teniendo iluminación natural y artificial por parte de lámparas. Para las hojas fotografiadas en el laboratorio, se utilizó un fondo blanco para no alterar las características visuales, y ese fondo se limpiaba con una dilución de cloro al 5% para evitar la contaminación entre muestras. Algunas fotografías fueron obtenidas directamente de la planta en campo, para poder generar una base de datos más robusta.

Etapa 4: Diagnóstico molecular de GLRaVs y GRBV por qPCR

El procesamiento, análisis y resultados del diagnóstico molecular, forman parte del proyecto de tesis doctoral de [García-Reséndiz \(en preparación\)](#) y del trabajo de [García-Reséndiz et al. \(sometido\)](#). Se realizó la extracción de ARN de pecíolos de 190 muestras siguiendo la metodología de [Gambino, G., et al \(2008\)](#) con modificaciones. Se utilizaron tijeras, pinzas y espátula para cortar y procesar con más facilidad los pecíolos; se ocuparon tubos eppendorf de 2 mL y tubos de 1.5 mL resistentes a cloroformo, perlas de vidrio y empaques de goma, cajas de petri, gradillas para microtubos, micropipetas y puntas de 200 y 1000 µL, refrigeradores con temperaturas a -20°C y a 4°C (Figura 11, C), vortex para agitar los tubos (Figura 11, B), centrífugas (con temperatura ambiente y refrigerada) (Figura 11, A y D), Powelyzer 24 homogenizer (Figura 11, E), Thermoblocker (Figura 11, F), así como los siguientes reactivos:

Tabla. 2. Reactivos para extracción de ARN.

Reactivos para extracción de ARN
Buffer CTAB 2%
Cloruro de litio 12 M estéril
Cloroformo:alcohol isoamílico (24:1)
Etanol 70%
Isopropanol
Beta-mercaptoetanol
Buffer SSTE

Equipo utilizado para extracción de ARN



Figura. 11. Equipos utilizados para extracción de ARN.

- A) Centrifuga refrigerada, B) Vórtex, C) Refrigeradores a temperaturas -20°C y a 4°C, D) Centrifuga con temperatura ambiente, E) PowerLyzer y F) Thermoblocker

Con la finalidad de comprobar la presencia o no de virus asociados a GRBD y/o GLD y asociar la sintomatología en las hojas de plantas de vid era debida a infección viral, se realizó RT-PCR en tiempo real siguiendo los protocolos de [Osman, F., et al \(2007\)](#), [Krenz, B, et al \(2014\)](#) y [Sandez-Salas \(2021\)](#) con modificaciones utilizando EvaGreen. También se utilizaron micropipetas, puntas para micropipetas, termociclador, tubos eppendorf y microtubos.

Etapas 5: Categorizar fotografías con base a diagnóstico molecular y sintomatología

Se utilizó Roboflow, una herramienta de IA para facilitar la construcción de bases de datos, se realizó el etiquetado de las fotografías de la etapa 3. Después se empleó la función punto por punto para poder resaltar solamente la hoja, de manera que se realzaran las características visuales para generar la base de datos, en donde se clasificaron de la siguiente manera:

- Asintomático.
- Sintomático.

Se tomó en cuenta la sintomatología que presenta GRBD y/o GLD como manchas rojas irregulares en las hojas (en pixeles), especialmente en los bordes, nervaduras de color rojizo, bordes irregulares (Figura 12, A, B y C), enrollamiento de los márgenes de las hojas (Figura 12, D y E) y nervaduras de color verde intenso, así como hojas asintomáticas (Figura 12, F-J).

Hojas que presentan sintomatología de GRBD y/o GLD



Hojas asintomáticas a GRBD y/o GLD



Figura 12. Hojas clasificadas por sintomatología.

A,B,C) Hojas con píxeles rojos y bordes irregulares. D,E) Hojas con píxeles rojos y enrollamiento de los bordes.
F-J) Hojas de vides sanas.

Etapla 6: Realizar base de datos balanceada con las categorías (síntomática o asintomática)

Una vez teniendo todas las fotografías categorizadas, se tuvo cuidado de que las clasificaciones tuvieran aproximadamente la misma cantidad de fotografías, con la finalidad de balancear y para que en el modelo no haya ningún problema o diferencia en los porcentajes de asertividad de cada clase.

Etapla 7: Obtener un modelo de inteligencia artificial con la base de datos elaborada anteriormente

Disponiendo de la base de datos, se generó un código mediante Google colab conocido como Colaboratory, el cual es una herramienta para programar en lenguaje Python. Para generar un modelo de IA con capacidad de identificar síntomas de GLD y GRBD en fotografías de hojas de vid, es necesario utilizar librerías que faciliten el uso de redes neuronales convolucionales para poder entrenar la base de datos, como son Tensorflow, Keras y Pytorch. Un modelo utilizado en el estado del arte para el reconocimiento de patrones es la arquitectura YoloV5 mostrada en la Figura 13. Se utilizó dicho modelo para categorizar a las hojas como sintomático o asintomático, mediante 15 épocas de entrenamiento que se dio por medio del conjunto de datos de las imágenes y las etiquetas mencionadas en la etapa 5 y 6.

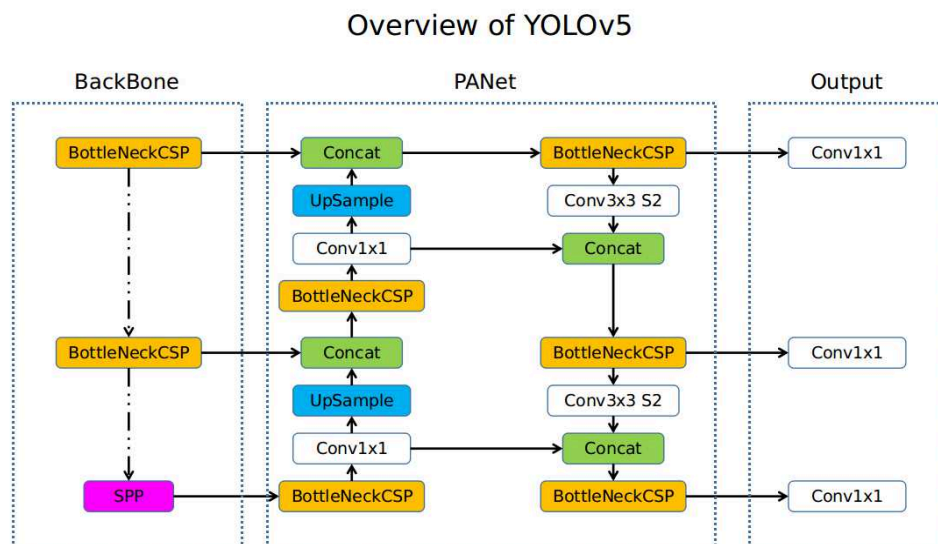


Figura. 13. Arquitectura YoloV5.

Extraído de: Overview of model structure about YOLOv5

Etapas 8: Validación del modelo con base a métricas de precisión

Para validar el modelo obtenido de inteligencia artificial, se emplearon fotografías tanto de campo como hojas recolectadas y llevadas al laboratorio, comprobando así que los porcentajes de asertividad fueran los aptos para la exposición de resultados.

Aquí se utilizaron 100 fotografías que entraban en la categoría de sintomático (campo y laboratorio) y otras 100 de asintomático, comprobando así, cuántas fotografías se etiquetan de manera correcta. En el desarrollo de los modelos se utilizaron diversas métricas de calidad, las cuales indican el modelo de DL con mejor desempeño para la aplicación de identificación de síntomas de GRBD y/o GLD, como son la precisión del modelo, exactitud, el f1-score y la matriz de confusión.

Etapas 9: Generación de interfaz para la exposición de resultados

Esta última etapa es el desenlace de todo lo elaborado anteriormente, para que cualquier usuario pueda utilizar este modelo en computadora, para subir las fotografías (tanto de campo como hojas traídas al laboratorio) con la finalidad de que el modelo determine si las hojas son sintomáticas o asintomáticas a GRBD y/o GLD con alta probabilidad, teniendo así un diagnóstico preventivo.

III. RESULTADOS

Se visitaron 121 sitios en Baja California para la recolecta de muestras (hojas de vid) (Figura 14), teniendo un total de 2420 hojas que fueron fotografiadas individualmente. También se tomaron 200 fotografías de las plantas de vid directamente en los diversos viñedos.



Figura 14. Viñedos de diversos ranchos visitados para la recolección de muestras.

Los resultados obtenidos mediante los diagnósticos moleculares de 190 muestras y su relación con síntomas se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de los análisis de PCR en tiempo real de muestras entre los años 2022 y 2023.

García-Reséndiz et al. (sometido)

	Total
Plantas asintomáticas a GRBD y/o GLD (negativas a GRBV y GLRaVs)	43
Plantas sintomáticas a GRBD y/o GLD (positivas a GRBV y/o GLRaVs)	98
Plantas asintomáticas a GRBD y/o GLD (positivas a GRBV y/o GLRaVs)	10
Plantas sintomáticas a GRBD y/o GLD (negativo a GRBV y GLRaVs)	39
Total	190

En la Tabla 4 se reporta la cantidad total según el diagnóstico molecular a GLRaVs y GRBV mediante RT-PCR en tiempo real, colectadas durante los años 2022 y 2023. Al comparar el diagnóstico visual con el molecular, se encontró que el diagnóstico visual tiene una sensibilidad del 90.7%, una especificidad del 52.4%, un valor predictivo positivo de 71.53% y un valor predictivo negativo de 81.13%.

Tabla 4. Resultados totales de sintomático y asintomático 2022-2023. García-Reséndiz et al. (sometido)

	Totales
Plantas positivas a GRBV y/o GLRaV (sintomáticas y asintomáticas a GRBD y/o GLD)	108
Plantas negativas a GRBV y GLRaVs (sintomáticas y asintomáticas a GRBD y/o GLD)	82
Total	190

Con los resultados del diagnóstico molecular, se validó la clasificación por síntomas y se procedió a etiquetar las hojas dependiendo de la sintomatología o no de GRBD y/o GLD. Se seleccionó punto por punto todo el margen de cada una de las hojas en las fotografías para destacar solamente la hoja y sus características visuales. En la Figura 15, se muestran ejemplos de hojas etiquetadas mediante Roboflow, conforme a la presencia o no de síntomas. Los principales síntomas observados en las hojas clasificadas como sintomáticas, fueron manchas rojas irregulares en píxeles (especialmente en los bordes), nervaduras de color rojizo (Figura 15, A, C y D), enrollamiento de los márgenes de las hojas (Figura 15, B, E y F) y nervaduras de color verde intenso. Las hojas asintomáticas (Figura 15, G-L) en ocasiones mostraban síntomas de afecciones ajenas a GRBD y/o GLD, como marchitez de los bordes o necrosis.

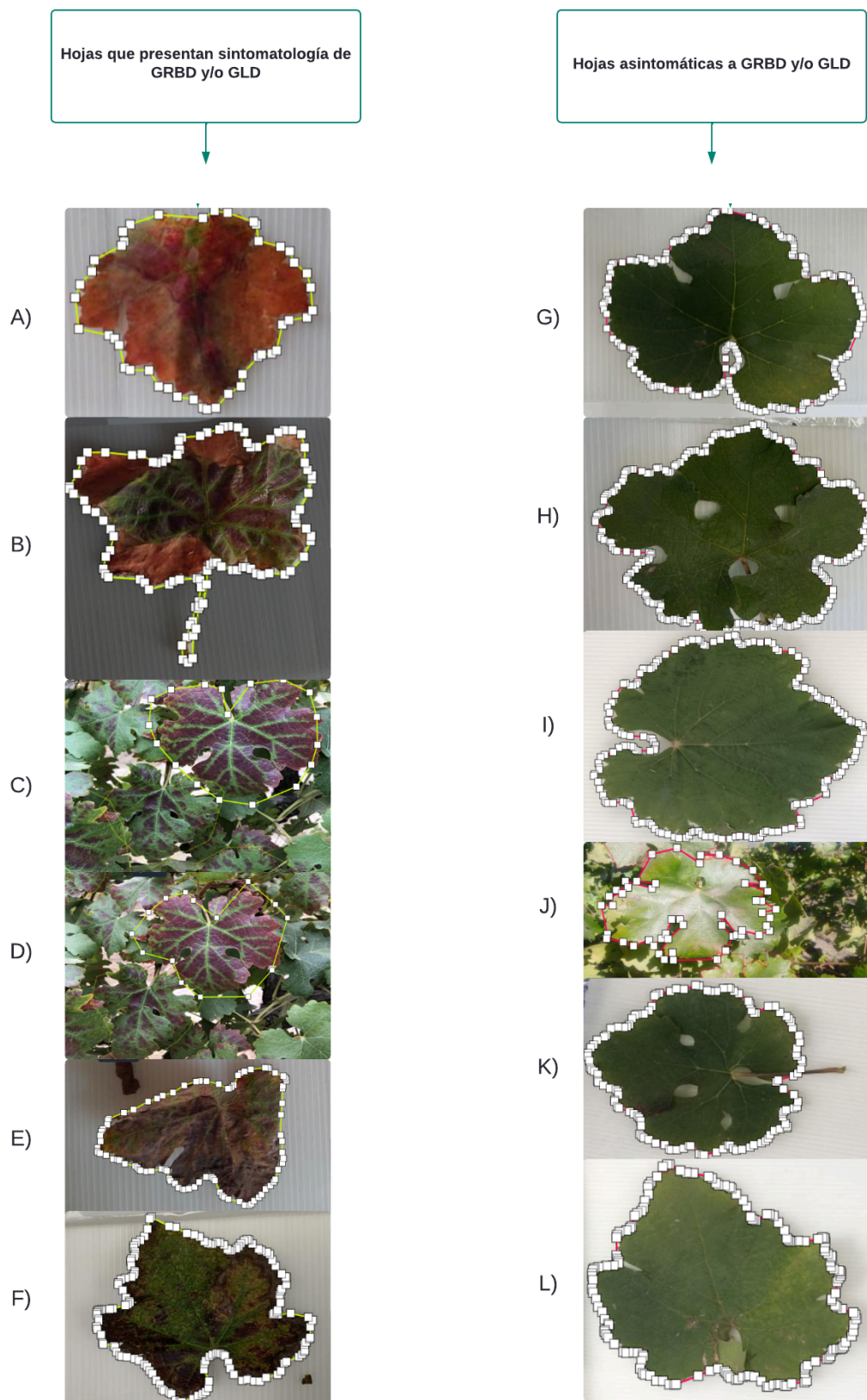


Figura 15. Hojas etiquetadas mediante Roboflow.

A,C,D) Hoja con pixeles rojos y bordes irregulares, B,E,F) Hoja con pixeles y enrollamiento de los bordes,
G-L) Hojas de vid sana.

Para obtener el modelo de IA conforme a la base de datos, se empleó Google Colab para entrenarlo. Primero se clonó el repositorio de YoloV5, posteriormente se instalaron las dependencias requeridas, también conocidas como librerías, y se indicó que se ignoraran posibles errores para que no hubiera interrupciones en el entrenamiento si se encontraba algún error en la instalación de estas dependencias.

Se subió la base de datos fotográfica etiquetada en la carpeta de YoloV5 para su posterior entrenamiento. Para entrenar la base de datos se utilizó el fragmento de código de la Figura 16, especificando el tamaño de imagen de entrada en este caso de 416, batch, establece el tamaño de 16 para el entrenamiento y epochs, son las 15 épocas para el entrenamiento.

```
# train yolov5s on custom data for 15 epochs
# time its performance
!python train.py --img 416 --batch 16 --epochs 15 --data
/content/gdrive/MyDrive/Modelo_YOLO/yolov5/VirosisFinal/data.yaml --cfg
/content/gdrive/MyDrive/Modelo_YOLO/yolov5/models/yolov5s.yaml
--weights yolov5s.pt --name yolov5s_results20 --cache
```

Figura 16. Ejemplo de código para entrenamiento de base de datos.

En el primer modelo se obtuvieron los siguientes resultados, con alrededor de 1000 fotografías de hojas asintomáticas y más de 1500 de hojas con sintomatología, observándose esa diferencia en la Figura 17.

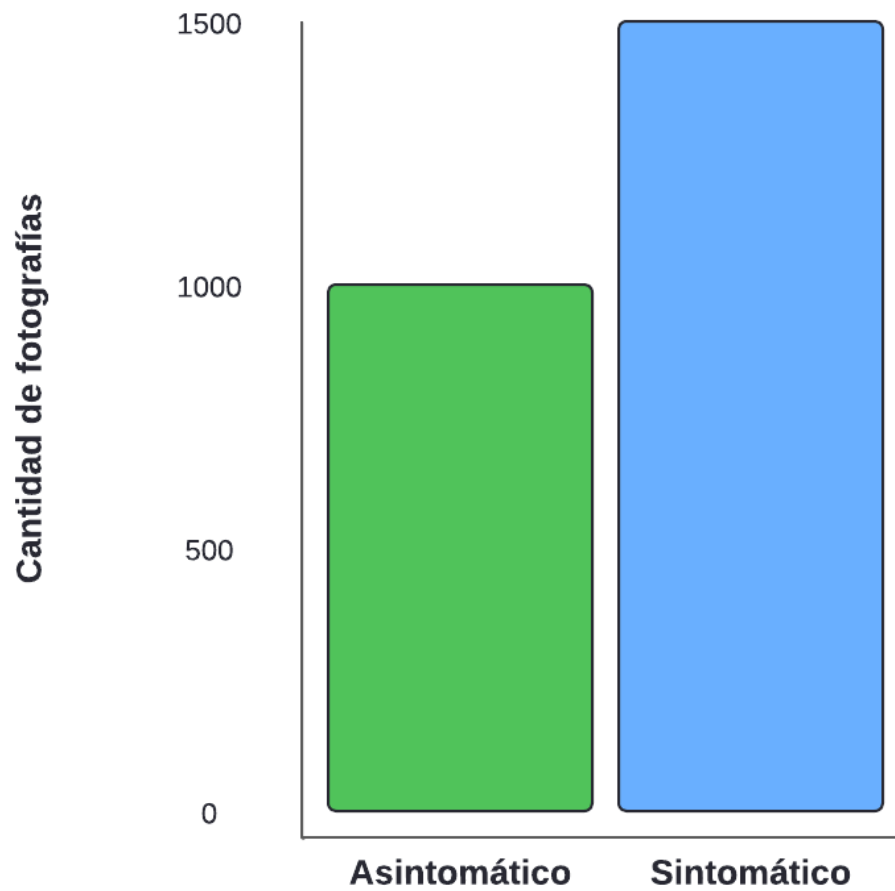


Figura 17. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del primer modelo.

Analizando la matriz de confusión dada por el modelo (Figura 18) podemos observar el porcentaje de asertividad que comprende cada categoría. En la categoría de Asintomático se tuvo un porcentaje de asertividad del 87% con un margen de falsos positivos de 13%, a diferencia de la categoría de Sintomático que tuvo un porcentaje de asertividad del 94% con un margen de falsos positivos de 4%.

Matriz de confusión			
Clasificación Salida	Asintomático	Sintomático	Suma
Asintomático	87%	4%	91%
Sintomático	13%	94%	107%
Suma	100%	98%	181% / 200% 90.5%

Figura 18. Matriz de confusión del primer modelo.

En la Figura 19 se observan ejemplos de las predicciones obtenidas con el primer modelo. En los siguientes modelos se modificó la etiqueta (nombre que se muestra al etiquetar la hoja) a “sintomático” y “asintomático”, ya que, al ser tan largo, no se lograba apreciar de la manera correcta. También se modificó la cantidad de fotografías para que estos se balancearan. En todos los modelos que se tienen predicciones a partir del mismo, el número que se acompaña de la etiqueta es la probabilidad de que sea esa clasificación (asintomático o sintomático).

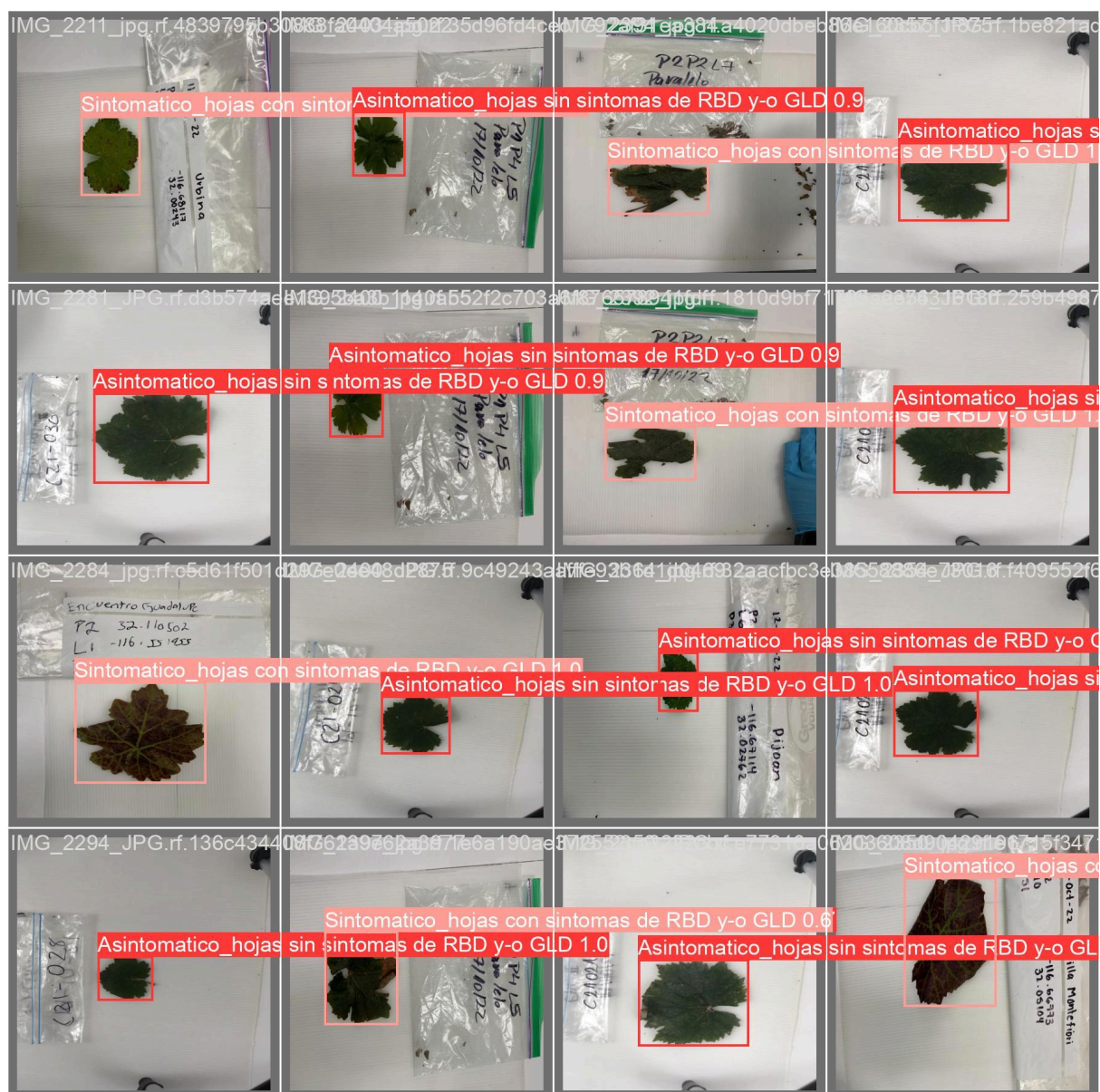


Figura 19. Predicción de algunas fotografías en base al primer modelo.

En el segundo modelo obtenido se balanceó la cantidad de fotografías en cada categoría, quedando con 1200 en asintomática y 1500 en sintomática como se muestra en la Figura 20.

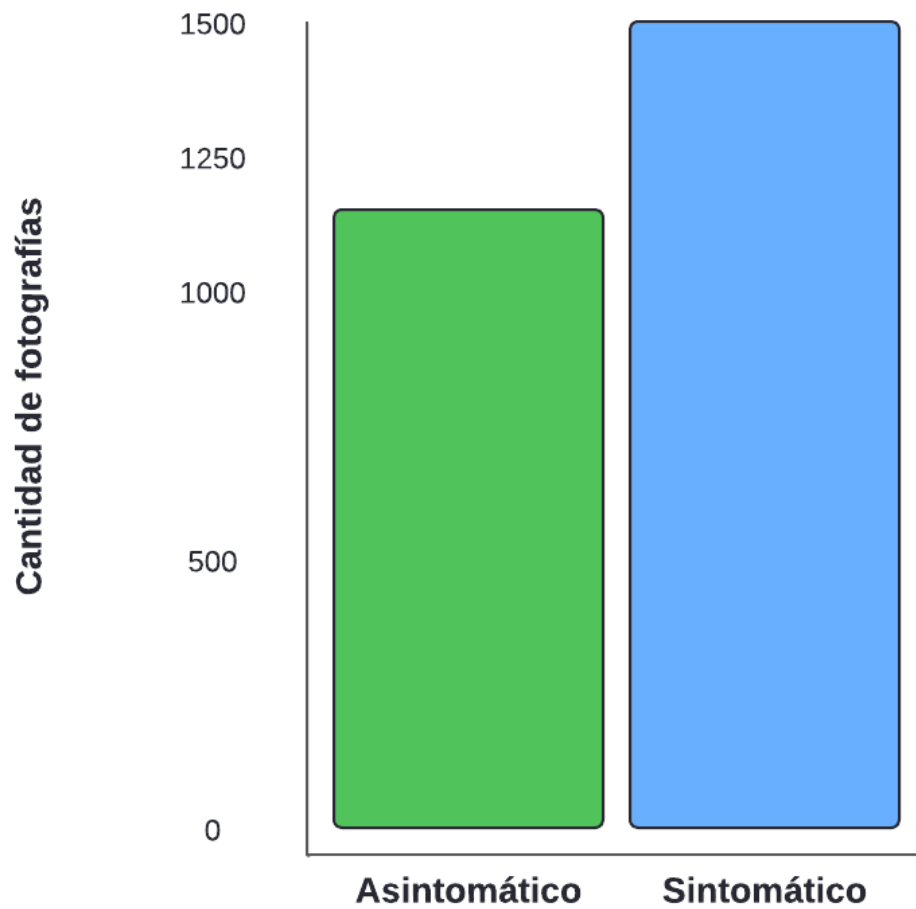


Figura 20. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del segundo modelo.

A diferencia del primer modelo, los porcentajes de asertividad incrementaron en ambas categorías, confirmando que fue efectivo el balance en la cantidad de fotografías de cada clasificación. Se obtuvo un porcentaje del 94% de asertividad en detectar hojas asintomáticas, con un 6% de falsos positivos. Mientras que, en la categoría de sintomático, se obtuvo un porcentaje de asertividad del 96% y con un 4% de falsos positivos (Figura 21). Con lo anterior, se mejoró la probabilidad de clasificar correctamente según síntomas de hojas de vid.

Matriz de confusión			
Clasificación Salida	Asintomático	Sintomático	Suma
Asintomático	94%	4%	98%
Sintomático	6%	96%	102%
Suma	100%	98%	190% / 200% 95%

Figura 21 Matriz de confusión del segundo modelo.

También se obtuvieron predicciones de fotografías tomadas en el laboratorio (Figura 22), obteniendo una buena asertividad. Para los siguientes modelos se determinó agregar fotografías de campo de la categoría de asintomático, con la finalidad de hacer más robusta la base de datos y poder expandir el modelo entrenado.



Figura 22. Predicción de algunas fotografías con base en el segundo modelo.

En el tercer modelo obtenido, se utilizó la misma cantidad de fotografías, 1200 en la categoría de asintomático y 1400 en la categoría de sintomático (Figura 23), pero a diferencia de los otros modelos, se verificó que los porcentajes de asertividad fueran buenos al agregar fotografías de campo.

Podemos observar que los porcentajes no variaron de manera considerable al utilizar las fotografías de campo de vid asintomáticas (Figura 24), quedando con un 91% de asertividad en la detección de hojas asintomáticas, con solo el 7% de posibles falsos positivos

y en la categoría de sintomáticos (la cual no se modificó) se obtuvo un 94% de asertividad con un 6% de falsos positivos.

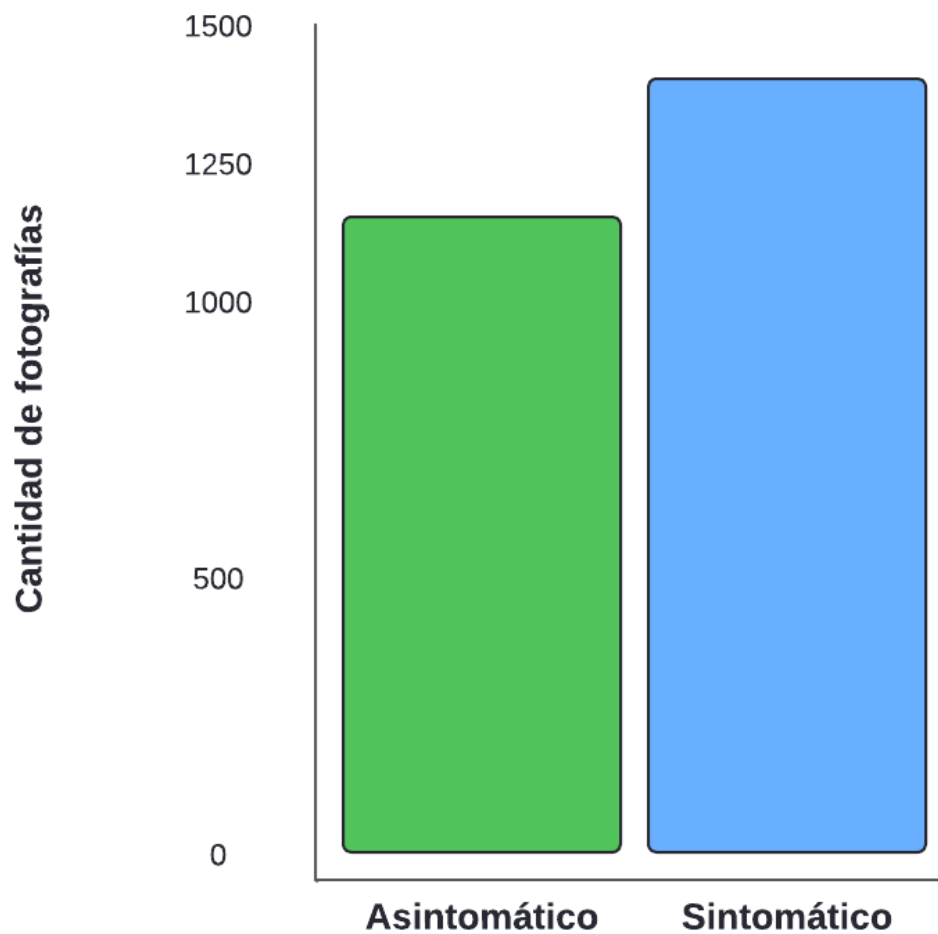


Figura 23. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del tercer modelo.

Matriz de confusión			
Clasificación Salida	Asintomático	Sintomático	Suma
Asintomático	91%	6%	97%
Sintomático	7%	94%	101%
Suma	98%	100%	185% / 200% 92.5%

Figura 24. Matriz de confusión del tercer modelo.

En la Figura 25, se muestran algunas predicciones para poder analizar qué tan asertivo fue el modelo respecto al resto de los modelos con base en sus modificaciones. Se obtuvo una asertividad del 91% en asintomáticas y 94% de sintomáticas, en la diferenciación de hojas de vid sintomáticas y asintomáticas en el plano de laboratorio (hoja colocada en un fondo blanco con iluminación artificial).

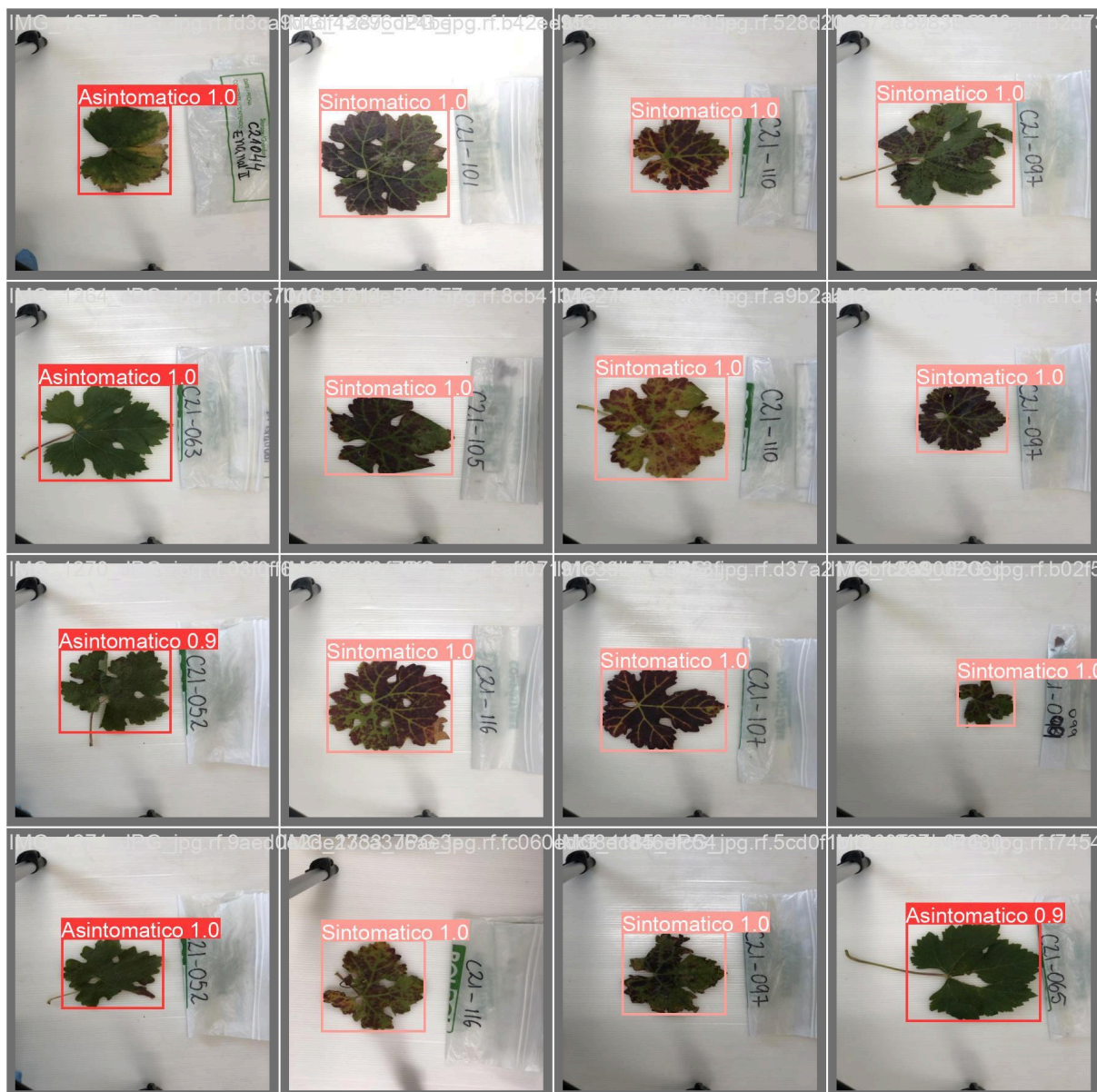


Figura 25. Predicción de algunas fotografías con base en el tercer modelo.

Al agregar fotografías directamente de la planta de vid en el campo (plantas asintomáticas) con la finalidad de poder agrandar las características visuales que el modelo pueda detectar, se consiguió que el modelo detectara las hojas de las plantas asintomáticas de vid, etiquetándolas asertivamente en su categoría, como se muestra en la Figura 26.

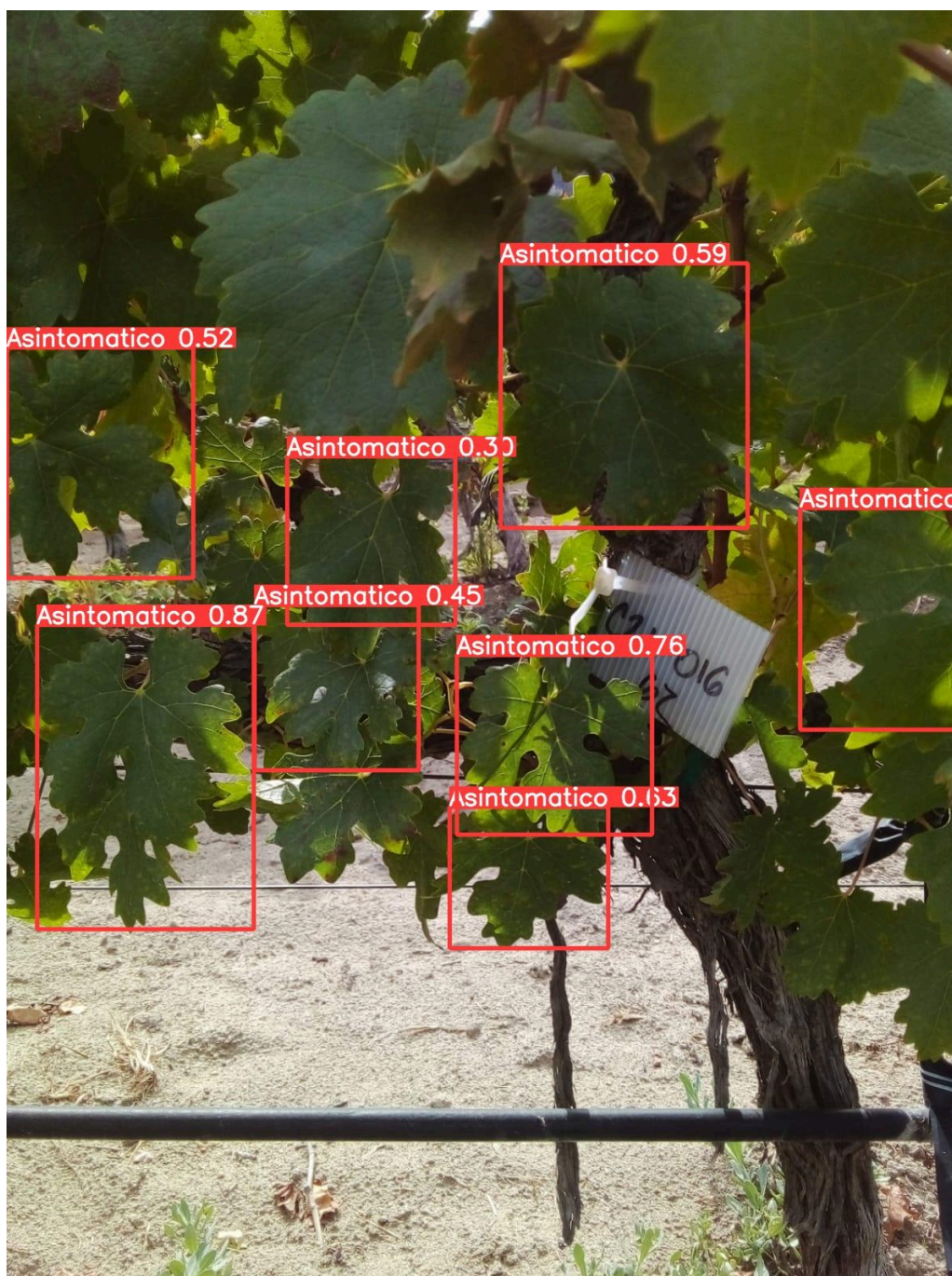


Figura 26. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente en campo (tercer modelo).

La diferencia que se presenta en el cuarto modelo fue la incorporación de fotografías de campo, pero ahora de plantas que contaban con sintomatología de GRBD y/o GLD, nuevamente para hacer más robusta la base de datos, no solo con fotografías directamente de laboratorio. Al agregar las fotografías en la categoría sintomático, esta aumentó hasta 1600 fotografías, a diferencia de las asintomáticas, que contaba con 1200, teniendo un desbalance en la cantidad, como se aprecia en la Figura 27.

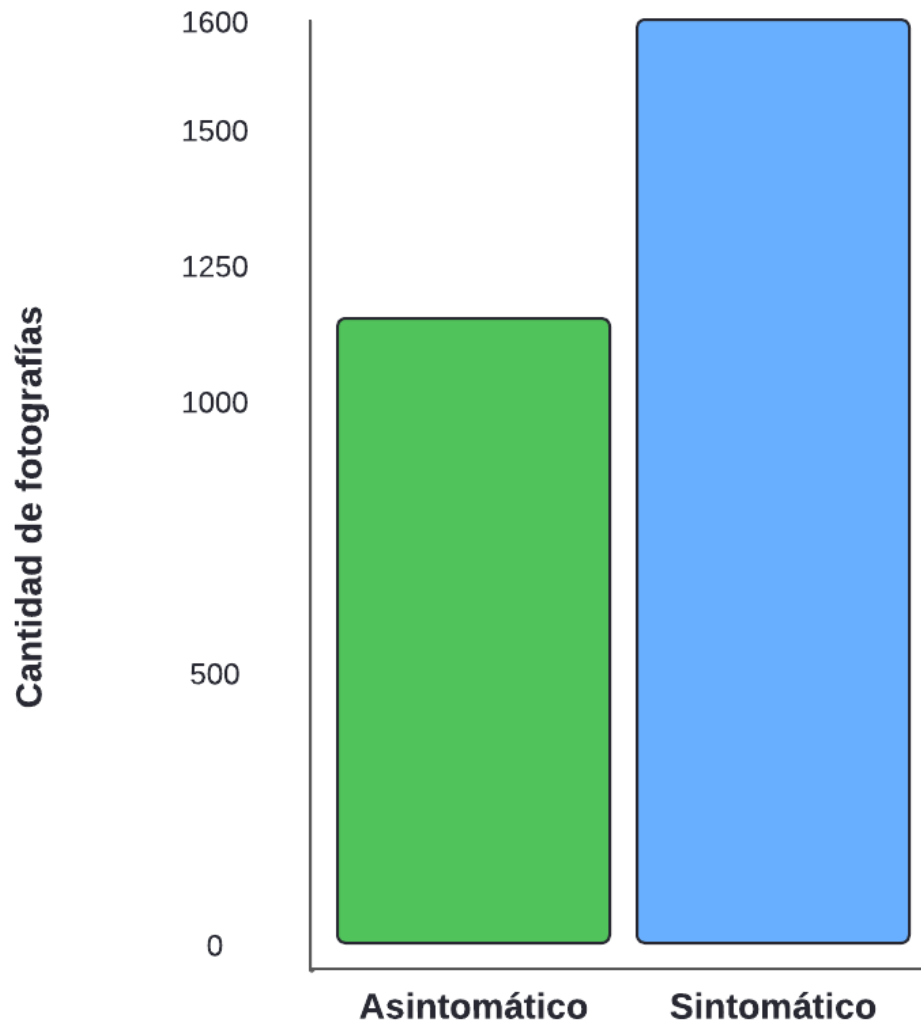


Figura 27. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del cuarto modelo.

Considerando la Figura 28, se encontró una disminución en los porcentajes de asertividad. Se puede inferir que la razón es el desbalance en la cantidad de fotografías que fueron clasificadas de cada categoría, obteniendo un 93% de asertividad en la clasificación de hojas asintomáticas, con solo el 5% de falsos positivos, mientras que los sintomáticos comprende un 90% de asertividad en la clasificación, con el 2% de probables falsos positivos.

Matriz de confusión			
Clasificación Salida	Asintomático	Sintomático	Suma
Asintomático	93%	2%	95%
Sintomático	5%	90%	95%
Suma	98%	92%	183% / 200% 91.5%

Figura 28. Matriz de confusión del cuarto modelo.

Igual que en los tres modelos anteriores, se obtuvo una serie de predicciones para poder analizar si este modelo presentaba detecciones efectivas. En la Figura 29, se destaca que sí se etiquetaron de manera correcta con base en la sintomatología.



Figura 29. Predicción de algunas fotografías con base en el cuarto modelo.

Obteniendo buenos resultados, como se analiza en la Figura 30, el cuarto modelo generó las predicciones necesarias para etiquetar de manera correcta tanto en hojas fotografiadas en laboratorio como plantas de vid en el campo (Figura 31).



Figura 30. Detección de hojas sintomáticas en vid directamente en campo (cuarto modelo).

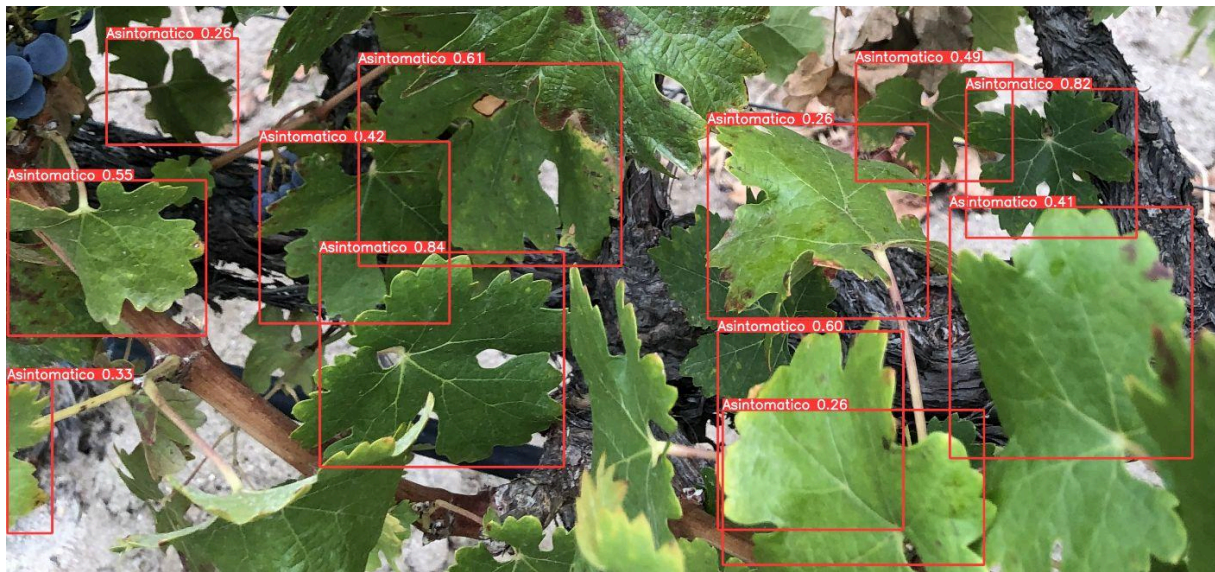


Figura 31. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente en campo (cuarto modelo).

Conforme a la ejecución del quinto modelo, y con todas las modificaciones necesarias, se obtuvo el modelo final. Se manejó una cantidad similar de fotografías en cada categoría (sintomático y asintomático a GRBD y/o GLD) debido a que esto afecta los porcentajes que se obtienen en la matriz de confusión; conforme sean más balanceadas las cantidades de fotografías, mayor y similar porcentaje se puede llegar a obtener en ambas clases. Debido a esto, se eliminaron aproximadamente 300 fotografías de laboratorio que se encontraban etiquetadas como sintomáticos, posteriormente se agregaron fotografías de campo, tanto de vid sintomáticas como asintomáticas (100 en cada sección), quedando en un total de 1200 fotografías asintomáticas y 1400 de sintomáticas (Figura 32).

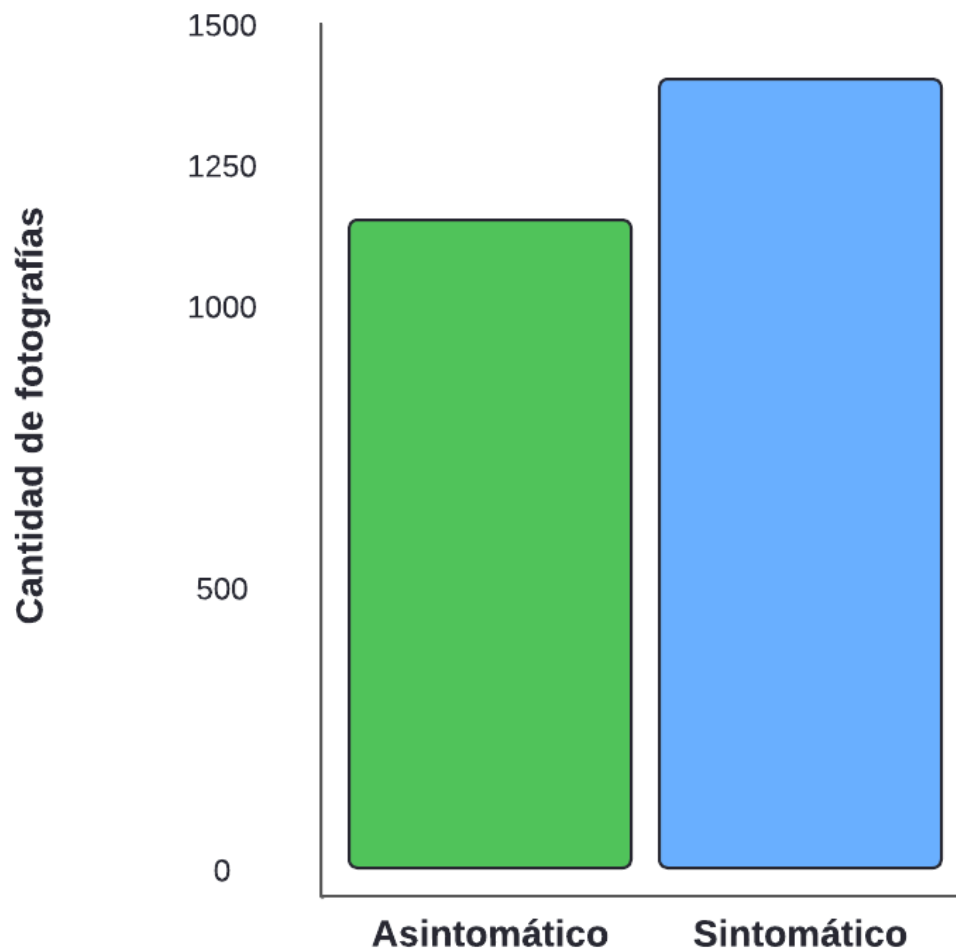


Figura 32. Cantidad de hojas clasificadas por categoría del modelo final.

En la matriz de confusión del modelo final (Figura 33), se obtuvo un 94% de efectividad del modelo para poder detectar hojas de vid asintomáticas, con solo el 4% de margen de error, mientras que para las hojas de vid que presentan sintomatología tiene el 91% de asertividad con solo 5% de margen de error. Estos valores nos indican que el modelo es muy eficaz para poder detectar tanto hojas de vid asintomáticas como sintomáticas a GRBD y/o GLD.

Matriz de confusión			
Clasificación Salida	Asintomático	Sintomático	Suma
Asintomático	94%	5%	99%
Sintomático	4%	91%	95%
Suma	98%	96%	185% / 200% 92.5%

Figura 33. Matriz de confusión del modelo final.

De la misma manera que en los modelos anteriores, se obtuvieron predicciones de hojas de vid que fueron fotografiadas en laboratorio, para poder comprobar que el etiquetado sí se realizara de la manera correcta, obteniendo los resultados que se observan en la Figura 34, con porcentajes de asertividad de cada categoría. Tanto las hojas sintomáticas como asintomáticas, tienen un porcentaje entre 90-100%, considerándose un buen modelo debido a sus acertadas predicciones de cada sección.

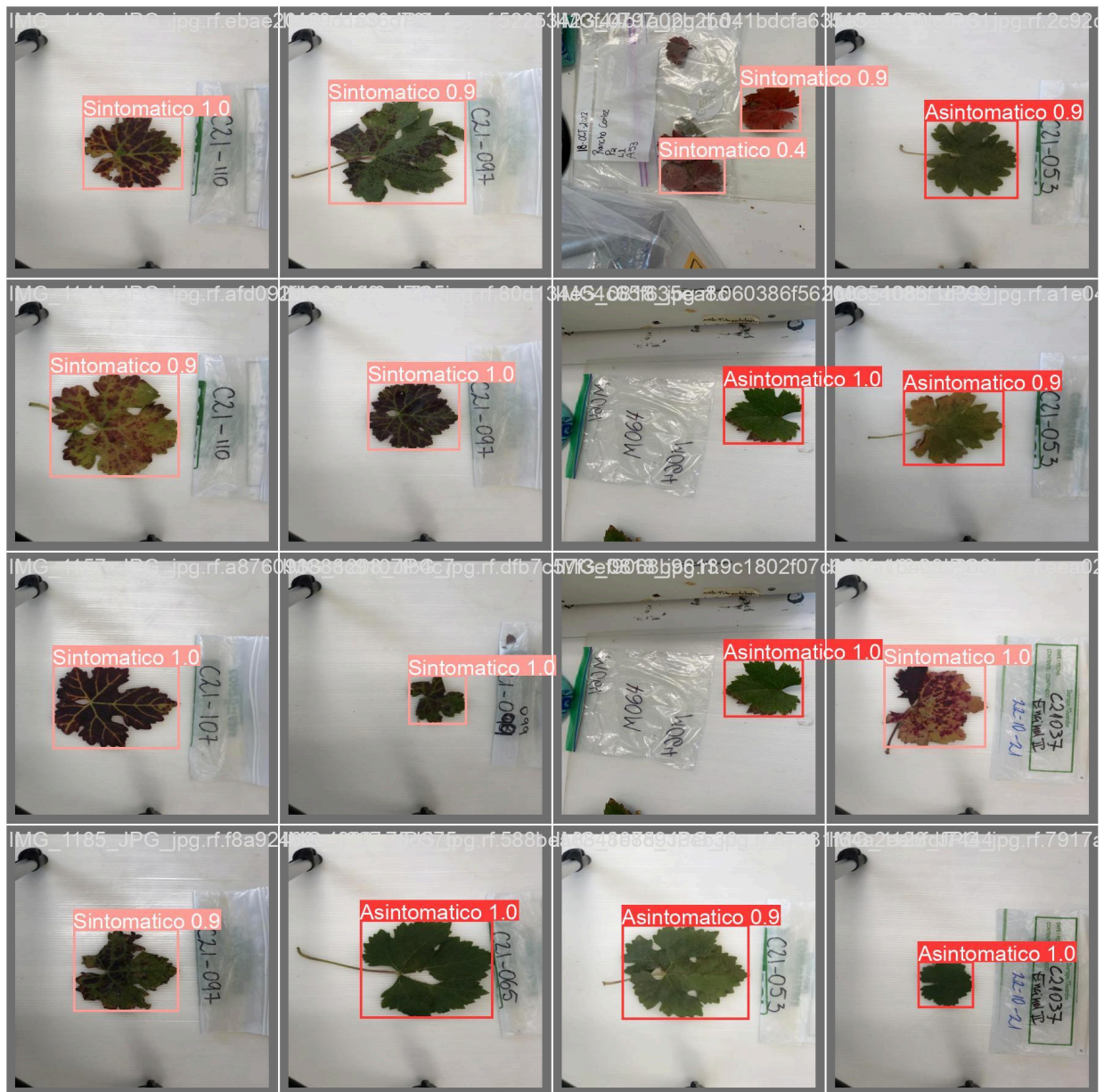


Figura 34. Predicción de algunas fotografías con base en el último modelo.

Cabe destacar que se planteó obtener un modelo que fuera capaz de clasificar fotografías de hojas de vid según síntomas, tanto en fotografías obtenidas en laboratorio con fondo liso y sólido y con luz artificial, como fotografías tomadas directamente en campo, con luz natural o a contraluz. Al agregar fotografías de campo en la base de datos, se tuvo que validar que sí las detectara de manera correcta; analizando las fotografías de la Figura 35 y Figura 36 se destaca que no es necesario tener una calidad excelente de imagen para que el modelo detecte y clasifique correctamente las hojas con o sin síntomas.



Figura 35. Detección de hojas sintomáticas en vid directamente de campo (modelo final).



Figura 36. Detección de hojas sintomáticas en vid directamente de campo a contraluz (modelo final).

Asimismo, se comprobó que el modelo detectara correctamente las hojas asintomáticas de plantas de vid en campo. En la Figura 37 se muestra una planta con gran cantidad de hojas, detectadas correctamente. En la Figura 38, se muestra un acercamiento a hojas capturadas en campo.

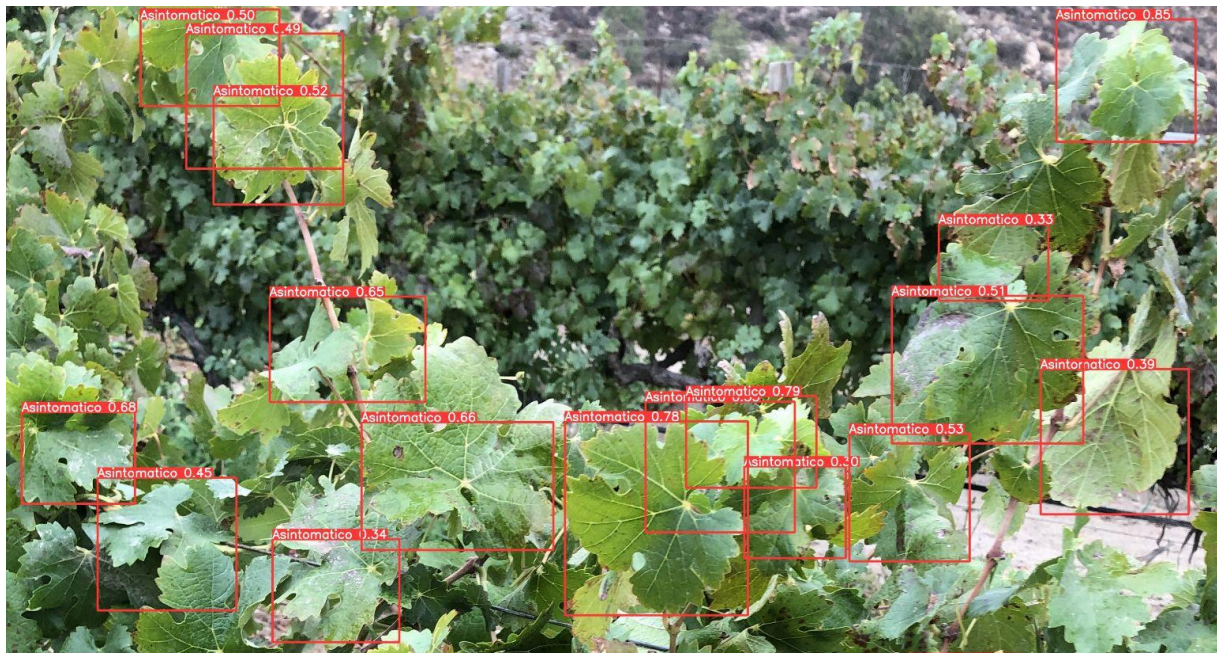


Figura 37. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente de campo (modelo final).

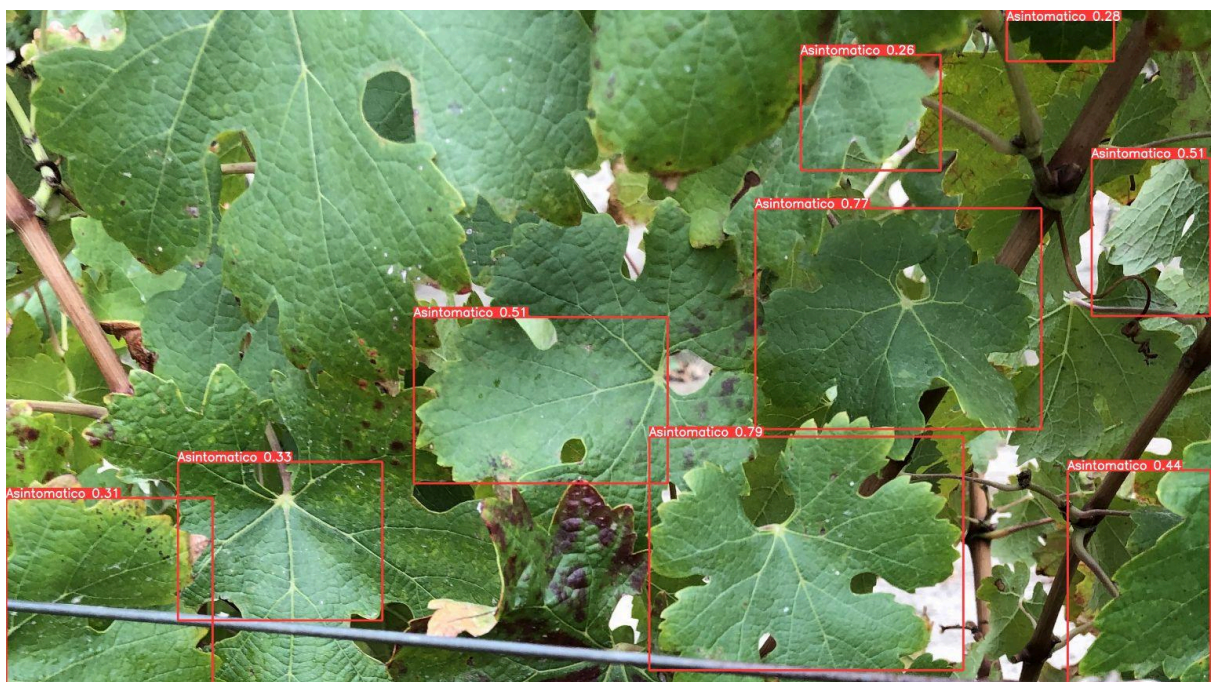


Figura 38. Detección de hojas asintomáticas en vid directamente de campo (modelo final).

Con la finalidad de poder examinar de manera detallada cuál modelo es el mejor que se obtuvo, se analizaron las modificaciones en cada modelo, comparando cada característica relevante, desde porcentajes de asertividad conforme a cada categoría, sus respectivos márgenes de error, si categorizaba solamente fotografías de hojas individuales o también

fotografías directamente de campo y comparando la asertividad que se tiene en promedio en ambas categorías (Tabla 5).

Tabla 5. Cuadro comparativo de todos los modelos realizados

Variaciones	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5
Porcentaje asertividad de asintomático	87%	94%	91%	93%	94%
Porcentaje margen de error de asintomático	13%	6%	7%	5%	4%
Porcentaje asertividad de sintomático	94%	96%	94%	90%	91%
Porcentaje margen de error de sintomático	4%	4%	6%	2%	5%
Promedio de asertividad de ambas categorías	90.5%	95%	92.5%	91.5%	92.5%
Categoriza fotografías de hojas individuales	Si	Si	Si	Si	Si
Categoriza fotografías de hojas asintomáticas en plantas de vid	No	No	Si	Si	Si
Categoriza fotografías de hojas sintomáticas en plantas de vid	No	No	No	Si	Si
Categoriza fotografías de baja calidad	No	No	No	No	Si

También se compararon las diversas métricas que se obtuvieron con base en cada modelo (Tabla 6), donde se tienen variables como precisión, que representa la proporción de los resultados positivos que se obtuvieron, y al restar el valor de 1, nos indica la proporción

de predicciones negativas que se pueden obtener. La variable Recall indica la capacidad que tiene el modelo para poder identificar los resultados positivos reales (clasificando correctamente cada categoría) y al restar el valor de 1, es la capacidad que tiene para identificar los resultados negativos reales. La variable F1-Score representa el promedio obtenido de los valores de Precisión y Recall.

Tabla 6. Cuadro comparativo de métricas de evaluación de los modelos realizados

Modelos	Precisión	1-Precisión	Recall	1-Recall	F1-Score
Modelo 1	0.93209	0.06791	0.91183	0.08817	0.92196
Modelo 2	0.95135	0.04865	0.95188	0.04812	0.95161
Modelo 3	0.95480	0.0452	0.94662	0.05338	0.95071
Modelo 4	0.96026	0.03974	0.89384	0.10616	0.92705
Modelo 5	0.94222	0.05778	0.88342	0.11658	0.91282

Para seleccionar con cual modelo se iba a continuar trabajando se tomaron en cuenta todas las variables anteriormente mencionadas, que tuviera buenos valores de Precisión y Recall (mayores a 0.85 en ambos), que pudiera categorizar fotografías de hojas individuales y en campo, además de tener un porcentaje de error menor a 6% en cada categoría, y que pudiera detectar si es sintomático o asintomático con fotografías de baja calidad, de manera que se tomó el Modelo 5 para continuar con la interfaz.

En la interfaz (Figura 39), se pueden visualizar dos botones, uno de los cuales es para seleccionar la imagen dentro del dispositivo en donde se encuentre y el otro para poder detectar si la fotografía seleccionada presenta sintomatología (o no).



Figura 39. Inicio de la interfaz.

En el inicio de la interfaz, presionamos el botón de “Select Image” para poder seleccionar la fotografía deseada (Figura 40). Una vez seleccionada la fotografía, se visualiza en la ventana principal de la interfaz (Figura 41).

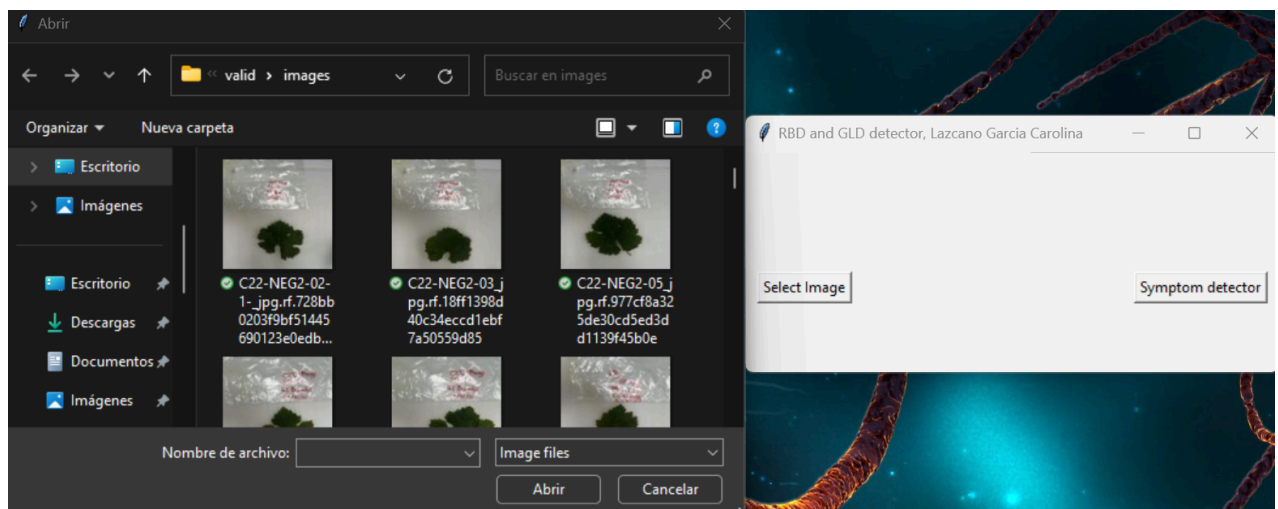


Figura 40. Selección de la fotografía en la interfaz.

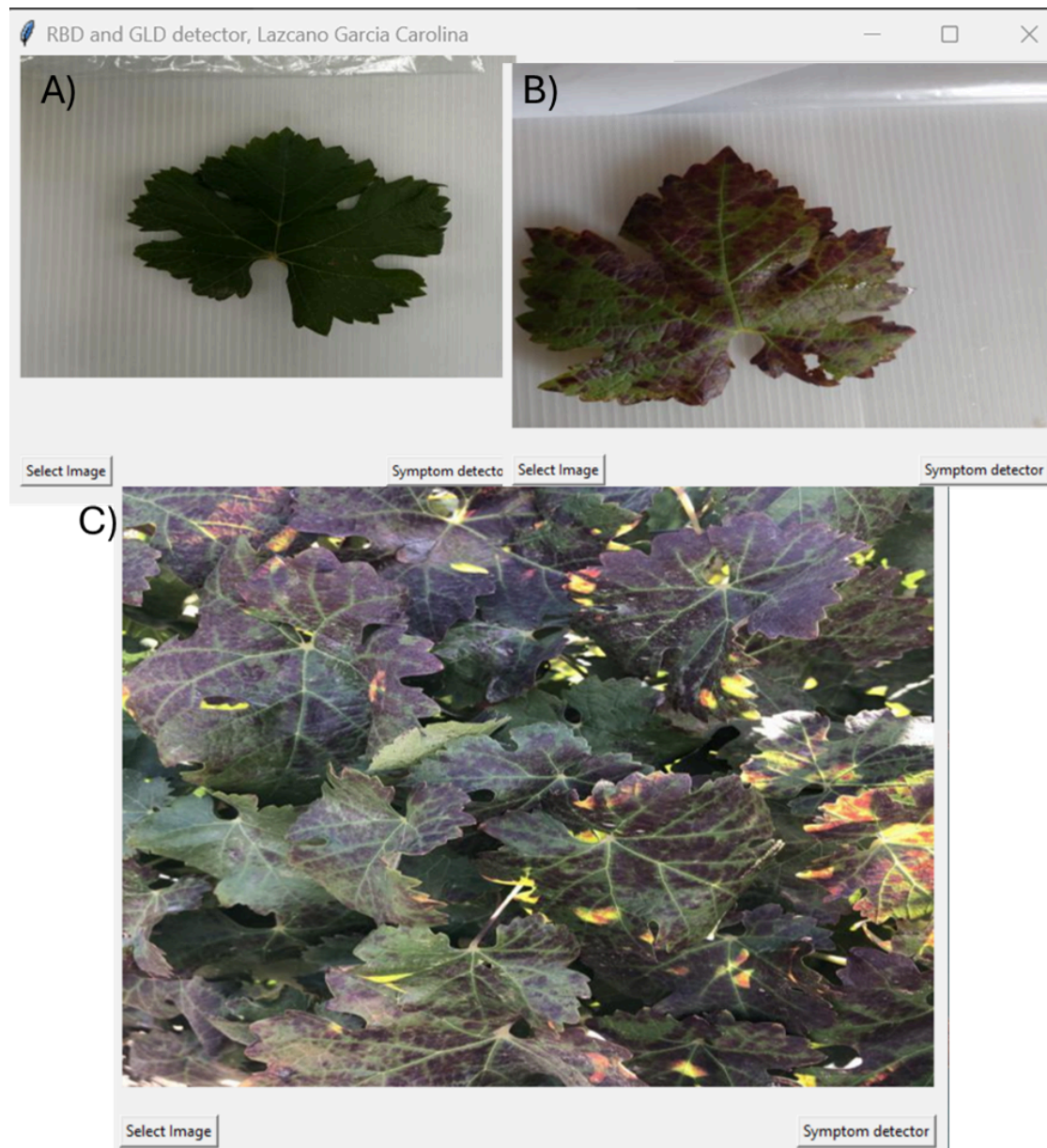


Figura 41. Fotografía seleccionada en la interfaz.

A) Hoja asintomática a GRBD y/o GLD, B) Hoja con sintomatología a GRBD y/o GLD, C) Planta de vid con síntomas a GRBD y/o GLD.

Teniendo la fotografía seleccionada en la ventana principal de la interfaz, presionamos el botón de “Symptom detector”, para que, de esta forma, el modelo entrenado anteriormente pueda detectar características visuales que se presentan en las hojas si estas son asintomáticas o sintomáticas, con la finalidad que las encierre en un recuadro, muestre un porcentaje de asertividad y mencione a que categoría pertenece (sintomático o asintomático a GRBD y/o GLD) (Figura 42).

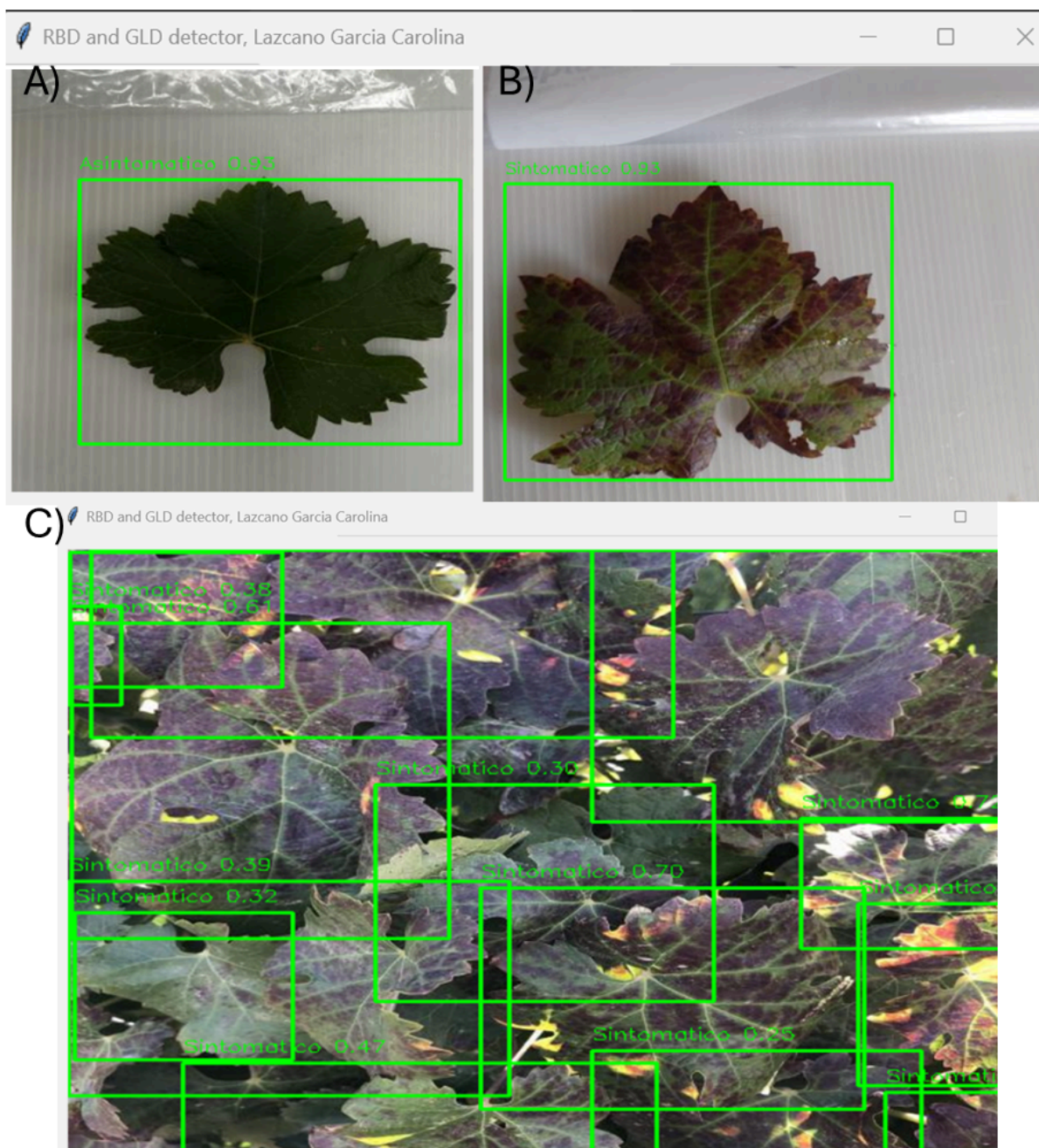


Figura 42. Detección de GRBD y/o GLD en la fotografía seleccionada.

- A) Hoja asintomática a GRBD y/o GLD, B) Hoja con sintomatología a GRBD y/o GLD, C) Planta de vid con síntomas a GRBD y/o GLD.

IV. DISCUSIÓN

Las enfermedades que se abordan en este trabajo son GRBD y GLD, las cuales suelen presentar una sintomatología compartida, por ejemplo, manchas rojas irregulares en pixeles (particularmente en los bordes). También se pueden exhibir otros síntomas, como nervaduras de color rojizo, bordes irregulares, enrollamiento de los márgenes de las hojas y nervaduras de color verde intenso. Debido a estas virosis, las plantas sufren afectaciones en fisiología y metabolismo, lo que genera una reducción sustancial de la calidad de la fruta, así como su maduración, generando pérdidas económicas para los productores.

Cuando en un viñedo se sospecha de la presencia de GRBD y/o GLD se recurre a la realización de diagnósticos moleculares, los cuales son técnicas sensibles, pero suelen ser muy costosas y requieren personal especializado para realizarlas. Debido a esto, es necesario buscar alternativas como recurrir a la inteligencia artificial, con la opción de clasificar las hojas que tengan sintomatología de GRBD y/o GLD, de manera que se pueda obtener un diagnóstico preventivo mediante fotografías de manera rápida o previo al diagnóstico por las técnicas moleculares existentes.

De esta forma se tuvo como objetivo desarrollar un detector con base en inteligencia artificial para categorizar fotografías de hojas de vides como sintomáticas o asintomáticas a GRBD y/o GLD. Para poder cumplir dicho objetivo, el trabajo se dividió en nueve etapas (Tabla 7).

Con la información proporcionada por [Gracia-Reséndiz \(en preparación\)](#) y [García-Reséndiz et al. \(sometido\)](#), se recopilaron datos de 121 sitios ubicados en Baja California y la recolecta de 2420 hojas de plantas, las cuales presentaban (o no) sintomatología. Al obtener estas muestras se procedió a tomarle fotografías individualmente en laboratorio; cabe mencionar que durante las visitas a los sitios también se tomaron 200 fotografías de las plantas de vid ubicadas en los ranchos. El procesamiento de las 190 muestras (recolectadas entre 2022 y 2023) mediante diagnósticos moleculares arrojaron una sensibilidad de 90.7% y la especificidad de 52.4% ([García-Reséndiz et al., sometido](#)). Siendo el diagnóstico visual muy efectivo para detectar plantas sintomáticas y positivas a virus asociados a GLD y/o GRBD por PCR en tiempo real. Sin embargo, se debe tener en consideración que el diagnóstico por síntomas puede no ser efectivo al buscar plantas asintomáticas y negativas, por lo que siempre será recomendable recurrir al diagnóstico molecular para confirmar resultados. Lo anterior, concuerda con que hay cultivares de vid

que no presentan síntomas a pesar de la infección por virus asociados a GLD y también que en estados iniciales de infección no se presentan síntomas (Rayapati et al., 2015).

Tabla 7. Tabla de las etapas de trabajo.

Etapa	Tarea	¿Se cumplió?
1	Revisión de los sitios de muestreo (Ranchos ubicados en Baja California).	Si
2	Recolecta de muestras (hojas de vid) de diversos ranchos de Baja California.	Si
3	Toma de fotografía de las hojas recolectadas.	Si
4	Realización de diagnóstico molecular a partir de las hojas recolectadas.	Si
5	Categorizar fotografías con base a diagnóstico molecular y sintomatología.	Si
6	Realizar base de datos balanceada con las categorías (sintomática o asintomática).	Si
7	Obtener un modelo de inteligencia artificial con la base de datos elaborada anteriormente.	Si
8	Validación del modelo con base en métricas de precisión.	Si
9	Generación de interfaz para la exposición de resultados.	Si

Después de analizar los resultados moleculares, se procedió a etiquetar las hojas individualmente mediante Roboflow, las categorías fueron sintomático, que incluyen todas aquellas que en su mayoría resultaron positivas a virus de GRBD y/o GLD mediante diagnóstico molecular y mediante sintomatología; la otra categoría es asintomático, que no presentaban síntomas visuales y que en su mayoría resultaron negativas en el diagnóstico molecular, obteniendo así una base de datos comprendida por 2600 fotografías etiquetadas, de las cuales 1200 son asintomáticas y 1400 sintomáticas. Cabe destacar que el diagnóstico por síntomas no representa un 100% de asertividad a comparación del diagnóstico molecular, por lo mismo, es necesario poder tener el respaldo del análisis molecular para que sea más asertivo el modelo.

Durante el transcurso de la realización de las bases de datos, se realizaron 5 modelos, los cuales tuvieron diversas características y diferentes resultados ante las métricas de

evaluación, la razón por la que se escogió el modelo 5 fue debido a que presentaba un F1-Score de 0.91282 y por su bajo margen de error en ambas categorías ($\leq 6\%$), con un porcentaje de asertividad del 94% en hojas asintomáticas y del 91% en hojas sintomáticas. Además, el modelo 5 pudo categorizar fotografías de la hoja individual y de la planta de vid directamente en campo, así como, utilizar fotografías de baja calidad para poder categorizarlas.

En el trabajo de [Sawyer E, et al. 2023](#), utilizan métodos de aprendizaje automático como CNN para poder identificar las hojas de vid infectadas con GRBD y GLD. Recolectaron hojas de tres viñedos y analizaron los pecíolos mediante diagnóstico molecular para poder distinguir si eran sintomáticos o asintomáticos, posteriormente utilizaron imágenes obtenidas mediante una cámara hiperespectral (que recopila y procesa toda aquella información a lo largo del espectro electromagnético), recopilando 496 fotografías. En dicho trabajo obtuvieron el 85.6% de asertividad en las hojas que eran asintomáticas mientras que en los datos sintomáticos el 87%, teniendo un promedio de 86.3% de asertividad. Al compararlo con el modelo obtenido en el presente trabajo, las principales diferencias son la cantidad de fotografías tratadas y la manera en la que se procesaron, debido a que en nuestro caso se utilizaron cámaras convencionales (de celular), así como una cantidad de 2600 fotografías para la generación de la base de datos, obteniendo un porcentaje de asertividad del 94% en hojas asintomáticas y del 91% en hojas sintomáticas, teniendo un promedio de asertividad del 92.5%.

Otro trabajo similar es el de [Gao Z, et al. 2020](#), donde utilizan imágenes hiperespectrales como en el de [Sawyer E, et al. 2023](#), pero solamente para la detección de GLD, obteniendo una asertividad en el rango de 66.67 a 89.93%. Adicionalmente trabajaron con técnicas como RT-PCR para el diagnóstico molecular y con las longitudes de onda características al GLD (690, 715, 731, 1409, 1425 y 1582 nm) para la detección temprana, concluyendo que la técnica de imágenes hiperespectrales sirve para poder detectar de manera no destructiva las vides infectadas por GLD. La principal diferencia con el presente proyecto, fue la utilización de fotografías hiperespectrales, pero ellos se basaron en las longitudes de onda y no en las características de los síntomas de GLD. ([Gao, Z et al. 2020](#)), mencionan que esta es una manera de detectarlas sin tener que recurrir al diagnóstico molecular, sin embargo nuestro modelo obtuvo un rango de 91 a 94% de asertividad, siendo este utilizado solamente con cámara de celular y entrenado mediante el aprendizaje automático de CNN. Además, en la base de datos se utilizaron fotografías tanto de campo como de las hojas individuales para

poder caracterizar en ambos casos, sin la necesidad de que las fotografías tuvieran una excelente resolución.

Existen trabajos que utilizan redes neuronales convolucionales para la detección y clasificación de enfermedades de plantas basadas en imágenes digitales ([Maeda Gutierrez, V, et al. 2018](#)), utilizando la arquitectura de AlexNet para entrenar un dataset conformado por 40,000 imágenes de hojas sanas y enfermas. El sistema de detección desarrollado, logró identificar 9 especies de plantas (manzana, cereza, maíz, uva, durazno, pimiento, papa, fresa y tomate) y 24 enfermedades, con una exactitud de 98.90%. No solo se puede utilizar la IA para entrenar modelos que detectan enfermedades en plantas, incluso hay casos en que se utilizan para poder clasificar cáncer de piel (en humanos). En este ejemplo utilizando un archivo ISIC 2019, el cual consta de un total de 33,569 imágenes divididas en 25,331 para el conjunto de entrenamiento y 8,238 para el conjunto de prueba, de manera que comparan diversos métodos de aprendizaje profundo, destacan que el modelo de red neuronal convolucional fue el mejor de todos obteniendo los siguientes resultados: exactitud de 92.20 %, precisión de 92.30% y sensibilidad de 91.50 % ([Jaime-Calva, L, et al., 2022](#)).

V. CONCLUSIÓN

A partir de los diagnósticos moleculares asociados a muestras sintomáticas y las 2,600 fotografías obtenidas, se pudo realizar una base de datos robusta, la cual permitió tener un modelo de IA basado en los resultados de diagnóstico molecular. Debido a esto el modelo de DL basado en YoloV5 obtuvo un porcentaje de asertividad del 94% en hojas asintomáticas y del 91% en hojas sintomáticas, y un promedio de asertividad del 92.5% en ambas categorías. Además, se tuvo un margen de error de $\leq 6\%$ en la categorización de ambas etiquetas (asintomático y sintomático).

Este trabajo de tesis tiene la finalidad de realizar un modelo de DL para dar un diagnóstico preventivo a la detección de GRBD y/o GLD, apoyando a la rápida intervención para el beneficio de técnicos, dueños de viñedos y científicos interesados en el tema. Por lo anterior, se implementó una interfaz didáctica para que cualquier usuario pueda utilizar el modelo con facilidad. Así mismo el modelo realizado puede detectar síntomas en hojas individuales y en plantas de vid, se recomienda tener una fotografía con acercamiento a las hojas para tener un mayor porcentaje de asertividad.

VI. TRABAJO A FUTURO

Dentro de las posibilidades para mejorar el modelo y hacerlo más preciso, es necesario realizar una base de datos que contenga una mayor cantidad de muestras de los diferentes síntomas asociados a enfermedades virales en las hojas de vid y que cuenten con un diagnóstico molecular previo. De esta manera, la base de datos obtendrá una mayor cantidad de enfermedades a clasificar entrenando un modelo de DL más robusto.

REFERENCIAS

- Almeida, R. P. P., Daane, K. M., Bell, V. A., Blaisdell, G. K., Cooper, M. L., Herrbach, E. E., & Pietersen, G. (2013). *Ecology and management of grapevine leafroll disease*. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00094>
- Beltrán-Beache, M., Fuentes, Y. M. O., Cerna-Chávez, E., Landero-Flores, J., Del Ángel, E. C., & Ortiz, J. C. D. (2021). *VIRUS DE LA “MANCHA ROJA” DE LA VID: UNA POTENCIAL ENFERMEDAD EN LOS VIÑEDOS DE MÉXICO*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(3). <https://doi.org/10.56369/tsaes.3672>
- Caiafa, C. F., & Lew, S. E. (2020). ¿Qué es la Inteligencia Artificial? Instituto Argentino de Radioastronomía. <https://www.iar.unlp.edu.ar/boletin/que-es-la-inteligencia-artificial/>
- Contreras, S., & De la Rosa, F. (2016). Aplicación de deep learning en robótica móvil para exploración y reconocimiento de objetos basados en imágenes. 2016 IEEE 11th Colombian Computing Conference (CCC), 1–8.
- Gao, Z., Khot, L. R., Naidu, R. A., & Zhang, Q. (2020). *Early detection of grapevine leafroll disease in a red-berried wine grape cultivar using hyperspectral imaging*. *Computers and Electronics in Agriculture*, 179 (105807), 105807. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105807>
- Gambino, G., Perrone, I., & Gribaudo, I. (2008). *A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants*. *Phytochemical Analysis*, 19(6), 520–525. <https://doi.org/10.1002/pca.1078>
- Gasperin-Bulbarela, J., Licea-Navarro, A. F., Pino-Villar, C., Hernández-Martínez, R., & Carrillo-Tripp, J. (2019). *First report of grapevine red blotch virus in Mexico*. *Plant Disease*, 103(2), 381. <https://doi.org/10.1094/pdis-07-18-1227-pdn>

- García Reséndiz, K, G. (en preparación). *Epidemiología de dos virosis de la vid en viñedos de Baja California: enrollamiento de la hoja y mancha roja*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
- García-Reséndiz K.G., Moyano-Briones G., López-Simancas P., Úrbez-Torres J.R., Hernández-Martínez R. Carrillo-Tripp J. (sometido). *Understanding the spread of grapevine leafroll disease and grapevine red blotch disease in Baja California, Mexico*.
- Herbario Virtual Cátedra de Fitopatología (2020). *Enfermedad del enrollamiento de la hoja de la Vid (Grapevine leafroll-associated virus 3, GLRaV-3)*. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.
https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=10934
- IIC. (2020). *Machine Learning y Deep Learning - Expertos en IIC*. Instituto de Ingeniería del Conocimiento.
<https://www.iic.uam.es/inteligencia-artificial/machine-learning-deep-learning/>
- Introducción a Deep Learning*. (2023). Mathworks.com.
<https://la.mathworks.com/discovery/deep-learning.html>
- Krenz, B., Fuchs, M., & Thompson, J. R. (2023). *Grapevine red blotch disease: A comprehensive Q&A guide*. *PLoS Pathogens*, 19(10), e1011671.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011671>
- Krenz, B, Thompson, J. R., McLane, H. L., & M Fuchs, K. L. P. (2014). *Grapevine red blotch-associated virus Is Widespread in the United States*. *Phytopathology*, 104(11), 1232-40.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-14-0053-R>
- Jaime-Calva, L, et al. (2022). *Clasificación de cáncer de piel utilizando aprendizaje profundo*. *PADI boletín científico de ciencias básicas e ingenierías del ICBI*, 10(Especial3), 147–152. <https://doi.org/10.29057/icbi.v10iespecial3.9029>

- La historia del vino en México.* (2023). Vid Mexicana.
<https://www.vidmexicana.com/blogs/hablemos-de-vinos/la-historia-del-vino-en-mexico>
- Maeda Gutiérrez V. et al. (2018). Redes neuronales convolucionales para la detección y clasificación de enfermedades de plantas basadas en imágenes digitales.
<https://doi.org/10.48779/41MP-QP02>
- Martínez-Diz, M. P., Andrés-Sodupe, M., Berbegal, M., Bujanda, R., Díaz-Losada, E., Gramaje, D. 2020. *Droplet digital PCR technology for detection of Ilyonectria liriodendri from grapevine environmental samples.* Plant Disease 104:1144-1150.
- Osman, F., Leutenegger, C., Golino, D., & Rowhani, A. (2007). *Real-time RT-PCR (TaqMan®) assays for the detection of Grapevine Leafroll associated viruses 1-5 and 9.* Journal of Virological Methods, 141(1).
- O'Shea, K., & Nash, R. (2015). An Introduction to Convolutional Neural Networks. En arXiv [cs.NE]. <http://arxiv.org/abs/1511.08458>
- Overview of model structure about YOLOv5.
<https://github.com/ultralytics/yolov5/issues/280>.
- Rayapati, N. A., Maree, H. J., & Burger, J. T. (2015). Grapevine leafroll disease and associated viruses: A unique pathosystem. Annual Review of Phytopathology, 53(1), 613–634. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045946>
- Representación AGRICULTURA Baja California (2023). *Sembradas 4,365 hectáreas con Vid en la Zona Costa de Baja California:* AGRICULTURA. gob.mx.
<https://www.gob.mx/agricultura/bajacalifornia/articulos/sembradas-4-365-hectareas-con-vid-en-la-zona-costa-de-baja-california-agricultura>
- Ricketts KD, Gómez MI, Fuchs MF, Martinson YO, Cooper ML, Moyer MM, et al. 2017. *Mitigar el impacto económico de Grapevine Red Blotch: optimizar las estrategias de manejo de enfermedades en viñedos de EE. UU.* Soy J Enol Vitic 68 : 127-135 . DOI: 10.5344/ajev.2016.16009

- Rouhiainen, L. (2018). *Inteligencia artificial 101 cosas que debes saber hoy sobre nuestro futuro* (1.^a ed., pp. 20–21). España.
https://planetadelibrosec0.cdnstatics.com/libros_contenido_extra/40/39308_Inteligencia_artificial.pdf
- Sandez-Salas, O. (2021). *Evaluación comparativa de RT-PCR punto final, RT-PCR en tiempo real y RT-LAMP en el diagnóstico del virus GLRaV-3 asociado al enrollamiento de la hoja en plantas de vid* [Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California].
<http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3646>
- Samoili, S., Lopez Cobo, M., Gomez Gutierrez, E., De Prato, G., Martinez-Plumed, F. and Delipetrev, B., AI WATCH. *Defining Artificial Intelligence*, EUR 30117 EN, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2020, ISBN 978-92-76-17045-7, doi:10.2760/382730, JRC118163.
- Sawyer E, Laroche-Pinel E, Flasco M, Cooper ML, Corrales B, Fuchs M y Brillante L (2023). *Phenotyping grapevine red blotch virus and grapevine leafroll-associated viruses before and after symptom expression through machine-learning analysis of hyperspectral images*. *Frontiers in Plant Science*. 14. 1117869. 10.3389/fpls.2023.1117869.
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). *Industria de la viña y vino, motor de crecimiento y empleo para 15 entidades del país: Agricultura*. gob.mx.
<https://www.gob.mx/agricultura/prensa/industria-de-la-vina-y-vino-motor-de-crecimiento-y-empleo-para-15-entidades-del-pais-agricultura?idiom=es>
- Sarker, I. H. (2021). *Deep learning: A comprehensive overview on techniques, taxonomy, applications and research directions*. *SN Computer Science*, 2(6).
<https://doi.org/10.1007/s42979-021-00815-1>
- Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. (2022). *Grapevine red blotch virus*.
<https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/grapevine-red-blotch-virus>

- Torres, M. (2024). *Fue 2023 un gran año para la industria vinícola mexicana* | *Industrial News Baja California. Noticias de la industria maquiladora en México*.
<https://www.industrialnewsbc.com/2024/01/11/fue-2023-un-ano-de-crecimiento-y-reconocimiento-para-la-industria-vinicola-mexicana/>
- Vaughan, W., Dreves, A. J., Skinkis, P. A., Kaiser, C., Buchanan, M. A., Hilton, R., Martin, R., Castagnoli, S., & Renquist, S. (2018). *Prevención y manejo del virus del enrollamiento de la hoja y de los piojos harinosos en viñedos del estado de Oregon*. Servicio de Extensión de la Universidad Estatal de Oregón.
<https://extension.oregonstate.edu/es/catalog/pub/em-8990-s-prevencion-y-manejo-del-virus-del-enrollamiento-de-la-hoja-y-de-los-piojos>
- Vázquez Elorza, A. et al. (2022). *La industria vitivinícola de México en el siglo XXI*.
<https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/La-industria-vitivinicola-de-Mexico-en-el-siglo-XXI/288>

ANEXOS

Tabla 8. Buffer CTAB 2% + PVP 2%

Reactivo	Para 250 mL	Concentración final
Tris-HCl 1M pH 8	25 mL	100 mM
EDTA 0.5 M	25 mL	50 mM
CTAB polvo	5 g	2 %
NaCl 5 M	70 mL	1.4 M
PVP-40	5 g	2 %
H2O-DEPC	Aforar a 250 mL y esterilizar en autoclave	

Tabla 9. Buffer SSTE

Reactivo	Para 100 mL	Concentración final
Tris-HCl 1M pH 8	1 mL	10 mM
EDTA 0.5 M	200 μ L	1 mM
SDS polvo	1 g	1 %
NaCl 5 M	20 mL	1 M
H2O-DEPC	Aforar a 100 mL y esterilizar en autoclave (solo calentando se disuelve el SDS)	

Tabla 10. Cebadores utilizados.

Virus	Primer	Secuencia (5'-3')	Técnica	Producto (pb)	Referencias	Tm (°C)	Tm positivos (°C)
GLRaV-1	HSP70-149 F HSP70-293 R	ACCTGGTTGAACGAGATCGCTT GTAAACGGGTGTTCTTCAATTCTCT	RT-qPCR	168	Osman et al (2007)	61	83 $\pm$ 1
GLRaV-2	198 F 290 R	CATTATATTCTTCATGCCTCTCAGGAT GATGACAACTTCTGTCCGCTATAGC	RT-qPCR	116	Osman et al (2007)	61	83 $\pm$ 1
GLRaV-3	Rdrp	CGCTCATGGTGAAAGCAGAGACGT ACGCTCTACGCACGCAGTAA	RT-qPCR	140	Sandez-Salas (2021)	60,5	83.5 $\pm$ 1
GLRaV-4	HSP-85 F HSP-178 R	ATATACATACCAACCGTTGTGGGTATAA CCCTATAAACTAGCACATCCTTCTCTAGT	RT-qPCR	93	Osman et al (2007)	61	69 $\pm$ 1
GRBV	CP	AGCGGAAGCATGATTGAGACATTGACG AACGTATGTCCACTTGCAGAAGCCGC	RT-qPCR	245	Krenz et al (2014)	55	84 $\pm$ 1