

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**



**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR  
DE SALVATIERRA**



**“CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES  
FÚNGICAS DEL FOLLAJE EN CHILE SERRANO  
(*Capsicum annuum* L.) CON DEEP LEARNING”**

**TITULACIÓN INTEGRAL  
(TESIS)**

**Elaborada por:**

**IVETH PAOLA FLORES MEDRANO**

**Para obtener el título de:**

**INGENIERO EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

**Directora de Tesis:**

**DRA. MARCIA MARIBEL MARTÍNEZ SCOTT**

**Salvatierra, Gto.**

**Septiembre, 2023**



## FORMATO DE LIBERACIÓN DEL PROYECTO DE TITULACIÓN INTEGRAL

Salvatierra, Guanajuato. 30/junio/2023.

**C. Lizbeth Estefanía Escobar Paniagua**

**Jefe de la División de Estudios Profesionales**

**Presente.**

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral

**Nombre del estudiante:** Iveth Paola Flores Medrano

**Carrera:** Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable

**No. de Control:** AG18110107

**Nombre del Proyecto:** "Clasificación de enfermedades fúngicas del follaje en chile serrano (*Capsicum annuum* L.) con Deep Learning"

**Producto:** Tesis

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

**ATENTAMENTE**

**Dr. Pedro E. Moreno Zacarías**

**Coordinador de Ingeniería en Innovación agrícola Sustentable**

Director de Tesis	Revisor 1	Revisor 2
<b>Dra. Marcia Maribel Martínez Scott</b> Nombre y Firma	<b>Dr. Pedro E. Moreno Zacarías</b> Nombre y Firma	<b>M.E. Walter M. Zúñiga Maldonado</b> Nombre y Firma





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE SALVATIERRA**

**COORDINACIÓN DE INNOVACIÓN EN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

TESIS  
Presentada por:

***IVETH PAOLA FLORES MEDRANO***

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial  
para obtener el título de

**INGENIERO EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

Aprobado por:

---

Dra. Maribel Martínez Scott  
Directora de Tesis

---

Dr. Pedro E. Moreno Zacarías

Revisor

---

M.E. Walter M. Zúñiga Maldonado

Revisor

---

Dr. Pedro E. Moreno Zacarías

Coordinador de Innovación en Agrícola Sustentable

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento para la realización de este proyecto.

Al Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra, por la educación y preparación académica brindada, así como a todos y cada uno de mis formadores, en especial a la Dra. Marcia Maribel Martínez Scott por cada palabra de aliento, regaño, consejo y enseñanzas profesionales.

Agradezco a mi padre Miguel ángel flores López, así como a mis seres queridos que confiaron en mis decisiones y me brindaron su apoyo incondicional en todo momento para seguir estudiando y así alcanzar mis metas.

A ti Oswaldo Sánchez Calderón por el apoyo incondicional que me brindaste durante esta etapa de mi vida, por todas y cada una de las acciones de apoyo para poder concluir con éxito, por creer en mí, por recordarme de lo que soy capaz y ser mi apoyo emocional, en especial por ese amor incondicional.

A mis compañeros de clase por brindarme su apoyo, por sus palabras de aliento para seguir y por la unión que mantuvimos para llegar a la recta final con éxito.

## **DEDICATORIA**

### **A Dios**

Por demostrarme que no estoy sola, en especial en los momentos más difíciles durante mi desarrollo profesional y personal, además de ser mi guía en este largo camino llamado vida.

### **A mis padres**

María Trinidad Medrano Saavedra y Miguel Ángel Flores López por brindarme valores y bases de vida para ser la persona que soy y demostrarme que todo es posible y que se puede salir adelante a pesar de las adversidades; mamá dejaste en mí una gran admiración como mujer en toda la extensión de la palabra y papá eres un hombre admirable que jamás se rinde, ambos con un noble y hermoso corazón.

### **A mis hermanos**

Fernando Miguel Flores Medrano y Jesús Giovanny Flores Medrano, por la unión y fuerza que somos juntos, por estar para mí siempre, apoyándome y dándome las ganas de seguir para ser su buen de ejemplo de hermana mayor.

### **A mis abuelos**

Nicolas Flores Ibarra por siempre estar al pendiente de mí, así como recordándome hasta donde puedo llegar, sin olvidar lo que soy con sus sabios consejos de vida.

María Guadalupe Saavedra Chávez y Benjamín Medrano Pérez, por apoyarme y estar de manera incondicional, por siempre creer y confiar en mí, por ser los abuelitos amorosos y con grandes consejos de vida.

### **A mis padrinos**

Carmen Flores López y Jorge Lara Méndez por brindarme todo el apoyo necesario para alcanzar esta meta de vida, por confiar en mis decisiones para seguir estudiando y por procurarme en todo momento, así como son tan grandes personas también han sido como mis segundos padres a lo largo de mi vida.

## ÍNDICE GENERAL

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Introducción .....	1
1.2 Planteamiento del problema .....	2
1.3 Justificación.....	3
1.4 Objetivos .....	3
1.4.1 Objetivo general .....	3
1.4.2 Objetivos especificos.....	3
1.5 Hipótesis .....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Antecedentes .....	5
2.2 Patología vegetal .....	7
2.3 Hongos fitopatógenos .....	7
2.3.1 Características de los hongos fitopatógenos.....	8
2.3.2 Mecanismos de infección de los hongos fitopatógenos .....	8
2.3.3 Importancia .....	8
2.3.4 Clasificación Taxonómica de los principales grupos de hongos fitopatógenos .....	9
2.4 Características morfológicas de los hongos <i>Alternaría solani</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Leveillula taurica</i> y <i>Cladosporium fulvum</i> .....	9
2.4.2 Morfología de <i>Leveillula taurica</i> (Lev).....	10
2.4.3 Morfología de <i>Phytophthora infestans</i> (Mont: De Barry) .....	11
2.4.4 Morfología de <i>Cladosporium fulvum</i> .....	11
2.5 Inteligencia artificial para la detección de enfermedades.....	12

2.5.1 Deep learning .....	12
2.5.2 Funcionamiento de Deep Learning .....	12
2.5.3 Diferencia entre inteligencia artificial y machine learning .....	13
2.5.4 Entrenamiento del algoritmo de deep learning .....	13
2.5.5 Aplicaciones de deep learning .....	13
2.5.6 Beneficios de deep learning .....	14
2.6 Generalidades del cultivo.....	15
2.6.1 Origen .....	15
2.6.2 Usos .....	15
2.6.3 Importancia económica .....	15
2.6.4 Importancia a nivel mundial.....	16
2.6.5 Importancia a nivel nacional.....	16
2.6.6 Taxonomía .....	17
2.6.7 Descripción botánica y morfológica.....	18
2.6.8 Requerimientos edafoclimáticos.....	18
2.6.9 Manejo del cultivo.....	19
2.6.10 Plagas y enfermedades.....	22
2.6.11 Enfermedades en el cultivo de chile.....	22
2.6.12 Plagas en el cultivo de chile .....	25
CAPITULO III. METODOLOGÍA.....	28
3.1 Descripción del área de estudio.....	28
3.2 Establecimiento del experimento .....	28
3.2.1 Desinfección de la estructura .....	29
3.2.2 Desinfección del suelo .....	29
3.2.3 Establecimiento del sistema de riego.....	29

3.3 Establecimiento de material vegetal a utilizar .....	29
3.3.1 Germinación de semillas .....	29
3.3.2 Trasplante, variedad densidad de siembra .....	29
3.3 Recolección del inóculo de los fitopatógenos .....	30
3.3.1 Preparación de medio de cultivo .....	30
3.3.2 Aislamiento de los hongos a partir de hojas enfermas .....	30
3.3.3 Crecimiento de los hongos en medio de cultivo puros para la captura de imágenes in vitro .....	30
3.3.4 Identificación morfológica de las estructuras de los hongos usados en esta investigación .....	31
3.4 Preparación del inóculo para la aplicación en macetas .....	31
3.4.1 Solución líquida .....	31
3.4.2 Solución en aceite .....	31
3.4.3 Conteo de inóculo en cámara Neubauer o hemocitómetro .....	32
3.5 Preparación de los espacios para establecer las macetas .....	32
3.5.1 Clasificación de las plantas de acuerdo a los estados fenológicos .....	32
3.5.2 Clasificación de las lesiones de acuerdo a la incidencia de la enfermedad .....	33
3.6 Inoculación de las plantas.....	33
3.7 Manejo agronómico de las plantas .....	34
3.7.1 Aplicación de nutrición a charolas y plantas de chile serrano .....	34
3.8 Variables evaluadas.....	35
3.9 Identificación de las lesiones en las hojas para cada hongo inoculado .....	35
3.10 Creación de una base de datos con las imágenes clasificadas .....	37
3.11 Captura de imágenes.....	38
3.11.1 Etiquetado de lesiones aparentes en hojas de chile .....	39



3.12 Configuración del sistema de cómputo para IA .....	40
3.12.1 Instalación de PyTorch.....	40
3.12.2 Probar el entorno de trabajo.....	41
3.12.3 Modulo de aprendizaje con PyTorch .....	41
3.12.4 Tarjeta gráfica con Tensor Cores .....	42
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
4.1 Obtención de los aislados.....	44
4.1.2 Confirmación de los hongos re-aislados .....	47
4.2 Captura de imágenes de hongos crecidos en PDA para el entrenamiento del algoritmo.....	49
4.3 Evaluación de diferentes métodos de inoculación .....	52
4.3.1 Clasificación de las plantas de acuerdo a escala BBCH.....	53
4.3.2 Inoculación del hongo entomopatógeno.....	54
4.4 Captura de imágenes.....	56
4.4.1 Montaje del sistema para la captura de imágenes .....	56
4.4.2 Captura de imágenes .....	56
4.4.3 Clasificación de las plantas de Chile en el software .....	59
4.5 Discusión .....	62
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	67
5.1 Conclusiones .....	67
5.2 Recomendaciones .....	68
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍAS.....	69
CAPÍTULO VII. ANEXOS .....	78

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Principales países con mayor producción de chile a nivel mundial. _____	16
Tabla 2. Principales estados productores de chile serrano a nivel Nacional. _____	17
Tabla 3. Taxonomía del chile serrano ( <i>Capsicum annuum</i> ). _____	17
Tabla 4. Requerimientos nutrimentales para chile serrano. _____	34
Tabla 5. Porcentaje del crecimiento de cuatro hongos fitopatógenos a diferentes temperaturas. _____	44
Tabla 6. Comparación de diferentes métodos de inoculación de hongos fitopatógenos en macetas de chile serrano. _____	52
Tabla 7. Inoculación por estadio de plantas y agente fitopatógeno. _____	55
Tabla 8. Ejemplo de registro de fotos almacenada en la base de datos. _____	56

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura microscópica de <i>Alternaria solani</i> (Fuente: propia).	10
Figura 2. Estructura microscópica de <i>Leveillula taurica</i> (Fuente: propia).	10
Figura 3. Estructura microscópica de <i>Phytophthora infestans</i> (Fuente: propia).	11
Figura 4. Estructura microscópica de <i>Cladosporium fulvum</i> (Fuente: propia).	11
Figura 5. Ubicación del área de estudio (Google Maps, 2023).	28
Figura 6. Lesiones cloróticas sobre hojas (Fuente propia).	35
Figura 7. Lesiones de cenicilla en Chile (Fuente: propia).	36
Figura 8. Síntomas por el haz y el envés de las hojas en tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) Fuente: (Universidad de Minesota, 2023).	36
Figura 9. Lesiones de <i>Alternaria solani</i> .	37
Figura 10. Lesiones de <i>Phytophthora infestans</i> (Fuente: propia).	37
Figura 11. Sistema de captura de imágenes. (Fuente propia).	39
Figura 12. Comando de instalación para OSX.	40
Figura 13. Instalación de PyTorch.	40
Figura 14. Paquetes instalados de PyTorch usando Conda.	41
Figura 15. Fragmento de código.	42
Figura 16. Reproducción de <i>Alternaria solani</i> a) Anverso y b) Revés (Imagen propia).	45
Figura 17. Reproducción de <i>Cladosporium fulvum</i> a) Anverso y b) Revés (Imagen propia).	46
Figura 18. Reproducción de <i>Leveillula taurica</i> a) Anverso y b) Revés (Imagen propia).	46
Figura 19. Reproducción de <i>Phytophthora infestans</i> a) Anverso y b) Revés.	47

Figura 20. Estructura microscópica de <i>Alternaria solani</i> (Fuente: propia)	_____ 47
Figura 21. Estructura microscópica de <i>Cladosporium fulvum</i> (Fuente: propia)	____ 48
Figura 22. Estructura microscópica de <i>Leveillula taurica</i> (Fuente: propia)	_____ 48
Figura 23. Estructura microscópica de <i>Phytophthora infestans</i> (Fuente: propia).	__ 48
Figura 24. Tomas iniciales de referencia de las cajas Petri con hongos crecidos <i>Leveillula taurica</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> y <i>Alternaria solani</i> .	_____ 49
Figura 25. Imágenes con la lámpara cercana ( <i>Leveillula taurica</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> y <i>Alternaria solani</i> ).	_____ 50
Figura 26. Imágenes con lámpara alejada ( <i>Leveillula taurica</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> y <i>Alternaria solani</i> ).	_____ 50
Figura 27. Imágenes de hongos con lámpara cercana y con caja tapada ( <i>Leveillula taurica</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> y <i>Alternaria solani</i> ).	_____ 51
Figura 28. Imágenes de hongos con lámpara alejada y con caja tapada ( <i>Leveillula taurica</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> y <i>Alternaria solani</i> ).	_____ 51
Figura 29. Secuencia tomada en una caja y con lámpara cercana ( <i>Leveillula taurica</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> y <i>Alternaria solani</i> ).	_____ 51
Figura 30. Secuencia tomada en una caja y con lámpara alejada ( <i>Leveillula taurica</i> , <i>Phytophthora sp</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> y <i>Alternaria solani</i> ).	_____ 52
Figura 31. Muestra la planta1 sana, con diferentes estadios en ambiente no controlado.	_____ 57
Figura 32. Planta 1, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con <i>Alternaria solani</i> .	_____ 58
Figura 33. Planta 5, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con <i>Cladosporium fulvum</i> .	_____ 58

Figura 34. Planta 2, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con <i>Leveillula taurica</i> .	59
Figura 35. Planta 5, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con <i>Phytophthora infestans</i> .	59
Figura 36. Programa Test tkinter canvas label para la clasificación.	60
Figura 37. Archivo de texto con las características de la selección de imagen.	60

## RESUMEN

México es el centro de origen de chile serrano y primer exportador a nivel mundial y el sexto de chile seco. Además de ser un producto con presencia mundial, éste es parte simbólica del imaginario culinario y cultural. Sin embargo, el chile es susceptible al ataque de microorganismos causantes de enfermedades foliares, los cuales ocasionan pérdidas que van de un 30 a 50% en los rendimientos de cosecha. Las enfermedades fúngicas foliares producen lesiones en las hojas que se manifiesta en forma de decoloraciones (mosaicos) o manchas localizadas. En algunas situaciones el tejido puede oscurecerse o ser colonizado por el micelio del hongo llegando a causar necrosis en el mismo. El diagnóstico inicial de enfermedades puede ser erróneo debido a la similitud entre los síntomas de las enfermedades. Este proyecto se enfocó en el desarrollo de un modelo de clasificación de lesiones del follaje causadas por cuatro hongos fitopatógenos basado en aprendizaje profundo (Deep Learning). Los fitopatógenos contemplados fueron *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Leveillula taurica* y *Cladosporium fulvum*. En una primera parte, se estableció un área de producción de plantas, posteriormente se evaluaron diferentes métodos de inoculación. Las plantas fueron inoculadas individualmente en un entorno controlado. Durante la evolución de la enfermedad se realizaron capturas diarias de imágenes de las hojas que presentaban lesiones. En una segunda etapa, se desarrolló un sistema de reconocimiento de enfermedades usando secuencias de imágenes previamente registradas pre-procesamiento, extracción de características, separación de datos (entrenamiento y prueba), normalización de datos, construcción y entrenamiento del modelo de reconocimiento, y la evaluación del desempeño del sistema. Como resultados se desarrolló un software para la captura, clasificación, almacenamiento en una base de datos y procesamiento de las imágenes. En la etapa final, se aplicó la validación de la metodología tomando muestras de cultivos, aplicando el sistema de reconocimiento de enfermedades y confirmando los resultados del sistema a través de observaciones en el microscopio para determinar si las estructuras morfológicas del hongo correspondían a las clasificadas por el método propuesto, obteniendo resultados positivos y satisfactorios.

## ABSTRACT

Mexico is the center of origin of serrano chile and the first exporter worldwide and the sixth of dry chile. In addition to being a product with a global presence, it is a symbolic part of the culinary and cultural imagination. However, chili is susceptible to attack by microorganisms that cause foliar diseases, which cause losses ranging from 30 to 50% in crop yields. Foliar fungal diseases produce lesions on the leaves that manifest as discolorations (mosaics) or localized spots. In some situations, the tissue can darken or be colonized by the mycelium of the fungus, causing necrosis in it. The initial diagnosis of diseases can be wrong due to the similarity between the symptoms of the diseases. This project focused on the development of a classification model for foliage lesions caused by four phytopathogenic fungi based on Deep Learning. The phytopathogens considered were *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Leveillula taurica* and *Cladosporium fulvum*. In the first part, a plant production area will be established, later different inoculation methods will be evaluated. Plants were inoculated individually in a controlled environment. During the evolution of the disease, daily images of the leaves with lesions were taken. In a second stage, a disease recognition system will be developed using pre-registered image sequences, preprocessing, feature extraction, data separation (training and testing), data normalization, recognition model construction and training, and evaluation of the system. system performance. As a result, a software was implemented for the capture, classification, storage in a database and processing of the images. In the final stage, the validation of the methodology was applied by taking culture samples, applying the disease recognition system and confirming the results of the system through microscope observations to determine if the morphological structures of the fungus inoculated corresponded to those images classified by the proposed method, obtaining positive and satisfactory results.

# CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Introducción

El chile serrano, también conocido como chile verde, es originario del norte de Puebla e Hidalgo. La designación de serrano proviene, posiblemente, de que casi siempre se cultiva en zonas serranas de las sierras. Esta hortaliza es considerada como un símbolo de identidad nacional, México se distingue no solo por tener la mayor diversidad de chiles en el mundo, sino porque también es cultural y tradicionalmente importante al consumo popular; es un ingrediente básico que está presente en casi todos los platillos de comida mexicana a través de su color, sabor y textura, siendo uno de los cultivos hortícolas de mayor impacto para el desarrollo económico y social a nivel nacional, además de su valor como producto (CONABIO 2022).

En México los principales estados productores de Chile serrano son Chihuahua, San Luis Potosí, Sinaloa, Hidalgo, Puebla, Guanajuato y Zacatecas, donde los climas son óptimos para su desarrollo. Sin embargo, como todos los cultivos el chile es susceptible al ataque de enfermedades fúngicas del follaje causando daños que van de un 30 al 50% en el rendimiento de las cosechas, siendo necesario que se cuente con herramientas para la identificación correcta y oportuna del o los agentes causales de las mismas y con ello establecer medidas de control (SIAP, 2021).

La detección de enfermedades puede ser más fácil con técnicas como el entrenamiento de redes neuronales a través del Deep Learning en comparación con otros métodos manuales. Deep Learning es un subconjunto de aprendizaje de máquina (que a su vez es parte de la inteligencia artificial), donde las redes neuronales y los algoritmos fueron inspirados en el funcionamiento del cerebro humano, los cuales aprenden de grandes cantidades de datos. Los algoritmos de Deep Learning realizan una tarea repetitiva que ayuda a mejorar de manera gradual, el resultado a través de “deep layers” lo que permite el aprendizaje progresivo. Este proceso forma parte de



una familia más amplia de métodos de machine learning basados en redes neuronales (IBM, 2022).

El entrenamiento para la detección de enfermedades es un método reciente que utiliza algoritmos llevando a cabo el auto aprendizaje de patrones ocultos dentro de los datos para hacer predicciones en la detección de enfermedades fúngicas en el follaje de chile a través del procesamiento de imágenes que permitan detectar e identificar lesiones propias de un microorganismo en tallos, ramas, hojas y flores y generar un diagnóstico preciso (Calderón y Hurtado, 2019).

## **1.2 Planteamiento del problema**

Las enfermedades causadas por hongos tienen relevancia en los daños económicos que pueden llegar a ocasionar, ya que ante la aparición de una enfermedad fúngica trae consigo un agente causal responsable de provocar alteraciones en el cultivo, esto sucede cuando al hongo fitopatógeno se le permite cumplir con su ciclo de infección. Al obtener diagnósticos equivocados y tardanza en la detección de enfermedades, provoca el desarrollo de la enfermedad hasta un punto en el cual, ocasiona que los costos de producción aumenten, por no establecer controles eficientes y oportunos de los microorganismos causantes de infecciones en el follaje de las plantas, ocasionando con ello una baja eficiencia de la fotosíntesis y necrosis del tejido, lo cual se traduce en bajos rendimientos de cosecha y en pérdidas económicas de los productores. Considerando que la identificación de un agente causal de enfermedades fúngicas es muy diversa, suele ser necesario el estudio de los síntomas que presentan las plantas en especial en su follaje, lo cual nos lleva a la identificación, ya que los síntomas que puede presentar la planta nos indica cual es el fitopatógeno que la usa como su huésped.

### **1.3 Justificación**

El éxito del control de enfermedades consiste en hacer diagnósticos oportunos y puntuales de estas al momento en que aparecen los primeros síntomas, para poder tomar ventaja sobre la enfermedad y evitar que esta continúe propagándose. Es necesario crear herramientas digitales que auxilien tanto a los técnicos y agricultores en la detección de enfermedades, permitiendo determinar qué microorganismo o agente patogénico está afectando el cultivo para determinar que tratamientos o medidas preventivas se van a usar, tratando de evitar una posible propagación hacia otras áreas del cultivo, y reducir el riesgo de sufrir pérdidas significativas de la calidad y rendimientos de cosecha. Los malos diagnósticos del agente causal de la enfermedad repercuten en la parte económica, esto debido a que las aplicaciones están orientadas al control de un microorganismo para evitar que las aplicaciones sean en vano, porque una mala aplicación puede ser incapaz de controlar el agente causal de la enfermedad, permitiendo la propagación de la enfermedad, lo que hace necesario invertir más dinero en medidas correctivas.

### **1.4 Objetivos**

#### **1.4.1 Objetivo general**

Establecer un sistema de inoculación controlado de cuatro hongos fitopatógenos (*Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *Leveillula taurica* y *Cladosporium fulvum*) que afectan el follaje de Chile y que permita la captura y procesamiento de imágenes a través de una red neuronal con Deep Learning.

#### **1.4.2 Objetivos específicos**

Evaluar diferentes medios de cultivo para inducir la abundancia de la esporulación y viabilidad del inóculo de cuatro especies de fitopatógenos.

Comparar la incidencia de los síntomas de la enfermedad bajo tres tipos de inoculación controlada (Inoculación con aspersora manual, inoculación con atomizadores e inoculación en aceite).

Identificar las lesiones causadas por cada hongo fitopatógeno en plantas desde su inoculación hasta la muerte de la planta.

Entrenar la red neuronal a través de la captura de imágenes, su clasificación y detección de lesiones presentes en hojas.

### **1.5 Hipótesis**

El uso de un algoritmo para el entrenamiento de la red neuronal permitirá identificar lesiones del follaje causadas por hongos fitopatógenos en chile serrano (*C. annuum*) como *Alternaria solani*, *Cladosporium fulvum*, *Leveillula Taurica* y *Phytophthora infestans* con un 80% de antelación al desarrolló una infestación en el cultivo.

Al menos uno de los métodos evaluados que se utilizaran para la inoculación de plantas con los fitopatógenos presentará una infección al menos del 80%.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

Dentro de la detección de enfermedades en cultivos agrícolas, es fundamental para disminuir los costos de producción y aumentar la productividad, en el cultivo de Chile, una detección adecuada representa disminuir la aplicación de medidas correctivas. La búsqueda de métodos para detección de enfermedades y disminuir la incertidumbre en su detección, ha incrementado el uso de herramientas informáticas ya que el avance de las tecnologías allana un camino de transición hacia agricultura de precisión (Bhuvana, et al. 2021), por ejemplo, Geetharamani G. *et al.* (2019) presentaron un modelo de detección de enfermedades en las hojas de las plantas basado en el uso de la red neuronal convolucional profunda (DCNN). La DCNN es un tipo de red neuronal de aprendizaje profundo complejo que agrega más representaciones jerárquicas en el modelo. La DCNN tiene amplias aplicaciones en: clasificación de imágenes, detección de objetos, reconocimiento de voz, y el procesamiento de lenguaje natural. La DCNN requiere de un gran volumen de entrenamiento de datos para lograr mejores resultados.

Usaron el dataset plantvillage el cual contiene 54,305 imágenes de 13 diferentes tipos de hojas que fueron utilizados en la etapa de entrenamiento y pruebas para el modelo DCNN. La base de datos incluye 39 clases diferentes. Para aumentar el número de imágenes y reducir el sobreajuste, les realizaron transformaciones geométricas y al final el dataset alojó 55,636 imágenes.

Para los procesos de entrenamiento y pruebas se usaron las siguientes librerías: the scikitlearn, Keras, pillow y opencv. En cuanto al hardware se utilizó: NVIDIA DGX-1 V100 with 8X Tesla V100 GPUs.

El modelo propuesto DCNN es capaz de clasificar eficientemente 38 clases de plantas sanas o enfermas utilizando imágenes de hojas, el cual logra una precisión promedio de 96.46% en la clasificación, y entre 92% y 100% para la clase individual. El método de pooling llamado max pooling funciona mucho mejor que average pooling en

comparación con otros modelos de aprendizaje automático. Algo similar, pero involucrando la recolección desde una cámara de celular se manejó con F. Jakjoud *et al.* (2019) exponen el uso de la red neuronal convolucional profunda (DCNN) para el reconocimiento de hojas enfermas y sanas. Con la finalidad de mejorar el rendimiento de la DCNN, fue necesario utilizar un gran dataset. Se recolectaron imágenes de hojas de las plantas de diferentes fuentes como free dataset e imágenes capturadas con cámaras de teléfonos inteligentes. Las imágenes fueron preprocesadas mediante traslaciones, rotaciones, zooming en el objeto de interés y agregaron ruido aleatoriamente en cada imagen, creando un dataset de 13,692 imágenes. El 80% se destinó para el entrenamiento y el 20% para las pruebas. Fue necesario redimensionar las imágenes a un tamaño de 100×100 píxeles con la finalidad de reducir el tiempo de entrenamiento de la red. Durante el experimento se desarrollaron cinco modelos basados en SGD (Stochastic Gradient Descent), RMSprop (Root Mean Square propagation), Adadelta (una extensión del algoritmo AdaGrad) y AdaGrad con diferentes configuraciones. Los modelos fueron entrenados con el dataset propuesto. El hardware empleado para el entrenamiento y pruebas fue una laptop con un procesador Intel i7-7700 CPU (2.80 GHz), RAM, 12GB, GPU GeForce GTX 1050 Ti x1, Windows. El modelo SGD demostró ser el más rápido, robusto, y con un valor de precisión del 90% y un tiempo de respuesta de 0.228 segundos, entre los otros modelos. También se trabajó con una placa Raspberry pi 3 model B con las siguientes características de hardware: Core processor (1.2Ghz) y 1 Gb RAM. Mientras que, Laha Ale *et al.* (2019) utilizaron una red convolucional densamente conectada (Densely Connected Convolutional Networks, DenseNet) basada en la transferencia de aprendizaje para la detección de enfermedades en plantas. En este modelo de transferencia de aprendizaje, se agregó un aplanado (flatten) y dos capas completamente conectadas con cuatro bloques densos, con un tamaño de entrada 256×256×3. Como resultado se tiene un total de 7,148,166 parámetros en el modelo de DenseNet121. El total los parámetros del modelo propuesto son menores que los necesarios para otros modelos clásicos de aprendizaje profundo, como ResNet152 (60, 419,944 parámetros), InceptionV3 (23,851,784 parámetros) e InceptionResNetV2 (55, 873,736 parámetros). Como el modelo es relativamente más pequeño que otros

modelos se puede implementar en móviles o en dispositivos potentes del Internet of Things (IoT). Los pesos de DenseNet121 se inicializan con ImageNet.

El trabajo compara el rendimiento para el aprendizaje del modelo con diferentes resoluciones de imagen. Las bajas resoluciones comprometen el rendimiento al no tener suficientes características. Por el contrario, la alta resolución transmite más información sobre las enfermedades, pero aumenta el costo computacional exponencialmente.

## **2.2 Patología vegetal**

La patología es la ciencia del diagnóstico y control de las enfermedades de las plantas. Cubre el estudio de los agentes infecciosos que atacan plantas y desórdenes abióticos o enfermedades fisiológicas.

Plantas parásitas, nemátodos, hongos, bacterias, y virus, conforman un conjunto de agentes que, de diversas formas, son capaces de ocasionar severas pérdidas al cultivo. En este extenso compuesto de agentes, los hongos y microorganismos semejantes a hongos, son el grupo más numeroso de patógenos que inducen las patologías en hortalizas (Rivera, 2020).

## **2.3 Hongos fitopatógenos**

Los hongos causantes de enfermedades en las plantas se conocen como fitopatógenos. Son un gran problema para la siembra de hortalizas, pues implican un aumento en los costos de producción para controlarlos y pérdidas económicas y biológicas.

Un mismo hongo fitopatógeno puede infectar a varios tipos de planta, aunque sean de diferentes especies. Por lo general, el hongo pasa la mayor parte de su ciclo de vida como parásito en la planta que le sirve de huésped y el resto como saprofito en los residuos vegetales que quedan en el suelo (Mesa *et al.*, 2019).

### **2.3.1 Características de los hongos fitopatógenos**

Son organismos eucariontes uni o pluricelulares que se desarrollan en sitios húmedos y con poca luz. Las células de los segundos se agrupan en filamentos llamados hifas que en conjunto recibe el nombre de micelio. Organismos productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes. La mayoría de las 100,000 especies de hongos conocidas son estrictamente sáprofitas y viven sobre la materia orgánica muerta, a la que descomponen, de las cuales más de 8.000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas (Granados, 2018).

### **2.3.2 Mecanismos de infección de los hongos fitopatógenos**

Los hongos patógenos emplean diferentes mecanismos para unirse a la superficie de la planta hospedadora. En cualquier caso, la penetración del hongo en la planta precisa del contacto y la adherencia de las esporas y/o de la primera hifa que resulta de su germinación (tubo germinativo) a la superficie vegetal.

Los hongos fitopatógenos secretan proteínas que pueden interactuar con las plantas huésped durante el proceso de infección del huésped. Estas proteínas, denominadas proteínas efectoras, desempeñan funciones importantes en las células vegetales y, por lo tanto, afectan la interacción entre los patógenos de las plantas y sus huéspedes (Yan *et al.*, 2021).

### **2.3.3 Importancia**

Los hongos fitopatógenos causan enfermedades en las plantas, y tienen un gran impacto ya que, anualmente, destruyen un tercio de las cosechas producidas. Definir cuáles de ellos son de mayor relevancia, varía según las prioridades científicas y económicas de una región geográfica; algunos representan altos riesgos para la seguridad alimentaria o son modelos de estudio en temas relacionados con factores epidemiológicos y genética vegetal. La mayoría posee mecanismos exitosos de diseminación, variabilidad genética y amplia gama de hospedantes (Quispe, 2017).

### **2.3.4 Clasificación Taxonómica de los principales grupos de hongos fitopatógenos**

Reino Protozoa:

Clase Myxogastrea

Clase Phytomyxea).

Reino Chromista

Clase Oomycetes.

Familia Pythiaceae;

Familia Albuginaceae;

Familia Peronosporaceae.

Reino Fungi:

División Chitridiomycota,

Zygomycota,

Ascomycota,

Basydiomycota,

Deuteromycota

Fuente: (Braun, 2012).

### **2.4 Características morfológicas de los hongos *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Leveillula taurica* y *Cladosporium fulvum***

Los hongos que se utilizaran en esta investigación son causantes de enfermedades foliares en plantas de la mayoría de los cultivos, las cuales son similares al inicio de los síntomas.

#### **2.4.1 Morfología de *Alternaria Solani* (Sor)**

Debido a la ausencia de un ciclo de reproducción sexual, este género se clasificó dentro del filo de hongos imperfectos o mitospóricos. *Alternaria solani*, se caracteriza por la producción de conidióforos simples y erectos, en cuyo extremo se forman cadenas simples o ramificadas de conidios. Los conidios o dictiosporas son multicelulares, de color pardo y con septos tanto transversales como longitudinales. Figura 1, (Insst, 2018).





Figura 1. Estructura microscópica de *Alternaria solani* (Fuente: propia).

#### 2.4.2 Morfología de *Leveillula taurica* (Lev)

*Leveillula taurica* produce hifas claras y tabicadas, formando un micelio blanco o gris claro. Las hifas dan lugar a conidióforos cortos, rectos y ramificados, de los cuales se desarrollan los conidios, dispuestos en cadenas. Los conidios son hialinos, unicelulares, ligeramente rectangulares u ovales. Las hifas también forman haustorios, que son estructuras especializadas en la obtención de alimento de las células huésped. Los haustorios son hinchazones en las extremidades de las hifas que penetran dentro de las células y permiten que el hongo desarrolle una relación de parasitismo. Figura 2, (Macedo, 2019).

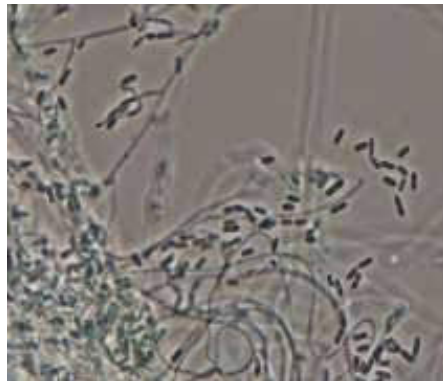


Figura 2. Estructura microscópica de *Leveillula taurica* (Fuente: propia).

### 2.4.3 Morfología de *Phytophthora infestans* (Mont: De Barry)

Se caracteriza por ser heterotálico, producir esporangios (estructura donde se encuentran las esporas) y esporas asexuales (zoosporas) a partir de la diferenciación de su micelio vegetativo. Además de presentar dos tipos de apareamiento en su reproducción sexual. Figura 3, (Intagri, 2018).



Figura 3. Estructura microscópica de *Phytophthora infestans* (Fuente: propia).

### 2.4.4 Morfología de *Cladosporium fulvum*

*Cladosporium fulvum* es un hongo filamentososo, perteneciente al filo Ascomycota y al grupo de los dematiáceos, caracterizados por presentar una coloración oscura.

Microscópicamente presenta hifas finas, septadas, ramificadas de color hialino a marrón. Las hifas sostienen cadenas ramificadas de conidios unicelulares, elipsoides o cilíndricos, algunos con forma de escudo debido a las cicatrices de unión entre ellos. Los conidios se forman por gemación sucesiva del conidio anterior, estando el conidio más joven y pequeño al final de la cadena. Figura 4, (Cabrera, 2020).

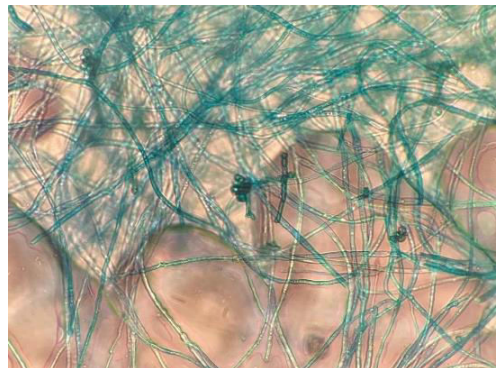


Figura 4. Estructura microscópica de *Cladosporium fulvum* (Fuente: propia).

## **2.5 Inteligencia artificial para la detección de enfermedades**

La inteligencia artificial (IA) es el campo de la ciencia informática dedicado a la resolución de problemas cognitivos asociados comúnmente con la inteligencia humana, como el aprendizaje, la resolución de problemas y el reconocimiento de patrones. La IA es una rama de las Ciencias Computacionales (CC) especializada en el desarrollo de algoritmos, cuyo objetivo es implementar dichas instrucciones en sistemas informáticos, capaces de realizar inferencias lógicas en tareas donde se requiere la percepción humana y que van más allá de la programación tradicional.

El aprendizaje automático (en inglés Machine Learning, ML) y el aprendizaje profundo (en inglés Deep Learning, DL) son ambos campos de la ciencia informática derivados de la disciplina de la inteligencia artificial (Ricardo *et al.*, 2021).

### **2.5.1 Deep learning**

Deep learning o aprendizaje profundo, es un subconjunto de machine learning (que a su vez es parte de la inteligencia artificial) donde las redes neuronales, algoritmos inspirados en cómo funciona el cerebro humano, aprenden de grandes cantidades de datos. Es parte de machine learning para, a partir de una gran cantidad de datos y tras numerosas capas de procesamiento con algoritmos, conseguir que un ordenador termine aprendiendo por cuenta propia y realizando tareas similares a las de los seres humanos, como la identificación de imágenes, el reconocimiento del habla o la realización de predicciones, de forma progresiva (Chollet, 2021).

### **2.5.2 Funcionamiento de Deep Learning**

Los algoritmos de Deep Learning se aplican a redes neuronales artificiales estructuradas en forma de capas: input layer (entrada), hidden layer (oculta) y output layer (salida). Los datos entran por la primera capa, en la que hay varias neuronas artificiales que se activan o no dependiendo de los datos (Guaña, 2022).

### **2.5.3 Diferencia entre inteligencia artificial y machine learning**

#### **Inteligencia artificial (IA)**

Campo que estudia cómo crear programas informáticos con la habilidad de aprender y razonar como los humanos para resolver problemas de forma creativa.

#### **Machine learning (ML)**

Aplicación de la inteligencia artificial dedicada a la creación de algoritmos que permitan a los sistemas aprender sin intervención humana, es decir, sin necesidad de programarlos explícitamente.

#### **Deep learning (DL)**

Subconjunto del machine learning enfocado a la creación de redes neuronales artificiales, es decir, sistemas que imitan al cerebro humano, adaptándose y aprendiendo a partir de grandes cantidades de datos (Rouhiaien, 2018).

### **2.5.4 Entrenamiento del algoritmo de deep learning**

La forma de entrenar a un algoritmo de deep learning es suministrarle cantidades masivas de datos. Cuantos más analice, más preciso se vuelve. Por ello, todas estas tecnologías también están relacionadas con el big data y tienen un papel relevante en sus aplicaciones, que buscan extraer significado, tal y como haría un humano, de enormes cantidades de datos (Torres, 2020).

### **2.5.5 Aplicaciones de deep learning**

#### **Visión artificial**

La visión artificial adquiere la capacidad de reconocer caracteres, imágenes, objetos e incluso rostros, así como su impacto en la Industria 4.0 y en la agricultura.

#### **Análisis predictivo**

El análisis predictivo puede generar previsiones más precisas de los resultados de los negocios, las evoluciones de los mercados o las necesidades energéticas.

## **Asistentes virtuales**

Alexa, Cortana o Siri son asistentes que entienden y ejecutan los comandos de voz del usuario en lenguaje natural y son capaces de aprender con el tiempo.

## **Chatbots**

Los chatbots se emplean en sistemas de asistencia al cliente para resolver problemas de los usuarios a través de un chat y también aprenden de forma progresiva.

## **Robótica**

El aprendizaje profundo facilita que los robots realicen tareas similares a las humanas, incluso tomando decisiones en tiempo real. También pueden atender a su propio mantenimiento.

## **Salud**

A través del análisis de imágenes médicas, facilita la detección de enfermedades y el diagnóstico asistido por ordenador, incluso sin la intervención de personal (Sotelo, 2021).

### **2.5.6 Beneficios de deep learning**

Las características del sistema no tienen que definirse previamente, ya que éste las deduce y se ajusta a ellas impulsando la automatización de procesos, por lo que la fiabilidad del sistema frente a las variaciones naturales de los datos se produce de forma automática, reduciendo considerablemente los errores.

El rendimiento del sistema es mejor cuanto mayor sea la cantidad de datos y los diferentes procesos necesarios pueden realizarse en paralelo, mientras que la arquitectura del sistema es flexible, por lo que puede evolucionar y adaptarse a nuevos problemas en el futuro (Rojas, 2021).

## **2.6 Generalidades del cultivo**

### **2.6.1 Origen**

México es considerado el centro de origen del chile, la especie domesticada por los mesoamericanos, permitiendo con ello la expansión de este en su diversa variedad. El género *Capsicum* incluye un promedio de 25 especies y tiene su centro de origen en las regiones tropicales y subtropicales del centro y sur de América, donde ha sido cultivado y usado desde épocas muy remotas. Chile Serrano, como su nombre lo anuncia proviene de las zonas montañosas, perteneciente a los chiles tradicionales (Miranda, 2020).

### **2.6.2 Usos**

Generalmente se utiliza en fresco, seco y en polvo, utilizados en la elaboración de productos alimenticios, cosméticos y farmacéuticos, sus usos son múltiples. Puede comerse fresco, cocido o como condimento en platillos típicos. En la industria se elaboran una gran variedad de productos: en el mercado hay chiles congelados, deshidratados, encurtidos y enlatados; se le encuentra en pastas y en una infinita variedad de salsas; se utiliza como materia prima para la obtención de colorantes y de resinas para fines industriales. Por último, pero no por ello menos importante, el chile también se usa con fines medicinales (Mancilla, 2017).

### **2.6.3 Importancia económica**

En México se cultiva Chile verde, en sus diferentes tipos, en estos destaca el serrano, ya que este forma parte fundamental en la cocina mexicana y por lo cual es económicamente atractivo aparte de ser un cultivo rentable. Además de la innegable presencia en el consumo diario mexicano, el cultivo es importante por el valor que aporta a la producción agrícola de las regiones involucradas, porque genera ingresos competitivos para los productores y porque la cosecha abarca alrededor de 150 días (jornales) por hectárea en zonas de riego. La creación de empleos es reflejo de un impacto social positivo; impacto que trasciende las fronteras de México (Valle, 2013).

#### 2.6.4 Importancia a nivel mundial

México ocupa el primer lugar como exportador y el segundo lugar como productor de chile a nivel mundial; el país exporta poco más de 700 mil toneladas a distintas partes del mundo, donde los principales consumidores del chile mexicano son: Estados Unidos, Japón, Canadá, Reino Unido y Alemania. Los principales países productores de chiles verdes, en su mayoría, también son los que destacan como los que poseen el mayor número de superficie cultivada. Por ejemplo, China ocupa el primer lugar tanto por las hectáreas de superficie cultivada de pimientos como por su volumen, lo mismo ocurre con México posicionándolo en segundo lugar y Turquía ocupando el tercer lugar. Tabla 1, (Encalada, 2021).

Tabla 1. Principales países con mayor producción de chile a nivel mundial.

País	Área (ha)	Rendimiento (ton/ha)	Producción (Ton)
China	612,800	20.45	12'531,000
<b>México</b>	<b>140,693</b>	<b>13.17</b>	<b>1'853,610</b>
Turquía	88,000	19.83	1'745,000
Estados Unidos	34,400	28.42	977,760
España	22,500	42.36	953,200
Indonesia	173, 815	5.01	871,080
Nigeria	91,000	7.91	720,000

Fuente: (Encalada, 2021)

#### 2.6.5 Importancia a nivel nacional

El cultivo de chile es importante en la historia, tradición y cultura de México, además, es un productor agrícola con alta demanda mundial, ya que se ubica entre las siete hortalizas más cultivadas del mundo. Su gran importancia a nivel nacional es debido a que actualmente se produce chile en cada uno de los 32 estados que conforman la República Mexicana. Los principales productores son: Sinaloa, Chihuahua, Zacatecas, San Luis Potosí y Sonora. Tabla 2, (SIAP, 2021).

Tabla 2. Principales estados productores de chile serrano a nivel Nacional.

Entidad Federativa	Producción	Rendimiento (udm/ha)
Sinaloa	659, 683.91	43.88
Chihuahua	578, 521.77	24.18
Zacatecas	426, 085.94	11.64
San Luis Potosí	341, 215.79	13.84
Sonora	219, 877.48	43.37
Jalisco	151, 844.90	34.84
Michoacán	130, 152.43	32.9
Guanajuato	129, 654.78	27.41
Baja California Sur	75, 857.19	49.1
Tamaulipas	64, 514.40	34.88

Fuente: (SIAP, 2021)

### 2.6.6 Taxonomía

Los chiles se clasifican por su taxonomía en especies, subespecies y variedades botánicas, la cual se presenta en la tabla 3.

Tabla 3. Taxonomía del chile serrano (*Capsicum annum*).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Tribu	Capciceae



Genero	<i>Capsicum</i>
Especie	<i>Capsicum annuum</i>

Fuente: (Miranda, 2020)

### 2.6.7 Descripción botánica y morfológica

El chile es herbáceo y crece de manera arbustiva, con un solo tallo y muchas ramas ascendentes-extendidas mide de 60-120 cm y con una corona que se ensancha mucho, pudiendo llegar a medir de 50-90 cm.

**Tallos:** verdes, costillados, pubescentes con pelos incurvados de 0.4 mm de largo.

**Hojas:** solitarias o en pares, lanceoladas, de 2-8 cm de largo, 1-3 cm de ancho, esparcidamente pubescentes en ambas superficies a glabras, el ápice acuminado, la base cuneada y abruptamente acuminada en el pecíolo; pecíolos de 5-20 mm de largo. Inflorescencias axilares: de una sola flor; pedicelos erectos, curvado en el ápice y en floración.

**Flores:** de 1-2 cm de largo, 0.5 cm de diámetro, dilatado en el ápice, esparcidamente pubescente; cáliz de 1 mm de largo en anthesis, hasta 2 mm de 5 largo en el fruto, truncado y escasamente lobado con apéndices diminutos justo abajo del margen, éstos continuos con las costillas; corola blanca, acampanado, de 9 mm de ancho, lóbulos ovados-trianguares, de 3 mm de largo; filamentos de 1-1.5 mm de largo, glabros, las anteras verde-azuladas, de 1 mm de largo, 0.5 mm de ancho; estilo de 2.5 mm de largo.

**Fruto:** su forma es alargada, cónica con punta roma y redondeada; su color es verde oscuro; su piel es lisa, gruesa y consistente; el sabor es picante y con mucho cuerpo. Semilla: pardo-amarillenta, comprimidas de 2.5 mm de largo (Barrales, 2010).

### 2.6.8 Requerimientos edafoclimáticos

El ciclo vegetativo de la planta de chile depende de los genotipos, de la temperatura en las diferentes épocas (germinación, floración, maduración), de la duración del día y

de la intensidad lumínica. El cultivo necesita una temperatura media diaria de 24°C. Menor a 15° C el crecimiento es deficiente y con 10°C el desarrollo del cultivo se paraliza. Con temperaturas superiores a los 35°C, puede haber aborto de flores, la fructificación es muy débil o nula, sobre todo si el aire es seco. Las temperaturas elevadas pueden causar una polinización deficiente, que, aunada a un desbalance nutricional, pueden ocasionar que los frutos no crezcan en forma normal (Ramírez, 2014).

### **Suelo**

El cultivo del chile se adapta a diferentes tipos de suelo, pero prefiere suelos profundos, de 30 a 60 centímetros de profundidad, los óptimos francos arenosos, con alto contenido de materia orgánica y que sean bien drenados. El pH desde 6.5 a 7.0, por abajo o arriba de los valores indicados no es recomendable su siembra porque afecta la disponibilidad de los nutrientes. Es importante conocer y considerar el pH del suelo porque indica los rangos para el buen uso y asimilación de los fertilizantes y especialmente cuando sean de origen nitrogenado (Ramírez, 2014).

### **PH del suelo**

El pH del suelo y agua debe de ser alrededor de 6.0 a 6.5 para lograr un mejor desarrollo de la variedad y lograr una mejor absorción y disponibilidad de nutrientes en la planta.

## **2.6.9 Manejo del cultivo**

### **Época de siembra**

Comprende del 1 de septiembre al 30 de noviembre, tanto para siembra directa como para trasplante. Sin embargo, desde el punto de vista de rendimiento, calidad y menores problemas fitosanitarios, las mejores siembras son las de noviembre.

### **Análisis de semilla y plántula**

Debido a los problemas de virosis ocasionados por altas poblaciones de vectores como la mosca blanca, es requisito para la obtención del permiso de siembra presentar el

diagnóstico de un laboratorio autorizado que demuestre que la semilla o plántula se encuentran libres de patógenos.

### **Trasplante**

La semilla producida en invernadero es una mejor garantía de sanidad por lo que el trasplante es una práctica cada vez más popular y una forma más segura de anticiparse al mercado, al llevar al campo plantas con 21 a 28 días de vida.

Es recomendable un tratamiento preventivo de la plántula antes del trasplante para prevenir la enfermedad conocida como secadera ocasionada por *Phytophthora capsici*. El tratamiento consiste en sumergir las raíces de las plántulas en una solución preparada con Tecto, en proporción de 2 g por litro de agua (Escalante, 2011).

### **Siembra**

La siembra se puede realizar en cualquier época del año bajo un sistema de agricultura protegida; en campo abierto se realiza a partir del 1º de diciembre en adelante, esto no quiere decir que no se pueda antes o después, sino que la finalidad es aprovechar las condiciones ambientales y sincronizar la época de cosecha para producción de esta hortaliza, en una época de gran demanda de producto comestible. La producción de plántulas en bandeja o charolas germinadoras (plástico o poliestireno) pueden llenarse con cualquier mezcla que cumpla la función de sustrato. Esto ha venido a innovar el cultivo de hortalizas haciéndolo eficiente, ya que se tiene uniformidad de plantas, sanas, con mejor enraizamiento por que conservan todas sus raíces al momento del trasplante; además, la cosecha se acelera aumentando los ingresos del productor (Panorama, 2018).

### **Manejo del riego**

La humedad debe llegar a la semilla y las plantas por trasporo, para evitar que se pudra la semilla o se marchiten las plantas. Normalmente se dan de 10 a 12 riegos, dependiendo de la fecha de siembra y las condiciones climáticas prevalecientes. La lámina total es de aproximadamente 78 cm. Se recomienda regar una vez por semana

o cada 10 días, haciendo aplicaciones periódicas de Calcio, Magnesio y Boro para darle consistencia, buen amarre y color al fruto.

En riego por goteo se sugieren cada tercer día, con una duración de tiempo por riego de 3 a 5 horas dependiendo del estado vegetativo de la planta, las condiciones ambientales y el tipo de suelo de que se trate. La lámina total aproximada es de 42 cm (Mata, 2010).

### **Fertilización**

En riego rodado es recomendable aplicar un fertilizante nitrogenado y todo el fósforo al momento de la preparación del surco, puede ser 18-46-00 a razón de 250 kg/ha, y después del trasplante es recomendable aplicar 100 kg de nitrato de amonio y volver aplicar 100 kg de nitrato de amonio después de la floración en amarre de fruto. Es necesario también monitorear bien la humedad del terreno y el número de riegos que se le suministren al cultivo ya que la planta tiene raíces grandes y vigorosas y un tallo leñoso, por lo que la humedad debe ser constante para lograr un mejor desarrollo.

Es recomendable aplicar micro elementos de manera periódica como Fierro, Zinc y Boro, antes de la floración, con el fin de lograr el máximo de fructificación. Una dosis común para diferentes variedades es aplicar 220 kg de nitrógeno, 80 de fósforo y 50 de potasio por hectárea en siembras directas. Todo el fósforo y potasio además de 60 kg de nitrógeno se colocan a una profundidad de 10 cm a un lado y debajo de la hilera de la semilla. A los 60 días de nacidas las plantas y a un lado de éstas se incorporan 80 kg de nitrógeno; los restantes 80 se aplican a los 90 días de haber nacido las plantas (Panorama, 2018).

### **Cosecha**

Una vez formado el fruto como órgano verde, se presenta una serie de cambios metabólicos, bioquímicos y fisiológicos que conducen al estado de maduración a características sensoriales óptimas para el consumo. Esta sucesión de cambios se inicia cuando el fruto alcanza su máximo crecimiento y diferenciación, hasta llegar a la cúspide del climaterio respiratorio o madurez total, iniciándose posteriormente la senescencia del mismo.

La recolección del fruto se hace a mano, que con un ligero movimiento se desprende con pedúnculo. Los chiles listos para cosechar en verde se conocen por su tamaño, color (Varia el color verde: claro, oscuro, según el genotipo) y textura. Cuando la producción sea para deshidratado, los cortes se van realizando a medida que los frutos cambian de color verde a rojo o según sea el caso (Panorama, 2018).

## **2.6.10 Plagas y enfermedades**

### **2.6.11 Enfermedades en el cultivo de chile**

#### **Cenicilla por (*Oidiopsis taurica*)**

El hongo de la cenicilla del chile y tomate, se ha considerado como el único patógeno foliar con la habilidad para infectar un gran número y diversidad de especies de plantas. La enfermedad se caracteriza por afectar principalmente a las hojas con mayor desarrollo o bien formadas. Por la parte inferior de las hojas se desarrollan manchas algodonosas de color blanco formadas por el micelio y esporas del hongo. Por la parte superior de las hojas es difícil notar evidencias de la enfermedad, únicamente cuando las hojas ya se encuentran muy dañadas se aprecia una clorosis. Al unirse varias manchas, provocan la caída prematura del follaje y que los frutos sufran de quemaduras del sol o bien que la planta acorte en forma significativa su ciclo de vida (Guigón, 2001).

#### **Tizón por (*Alternaria spp*)**

Es una enfermedad de poca importancia económica en los cultivos de chile. Sin embargo, en frutos de chile maduros (rojos o amarillosos), daños en poscosecha pueden ser de gran consideración. En cultivos de chile, la enfermedad se presenta principalmente en follaje, aunque en condiciones de alta humedad los tallos, flores y frutos se pueden ver afectados.

Las primeras lesiones se observan principalmente en hojas viejas, las cuales consisten en pequeñas lesiones irregulares de color café oscuro. A partir del centro de la lesión se forman anillos concéntricos, evidentemente debido a la resistencia que presenta la planta para detener el avance de la infección o debido a que el hongo emite toxinas

para provocar la muerte de las células vegetales y cuando se alimenta de ellas de nuevo emite toxinas que destruyen otro grupo de células.

En muchos hospedantes las manchas se encuentran rodeadas por un color amarillo, debido a la producción de toxinas. Cuando se unen varias lesiones, pueden provocar la muerte prematura de las hojas, afectando la producción y calidad del fruto (Guigón, 2001).

### **Podredumbre húmeda (*Choanephora cucurbitarum*)**

El hongo *Choanephora cucurbitarum*, se ha reportado atacando a flores senescentes, follaje tierno y frutos suculentos de muchas especies de plantas. Es un patógeno que se presenta frecuentemente en cultivos de Chile.

La sintomatología empieza en las hojas apicales de plántulas de Chile, manifestándose manchas acuosas de tamaño y forma irregular. Posteriormente, las manchas se dispersan hacia las hojas inferiores de las plantas afectadas. El follaje dañado muere rápidamente y adquiere una consistencia seca de color oscuro. En los tejidos acuosos, por la mañana se observa la presencia de una capa con muchas vellosidades largas de color claro en un inicio y con puntos oscuros en las partes apicales (moho) cuando las esporas del hongo han madurado (Reyes, 2018).

### **Mancha gris por (*Stemphylium solani*)**

La mancha gris, es una enfermedad causada por *Stemphylium solani*, patógeno que se presenta muy frecuentemente en diferentes especies de Chile (Chile morrón, jalapeño, serrano, Caribe y Cubanelle). Los primeros síntomas de la mancha gris se confunden con frecuencia con los causados por *Cercospora capsici* (Heal y Wolf), organismo causante del “ojo de rana” o en algunos casos con la quemadura de herbicidas. La mancha gris se manifiesta principalmente en las hojas jóvenes, en donde aparecen pequeñas manchas de color café claro de uno a dos milímetros de diámetro.

Al madurar las hojas, las manchas se hacen más grandes y en las orillas de la mancha se presenta un color café rojizo y el centro blanco. Las manchas generalmente tienen un tamaño que fluctúa entre tres a cinco milímetros de diámetro. Los ataques severos

de esta enfermedad, como la mayoría que se presentan en Chile provocan una defoliación prematura de la planta (Reyes, 2018).

### **Virus del moteado del Chile (*Pepper mottle virus: PepMoV*)**

Las plantas de variedades susceptibles desarrollan un moteado foliar severo el cual es frecuentemente acompañado por venas de color verde y deformación foliar. Los frutos de plantas infectadas también pueden sufrir deformaciones.

En plantas adultas de la variedad Tabasco infectadas con PepMoV se pueden observar anillos necróticos en los tallos y frutos; también ocurre una defoliación y los nuevos crecimientos muestran un mosaico y son distorsionados.

Este virus es transmitido de manera no persistente por adultos y ninfas de *M. persicae*, considerada como la especie más eficiente para la transmisión de este patógeno (Robles-Hernández et al., 2010).

### **Virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus: TMV*)**

Los síntomas causados por el TMV son aclaramiento pronunciado de las venas en hojas jóvenes que suelen presentar ampollamientos, mosaicos y clorosis. Ocasionalmente puede observarse una necrosis sistémica y defoliación; las plantas afectadas en sus primeras etapas de desarrollo muestran enanismo y los frutos producidos en las plantas infectadas pueden ser deformes o de menor tamaño, así como presentar áreas cloróticas o necróticas y maduración irregular.

Las principales fuentes de inóculo de TMV son la semilla y residuos provenientes de plantas infectadas; el TMV puede permanecer viable en residuos de plantas en suelo seco por varios años. Este virus puede distribuirse en toda la planta de cultivares susceptibles y puede estar presente sobre y debajo de la cubierta de la semilla, así como en el endospermo (Velásquez y Amador, 2009).

## **2.6.12 Plagas en el cultivo de chile**

### **Mosquita blanca (*Bemisia tabaci*)**

La hembra de la mosquita blanca oviposita más de 300 huevecillos en el envés de las hojas, los cuales son colocados desordenadamente en posición vertical. La ninfa pasa por cuatro estadios, en los cuales se alimenta en el envés de las hojas.

El daño directo lo ocasionan las ninfas y los adultos al succionar la savia de las plantas, lo que ocasiona el amarillamiento, moteado y encrespamiento de las hojas, seguido de necrosis y defoliación; otro daño es la excreción de mielecilla sobre las hojas en la cual se desarrolla una fungosis negra llamada fumagina, la cual interfiere con la fotosíntesis y baja la calidad de la cosecha. Sin embargo, el daño mayor de esta plaga está relacionado con la transmisión de enfermedades de tipo viral, las cuales afectan el rendimiento y calidad de las cosechas, con daños que varían de 20 a 100% (Alatorre, 2000).

### **Barrenillo del chile (*Anthonomus eugenii*)**

La hembra deposita sus huevecillos en forma individual en orificios que realiza en los botones florales y frutos inmaduros, los cuales requieren de tres a cinco días para su eclosión.

El daño primario es causado por las larvas en botones florales y frutos inmaduros; los primeros síntomas de un fruto infestado son pedúnculos amarillos y cenizos, los cuales llegan a marchitarse en el punto de unión con la planta, lo que ocasiona la caída de la fruta. Los frutos infestados se tornan rojos o amarillos prematuramente y pueden quedar deformes y pequeños antes de caer al suelo. Los adultos también ocasionan un daño al picar los botones y frutos inmaduros para su alimentación (Agro, 2009).

### **Minador de la hoja (*Liriomyza spp*)**

Las mosquitas insertan sus huevecillos en las hojas tan pronto como se efectúe el trasplante; las larvitas al nacer minan las hojas formando galerías sinuosas, al final de las cuales salen y se transforman en pupa en la base del tallo.

El daño principal es ocasionado por las larvas, que forman minas y galerías al alimentarse y desarrollarse dentro de la hoja. En infestaciones fuertes, la planta toma



una coloración blanquizca y detiene su desarrollo normal, las infestaciones severas pueden ocasionar la defoliación de la planta con la consecuente reducción en el rendimiento y el tamaño de los frutos y finalmente quemaduras de la fruta por el sol. Los adultos también pueden causar daño al ovipositar y alimentarse, lo que se manifiesta en diminutas picaduras sobre la superficie de la hoja, que sirven de entrada a bacterias y hongos (Alatorre, 2000).

### **Pulgón verde (*Myzus persicae*)**

El ciclo biológico comprende cuatro instares ninfales y el estado adulto, el cual puede ser alado o aptero; este se completa en aproximadamente 10 días en climas cálidos. Las ninfas y los adultos se alimentan en grandes colonias sobre el envés de las hojas. El daño es ocasionado por todos los estadios, al succionar la savia de las hojas y brotes, al alimentarse inyectan una saliva toxica que distorsiona las hojas, el daño causa reducción de vigor de la planta, achaparramiento, marchitez, amarillamiento, encrespamiento y caída de las hojas, así como fumagina que crece en la mielecilla que excretan la cual ennegrece las hojas y se reduce la fotosíntesis. Sin embargo, el daño mayor es como vector de enfermedades de tipo viral (Agro, 2009).

### **Araña roja (*Tetranychus urticae*)**

El ciclo completo de la araña roja comprende cinco estados de desarrollo: huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto. La reproducción es sexual, sin embargo, puede darse partenogénesis de tipo telitóquico, es decir, los huevos no fecundados dan lugar a hembras. La araña roja coloniza sobre todo las hojas jóvenes, aunque en caso de ataques graves se encuentra distribuida sobre las hojas de toda la planta, donde teje capas de seda, creando un microclima que la protege de la deshidratación y de los ataques de sus depredadores.

Los daños son ocasionados por las picaduras de los adultos, larvas y ninfas al alimentarse. Al clavar los estiletes absorben los jugos celulares y vacían las células de su contenido, el tejido afectado toma una coloración amarillenta, que se torna marrón con el paso del tiempo (INIFAP, 2003).

### **Gusano soldado (*Spodoptera exigua*)**

La hembra deposita los huevecillos en grupos cubriéndolos con escamas de su cuerpo, lo que limita la acción de los parasitoides. El primer instar se alimenta en grupos por debajo de una telaraña de seda en el envés de las hojas que quedan esqueletonizadas; el siguiente hace perforaciones irregulares en el follaje y hasta el tercer o cuarto se alimentan de los frutos. La larva pasa por 5 o 6 instares, para después dirigirse al suelo donde se convierte en pupa, de la cual emergen los adultos para completar el ciclo, en aproximadamente 30 días.

El daño en el fruto consiste de mordiscos superficiales que se secan al madurar, en ocasiones las larvas recién emergidas penetran el fruto y ocasionan una lesión similar a la causada por el gusano del fruto (INIFAP, 2003).

## CAPITULO III. METODOLOGÍA

### 3.1 Descripción del área de estudio

El presente trabajo se llevó a cabo en el invernadero (nave uno) ubicado dentro del Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra (ITES). El área de estudio se localiza ( $20^{\circ} 12' 54''$  N,  $100^{\circ} 52' 41''$  O) en la comunidad de Janicho, Salvatierra, Guanajuato, México. El sitio cuenta con un clima templado y húmedo durante todo el año, con invierno fresco extremo y templado, con lluvias. Los meses más cálidos son junio, julio y agosto con temperaturas máximas de  $37^{\circ}\text{C}$ . La precipitación anual es de 730 mm, principalmente en verano. La temperatura media anual es de  $18.1^{\circ}\text{C}$ , con oscilación de  $10.4^{\circ}\text{C}$  (INEG, 2021).



Figura 5. Ubicación del área de estudio (Google Maps, 2023).

### 3.2 Establecimiento del experimento

La preparación de la nave se realizó con antelación a los trasplantes y siembra realizada. Es decir, se establecieron dos ciclos de cultivo con dos trasplantes, el primero en octubre del 2022 y el segundo en marzo del 2023. Así como una siembra

directa en surcos en mayo del 2023. Esto ´para poder tener material vegetal e infectarlo con los hongos estudiados en este proyecto.

### **3.2.1 Desinfección de la estructura**

Previamente se comenzó con una limpieza del invernadero (nave 1), la cual consistió el deshierbe y la eliminación de residuos vegetales del cultivo anterior. La desinfección de la nave se realizó posteriormente, la cual consistió en desinfectar cada una de las paredes y estructuras de la nave con una solución a base de agua, jabón y cloro. Su aplicación se llevó a cabo con la ayuda de la aspersora y cepillos para limpieza, obteniendo una desinfección exitosa.

### **3.2.2 Desinfección del suelo**

La desinfección del suelo se realizó con Metalaxil 25g/bomba de 20 L aplicado en drench y posteriormente a los diez días se aplicó una concentración de *Trichodermas spp* a una concentración de  $10^9$  conidias por mL-1.

### **3.2.3 Establecimiento del sistema de riego**

Se establecido un sistema de riego por goteo con un gasto de 1.2 L/h y goteros a 25 cm.

## **3.3 Establecimiento de material vegetal a utilizar**

### **3.3.1 Germinación de semillas**

Se sembraron ocho charolas de 200 cavidades con chile Camino Real F1, las cuales se mantuvieron en el invernadero durante 30 días para su posterior trasplante El manejo nutritivo se realizó de acuerdo a los requerimientos de macro y micronutrientes demandados para el cultivo de chile y se utilizó la solución nutritiva de Steiner (1984).

### **3.3.2 Trasplante, variedad densidad de siembra**

El trasplante se realizó en dos fechas la primera el 15 de octubre de 2022, estableciéndose chile en la nave con una densidad de población de 30 plantas por hectárea y una distancia de 35 cm entre planta y planta.

El segundo trasplante se realizó el 30 de marzo del 2023. Estableciéndose chile en invernadero con la misma densidad de siembra.

### **3.3 Recolección del inóculo de los fitopatógenos**

Se realizó una recolección de hojas enfermas con los hongos fitopatógenos de interés (*Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *Leveillula taurica* y *Cladosporium fulvum*) en el invernadero del Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra en las naves 2 y 3, las cuales contenían tomate, chile y calabaza. Las muestras se etiquetaron y fueron almacenadas en el laboratorio de microbiología (ubicado en la institución). También, el CESAVEG nos proporcionó cepas identificadas de *Cladosporium fulvum* y *Alternaria solani* que sirvieron de referencia para poder identificar y confirmar los hongos colectados y posteriormente los re-aislados de macetas.

#### **3.3.1 Preparación de medio de cultivo**

Se preparó como medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) agregando 100 mg de estreptomicina/L para el control de bacterias y PDA V8 (Se agregaron 200 ml de jugo V8 + 800 ml de agua destilada), más 100 mg de estreptomicina.

#### **3.3.2 Aislamiento de los hongos a partir de hojas enfermas**

Las plantas colectadas fueron desinfectadas con alcohol al 70% y enjuagadas por triplicado con agua destilada estéril. Se tomó un área de 1 cm de la hoja enferma y se colocó en cajas Petri con PDA. Se dejaron incubar durante cinco días (Huerta-Espino *et al.*, 2006).

#### **3.3.3 Crecimiento de los hongos en medio de cultivo puros para la captura de imágenes in vitro**

Con una aguja de disección se tomó una muestra del micelio de la caja (a los cinco días después de la siembra), la cual se transfirió a una nueva caja con medio PDA para su purificación, es decir el crecimiento único del hongo patógeno de la muestra. El crecimiento en *Alternaria solani* y *Cladosporium fulvum* fue lento, pero todos con éxito. Los demás cultivos también se realizaron de forma aséptica, aunque

*Phytophthora* y *Leveillula* presentaron problemas de esporulación. Por lo que se dejaron durante 10 días en incubación a una temperatura de 25 °C ±1 °C.

### **3.3.4 Identificación morfológica de las estructuras de los hongos usados en esta investigación**

Para la identificación de los hongos usados en esta investigación se crecieron en medio de cultivo PDA durante siete días. Se observó el crecimiento del hongo por el anverso y reverso de la caja Petri, el color de las colonias, la forma. También, se observaron las estructuras en el microscopio y se determinaron con base a las características descritas en las claves de Barnett y Hunter (1998) y los aislados de *Alternaria* y *Cladosporium* fueron confirmados con las estructuras microscópicas de los aislados del CESAVERG.

### **3.4 Preparación del inóculo para la aplicación en macetas**

Se realizó una preparación del inóculo tanto en agua destilada estéril como en aceite mineral para determinar la viabilidad de las conidias y evaluar diferentes métodos de inoculación de las plantas. Con base a los resultados obtenidos se utilizará cualquiera de las soluciones para la aplicación del inóculo en las plantas establecidas en macetas.

#### **3.4.1 Solución líquida**

Con la ayuda de un asa bacteriológica se raspó el micelio purificado de forma individual de cada hongo crecido en las cajas de PDA, depositando las esporas en un vaso de precipitado y agregando agua destilada para hacer un ajuste de  $1 \times 10^9$  conidias por  $\text{mL}^{-1}$ , esta concentración se propuso para asegurar el desarrollo de la infección ocasionada por el hongo sobre la planta (Martínez-Ruiz *et al.*, 2020).

#### **3.4.2 Solución en aceite**

Las esporas raspadas de las cajas Petri fueron colocadas en aceite mineral. Para ello se rasparon diez cajas de cada hongo y se mezclaron con 100 ml de aceite mineral agregando 10 gotas de Twin 20 como dispersante.

### **3.4.3 Conteo de inóculo en cámara Neubauer o hemocitómetro**

Se prepararon cajas con PDA para la siembra de los hongos utilizados los cuales fueron crecidos durante 7 días. Se esterilizó agua destilada (100 ml) en matraces Erlenmeyer y se agregaron 10 gotas de Tween 20. A cada caja se le agregaron 2 ml de agua y se procedió a raspa el micelio con una varilla de vidrio. Las esporas colectadas se depositaron en los matraces con agua estéril. Estos se agitaron y fueron filtradas en papel filtro Whatman. Enseguida se tomó una alícuota de 100 µl, parte de ella fue depositada en la cámara Neubauer y se dejó reposar por dos minutos para que las conidias se sedimentaran. Enseguida se procedió al conteo en la cuadrícula que contiene 3 líneas como borde (16 cuadrados de la cuadrícula central). En cada cuadro se hizo el conteo y al final se sumó el número de conidias, multiplicando por 10,000 para sacar el número de conidias por ml.

### **3.5 Preparación de los espacios para establecer las macetas**

Las macetas se establecieron sobre tarimas de madera en diferentes ubicaciones tanto en el anexo de piedra como en el área de vinculación del ITESS, esto para evitar contaminaciones cruzadas de los hongos.

#### **3.5.1 Clasificación de las plantas de acuerdo a los estados fenológicos**

Se realizó una clasificación de las de acuerdo a la metodología propuesta por Hack, *et al* (1992). La escala extendida BBCH es un sistema para una codificación uniforme de identificación fenológica de estadios de crecimiento para todas las especies de plantas mono y dicotiledóneas. El código decimal, se divide principalmente entre los estadios de crecimiento principales y secundarios y está basado en el bien conocido código desarrollado por ZADOKS *et al.* (1974) con la intención de darle un mayor uso a las claves fenológicas.

El ciclo de desarrollo de plantas mono y dicotiledóneas dividido en estadios de desarrollo principales y secundarios y en estadios de desarrollo principales, mesoestadios y secundarios. Los mesoestadios están insertados entre los estadios

principales y secundarios (Anexo 1.), los cuales se pueden ver en esquemas modificados de Witzemberger (HACK *et al.*, 1992).

### **3.5.2 Clasificación de las lesiones de acuerdo a la incidencia de la enfermedad**

También se utilizó otra escala de incidencia de la enfermedad. Como referencia se utilizó la metodología propuesta por Guzmán-Plazona *et al.* (2011), la cual consiste evaluar la enfermedad con base en las siguientes variables:

- 1) Incidencia, calculada como el porcentaje de hojas enfermas respecto al total de hojas por planta;
- 2) Número de lesiones por planta;
- 3) Severidad en cada hoja de la planta, calculada como el porcentaje de área foliar dañada;
- 4) severidad total en la planta, evaluada mediante la suma de la severidad observada por hoja y dividida entre el total de hojas producidas por la planta en cada fecha de evaluación.

Se registraron la incidencia y severidad de hojas enfermas en las plantas inoculadas.

### **3.6 Inoculación de las plantas**

La inoculación de las plantas se realizó de diferentes maneras, la primera asperjando directamente sobre el follaje la concentración de esporas de  $1 \times 10^9$  conidias por  $\text{mL}^{-1}$  en agua destilada estéril. Para la suspensión rociada se depositaron 100 ml del inóculo en cada botella con aspersores para inocular las plantas. Se tomaron cinco macetas de chile por hongo cuya fenología se encontró en la etapa de crecimiento y desarrollo (esto por ser mayormente susceptibles al ataque de las enfermedades), las cuales fueron rociadas directamente sobre el follaje.

El segundo método de inoculación se realizó frotando directamente con un hisopo estéril esporas de caja Petri para que se pegaran las conidias en él y frotándolo en las hojas de las plantas.



La tercera inoculación se realizó frotando directamente hojas enfermas sobre las hojas sanas de las macetas.

La cuarta inoculación se realizó con la ayuda de una hipodérmica, inyectando en las hojas el hongo (esto solo se hizo para *Phytophthora infestans*) y finalmente se realizó una quinta inoculación, para ello se licuaron plantas enfermas y se asperjaron sobre las macetas (solo este hongo, debido a que las plantas no podían ser infectadas).

### 3.7 Manejo agronómico de las plantas

Las plantas tendrán que ser manejadas de acuerdo a los requerimientos de riego, nutrición, plagas, sobre todo de vectores de virosis que puedan afectar o interferir con el proceso de infección del hongo o alguna enfermedad no prevista. Posteriormente al establecimiento en las macetas se hizo uso de *Fus-Out* Inoculante de *Trichoderma harzianum* cepa DM1 en una razón de 200 ml en dos litros de agua; igualmente se utilizó *Bacillus subtilis* utilizando la razón anterior de igual manera. Se aplicó 100 ml por planta.

#### 3.7.1 Aplicación de nutrición a charolas y plantas de chile serrano

El manejo nutrimental del chile se realizó de acuerdo a los requerimientos de macro y micronutrientes demandados por el cultivo y se utilizó la solución nutritiva de Steiner (1984). En la siguiente tabla se muestran los mg/L de macro y micronutrientes requeridos para el desarrollo óptimo de las plantas de chile serrano.

Tabla 4. Requerimientos nutrimentales para chile serrano.

Nutriente	Mg/L
N	168
P	31
K	273
Ca	180
Mg	48
S	336
Fe	24
Cu	0.02

Zn	0.11
Mn	0.62
B	0.44
Mo	-

Fuente: (Steiner, 1984).

### 3.8 Variables evaluadas

Para poder determinar una mejor respuesta ante el algoritmo de la red neuronal, las plantas fueron clasificadas según su estadio, con la finalidad de poder determinar el grado de infección dependiendo el desarrollo vegetativo de las plantas (se determinó la altura de las plantas, variable requerida para la clasificación fenológica) y también, se registraron la incidencia y severidad de hojas enfermas (anteriormente descritas).

### 3.9 Identificación de las lesiones en las hojas para cada hongo inoculado

Se monitoreo el desarrollo de la infección para cada uno de los hongos, los cuales iniciaron con capturas de imágenes desde que iniciaba la lesión hasta que aparecían los signos finales. En los siguientes apartados se describe el desarrollo de los síntomas por género inoculado.

La aparición de decoloraciones cloróticas localizadas en las hojas, pueden ser muy similares al inicio de la infección y se podrían confundir con *Leveillula taurica*, *Alternaria solani* o *Phytophthora infestans*.



Figura 6. Lesiones cloróticas sobre hojas (Fuente propia).

1. Para el caso de cenicilla *Leveillula taurica* aparecen manchas amarillas que después se tornan blanquecinas, la lesión se observa tanto por el as como por

el envés. Las temperaturas altas y clima seco favorecen el desarrollo de la enfermedad (Longone *et al.*, 2020).



Figura 7. Lesiones de cenicilla en chile (Fuente: propia).

2. *Cladosporium fulvum* solo se ha descrito enfermado solo a tomate, sin embargo, se inoculó en Chile para observar si existía algún síntoma que incluyera mosaicos cloróticos o cualquier otro síntoma que no estuviese descrito. Las lesiones de este hongo en tomate se tornan cloróticas por el haz y en ocasiones se ve como vellos o pelos marrón por el envés de la hoja como se aprecia en la figura 8.



Figura 8. Síntomas por el haz y el envés de las hojas en tomate (*Solanum lycopersicum*) Fuente: (Universidad de Minesota, 2023).

3. *Alternaria Solani* provoca la aparición de manchas pequeñas de color verde a marrón oscuro en las hojas. Estas manchas se transforman en lesiones angulares marrón oscuro con una aureola amarilla y limitadas por las venas de la hoja. Las lesiones se rompen con facilidad (Peña, 2021).



Figura 9. Lesiones de *Alternaria solani*.

4. *Phytophthora infestans*. Las lesiones, cuando son en las hojas, aparecen manchas de forma irregular, que aumentan de tamaño rápidamente tornándose en color café, estas manchas cubren grandes áreas de la hoja, posteriormente se forma un moho blanquecino alrededor de la lesión de color café (Diakaki, M, 2018).



Figura 10. Lesiones de *Phytophthora infestans* (Fuente: propia).

### **3.10 Creación de una base de datos con las imágenes clasificadas**

El banco de imágenes se almacena en una carpeta electrónica, la cual se subdividió en categorías de acuerdo a la clasificación fenológica y por número de planta. En la primera etapa se creará la base de datos en el programa “Labeling” para el etiquetado de las hojas enfermas.

En la segunda etapa se aplicará un pre-procesamiento a las imágenes que consiste en localizar la zona correspondiente al fondo de la imagen y asignarle el color negro resaltando las hojas en cada muestra.

En la tercera etapa, se elaborará el diseño del sistema y de las interfaces gráficas de los sistemas web y móvil. Además, se hace la mención de las tecnologías, técnicas empleadas y anotaciones correspondientes.

### **3.11 Captura de imágenes**

La captura de las imágenes para que puedan ser útiles en un sistema de clasificación de imágenes, debe cumplir con algunas características:

**iluminación.** Debe haber la cantidad de luz necesaria para que se vean los colores, las formas y las texturas.

**Reflejo de luz.** Se debe tener cuidado que no salgan tomas con saturación de luz. Esto hace que se produzcan imágenes con una apariencia de blanco. Es importante direccionar la luz para que este fenómeno no ocurra.

**El enfoque y zoom.** Las imágenes deben estar enfocadas por lo que el zoom juega un papel importante, este se debe ajustar para que las imágenes sean nítidas.

Para lograr obtener una buena toma se implementó un pequeño sistema de captura de imágenes compuesto de una lámpara ajustable en posición y orientación, una raspberry con sistema operativo raspbian y una cámara tilt-pan-zoom. El sistema de captura se muestra en la figura 11.



Figura 11. Sistema de captura de imágenes. (Fuente propia).

Este sistema nos permitió ajustar la luz y el enfoque de la cámara de forma que se pudiese obtener tomas con diferente información. Para esto se ajustó la posición-orientación de la lámpara y el zoom-pan-tilt de la cámara, dependiendo del tipo objeto que se fotografió.

### **3.11.1 Etiquetado de lesiones aparentes en hojas de chile**

Consistió en clasificar las lesiones aparentes en el follaje mediante las imágenes, utilizando el programa *Test tkinter canvas label*. El programa consiste en elegir cada imagen de la base de datos y a partir de la imagen seleccionada clasificar la hoja, para obtener la clasificación, se generó la sintomatología de cada hongo fitopatógeno, así posteriormente seleccionar y recortar la hoja sana y dañada, arrojando cada región y catalogarla a la clasificación que pertenece en la base de datos electrónica, creando dentro de ella un archivo de texto el cual contiene las características de la selección, la región y el etiquetado.

## 3.12 Configuración del sistema de cómputo para IA

### 3.12.1 Instalación de PyTorch

Para lograr entrenar el algoritmo se tuvo que instalar el software PyTorch se debe ir al link <https://pytorch.org> donde según la configuración que se tenga, se detecta automáticamente y ejecuta para su instalación. Como requisito es esencial que se tenga instalado anaconda, manejador de librerías y versiones de python. Al momento de escribir este documento, soporta CUDA 10.2 y CUDA 11.3 para tarjetas gráficas NVIDIA, así como ROCm 4.5.2 (beta) para tarjetas gráficas AMD.

PyTorch Build	Stable (1.11.0)	Preview (Nightly)	LTS (1.8.2)	
Your OS	Linux	Mac	Windows	
Package	Conda	Pip	LibTorch	Source
Language	Python	C++ / Java		
Compute Platform	CUDA 10.2	CUDA 11.3	ROCm 4.5.2 (beta)	CPU
Run this Command:	# MacOS Conda binaries are for x86_64 only, for M1 please use wheels conda install pytorch torchvision torchaudio -c pytorch			

Figura 12. Comando de instalación para OSX.

Si se ejecuta está comando aparecerá algo como esto, donde solicitará la actualización e instalación de las librerías necesarias:

```
The following NEW packages will be INSTALLED:
libuv
  pkgs/main/osx-64::libuv-1.40.0-haf1e3a3_0
ninja
  pkgs/main/osx-64::ninja-1.10.2-py38hf03e11_3
numpy-base
  pkgs/main/osx-64::numpy-base-1.21.2-py38he0bd621_0
pytorch
  pytorch/osx-64::pytorch-1.7.1-py3_8_0
torchaudio
  pytorch/osx-64::torchaudio-0.7.2-py38_0
torchvision
  pytorch/osx-64::torchvision-0.8.2-py38_cpu

The following packages will be UPDATED:
ca-certificates 2021.10.26-hecd8cb5_2 --> 2022.3.29-hecd8cb5_0
conda            4.11.0-py38hecd8cb5_0 --> 4.12.0-py38hecd8cb5_0
intel-openmp    2019.4-233 --> 2021.4.0-hecd8cb5_3538
libcxx          10.0.0-1 --> 12.0.0-h2f01273_0
mkl             2019.4-233 --> 2021.4.0-hecd8cb5_637
mkl-service    2.3.0-py38hf9e90c_0 --> 2.4.0-py38hf9e90c_0
mkl_fft        1.2.0-py38hc64f4ea_0 --> 1.3.1-py38h4b469b_0
mkl_random     1.1.1-py38h959d312_0 --> 1.2.2-py38hb2f4e1b_0
numexpr        2.7.1-py38hce01a72_0 --> 2.8.1-py38h2e5f0a9_0
numpy          1.19.2-py38h456fd55_0 --> 1.21.2-py38h4b4dc7a_0
openssl        1.1.1m-hca72f7f_0 --> 1.1.1n-hca72f7f_0
scipy          1.5.2-py38h2515648_0 --> 1.7.3-py38h8c7af03_0

Proceed ([y]/n)? y
Downloading and Extracting Packages
numpy-base-1.21.2  | 4.6 MB | ##### | 100%
mkl_random-1.2.2  | 273 KB | ##### | 100%
numpy-1.21.2      | 123 KB | ##### | 100%
torchvision-0.8.2 | 6.5 MB | ##### | 100%
libuv-1.40.0     | 334 KB | ##### | 100%
ninja-1.10.2     | 107 KB | ##### | 100%
mkl-service-2.4.0 | 45 KB  | ##### | 100%
numexpr-2.8.1    | 122 KB | ##### | 100%
```

Figura 13. Instalación de PyTorch.

### 3.12.2 Probar el entorno de trabajo

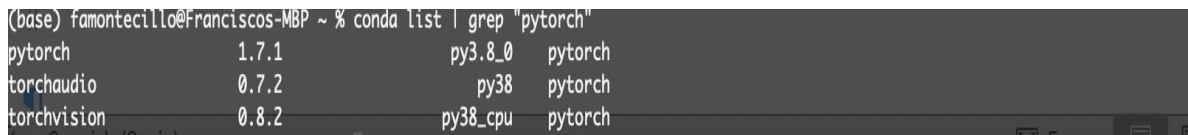
Para conocer si se instaló correctamente pytorch o si está instalado se utilizan los siguientes comandos para Linux y OSX:

```
conda list | grep "torch"
```

y para Windows el siguiente comando

```
conda list | findstr "torch"
```

Donde se obtiene lo siguiente en el caso de OSX



```
(base) famontecillo@Franciscos-MBP ~ % conda list | grep "pytorch"
pytorch          1.7.1          py3.8_0    pytorch
torchaudio       0.7.2          py38      pytorch
torchvision      0.8.2          py38_cpu  pytorch
```

Figura 14. Paquetes instalados de Pytorch usando conda.

Para verificar su funcionamiento y la versión instalada usando Python se utiliza el siguiente comando:

```
import torch
print(torch.__version__)
```

### 3.12.3 Modulo de aprendizaje con PyTorch

Se está utilizando la librería PyTorch para la implementación de los módulos de base de aprendizaje, en la Figura 15 se muestra la clase del perceptron en PyThon. Sin embargo, las redes neuronales convolucionales han sido e utilizadas exitosamente en la clasificación de imágenes, por lo que este momento se está implementando este tipo de redes.



```

6
7 import numpy as np
8 class Perceptron:
9
10     def __init__(self, eta=0.01, n_iter=50, random_state=1):
11         self.eta = eta
12         self.n_iter = n_iter
13         self.random_state = random_state
14
15     def fit(self, X, y):
16
17         rgen = np.random.RandomState(self.random_state)
18         self.w_ = rgen.normal(loc=0.0, scale=0.01,
19                               size=X.shape[1])
20         self.b_ = np.float_(0.)
21         self.errors_ = []
22
23         for _ in range(self.n_iter):
24             errors = 0
25             for xi, target in zip(X, y):
26                 update = self.eta * (target - self.predict(xi))
27                 self.w_ += update * xi
28                 self.b_ += update
29                 errors += int(update != 0.0)
30             self.errors_.append(errors)
31         return self
32
33     def net_input(self, X):
34         """Calculate net input"""
35         return np.dot(X, self.w_) + self.b_
36
37     def predict(self, X):
38         """Return class label after unit step"""
39         return np.where(self.net_input(X) >= 0.0, 1, 0)
40

```

Figura 15. Fragmento de código.

### 3.12.4 Tarjeta gráfica con Tensor Cores

Deep Learning es la técnica más avanzada para clasificación de imágenes, en el 2012 el sistema AlexNet ganó el reto ImageNet Large Scale Visual Recognition Challenge alcanzando porcentajes de clasificación de humanos expertos, 93%. Para el diseño del clasificador AlexNet utilizó redes neuronales convolucionales (CNN) como modelo teórico y para su implementación empleó GPU's en la etapa de entrenamiento. Las CNN's en su modelo ocupan operaciones con "tensores", no existentes en las unidades GPU's pero que se pueden adaptar.

En el 2020 NVIDIA publicó la arquitectura GPU Ampere que implementa las operaciones con tensores en hardware denominados Tensor Cores. En el caso de AMD fue hasta este año 2022 que presentó su hardware llamada Matrix Cores Units para sus tarjetas RX 7000 sin embargo, no son operaciones Tensor. Dada la naturaleza del proyecto, el presupuesto asignado, la solicitud de compra de materiales y el compromiso de los entregables (diseño de un clasificador basado en Deep Learning

con procesadores IA, Tensor Cores) ante el TecNM, se considera la adquisición de la tarjeta GeForce RTX 3080Ti. El desarrollo de este proyecto es una de estas que abonan al indicador, sin embargo, demandan el uso de técnicas y hardware adecuados”.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Obtención de los aislados

Para la obtención de los aislados se presentaron algunos inconvenientes, esto debido a que los medios de cultivo utilizados para el crecimiento y la esporulación en un inicio, no fueron los adecuados, además se observaron diferencias entre las temperaturas que se evaluaron. *Alternaria Solani* y *Cladosporium fulvum* presentaron esporulación a los siete días después de la siembra, mientras que *Phytophthora infestans* y *Leveillula taurica* a los 10 días. En la tabla 5, se observa el crecimiento de los hongos incubados a diversas temperaturas que se probaron para propiciar la esporulación.

Tabla 5. Porcentaje del crecimiento de cuatro hongos fitopatógenos a diferentes temperaturas.

Tratamientos	Temperaturas ±1 °C	Porcentaje de llenado de cajas después de la inoculación (horas)									
		24	48	72	96	120	144	168	192	216	240
<i>Leveillula taurica</i> en PDA	40 °C	0	0	0	0	1	3	3	3	3	3
<i>Alternaria solani</i> en PDA	40 °C	0	0	0	0	1	3	3	3	3	3
<i>Cladosporium fulvum</i> en PDA	40 °C	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
<i>Phytophthora infestans</i> en PDA	40 °C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Leveillula taurica</i> en PDA	35 °C	0	0	0	1	3	10	20	20	20	20
<i>Alternaria solani</i> en PDA	35 °C	0	0	0	1	3	10	15	20	25	25
<i>Cladosporium fulvum</i> en PDA	35 °C	0	0	0	1	3	10	15	15	20	25
<i>Phytophthora infestans</i> en PDA	35 °C	0	0	0	1	3	10	10	10	10	10
<i>Leveillula taurica</i> en PDA	26 °C	0	0	1	5	10	25	40	60	85	100
<i>Alternaria solani</i> en PDA	26 °C	0	0	1	5	10	30	50	70	90	100
<i>Cladosporium fulvum</i> en PDA	26 °C	0	0	0	1	5	15	40	50	60	80
<i>Phytophthora infestans</i> en PDA	26 °C	0	0	0	1	5	15	20	30	30	30
<i>Leveillula taurica</i> en PDA	22 °C	0	0	1	5	10	30	60	85	100	100
<i>Alternaria solani</i> en PDA	22 °C	0	0	1	5	10	30	60	85	100	100
<i>Cladosporium fulvum</i> en PDA	22 °C	0	0	0	3	10	30	40	60	80	100

*Phytophthora infestans* en  
PDA + Jugo V8

22 °C

0

0

0

3

10

30

40

50

80

100

El crecimiento de *Alternaria solani* fue lento en temperaturas por encima de los 30 °C, observando que las temperaturas adecuadas para este género oscilan en un rango de 22-26 °C. Para *Cladosporium fulvum* las temperaturas también correspondieron al mismo rango que *Alternaria solani* y *Leveillula taurica*, mientras que para *Phytophthora infestans* requirió de temperaturas más bajas. Según Erwin & Ribeiro (1996), la temperatura mínima para el crecimiento de *Ph. infestans* es de 4°C; la óptima, de 20 °C y la máxima, de 26 °C. Según Sánchez (2018), los valores óptimos de temperatura varían para cada especie, pero la mayoría de ellos pueden crecer en un rango de 20 a 25 °C. Este es un factor determinante para el desarrollo y la reproducción.

En las figuras 16, 17, 18 y 19 se observa el desarrollo de los hongos crecidos en medio de cultivo PDA y PDA V8 a una temperatura de 26°C a los 7 días después de la siembra.

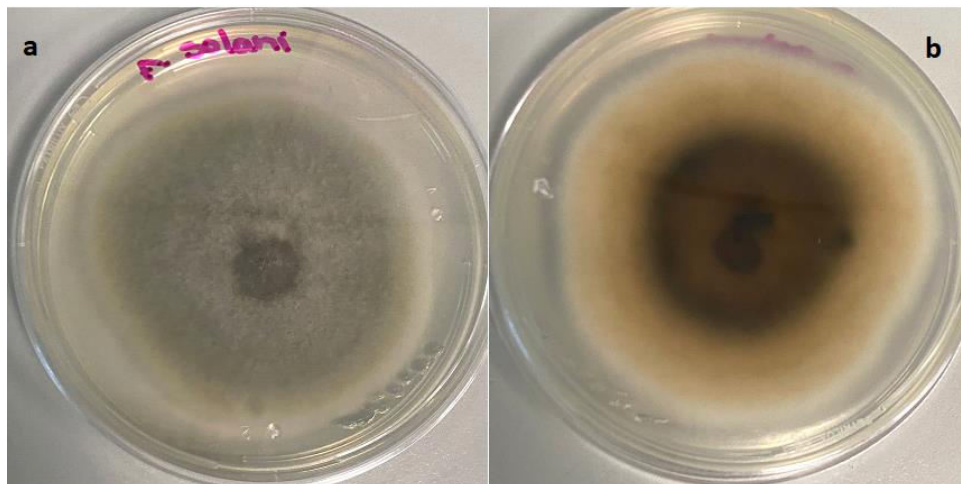


Figura 16. Reproducción de *Alternaria solani* a) Anverso y b) Revés (Imagen propia).

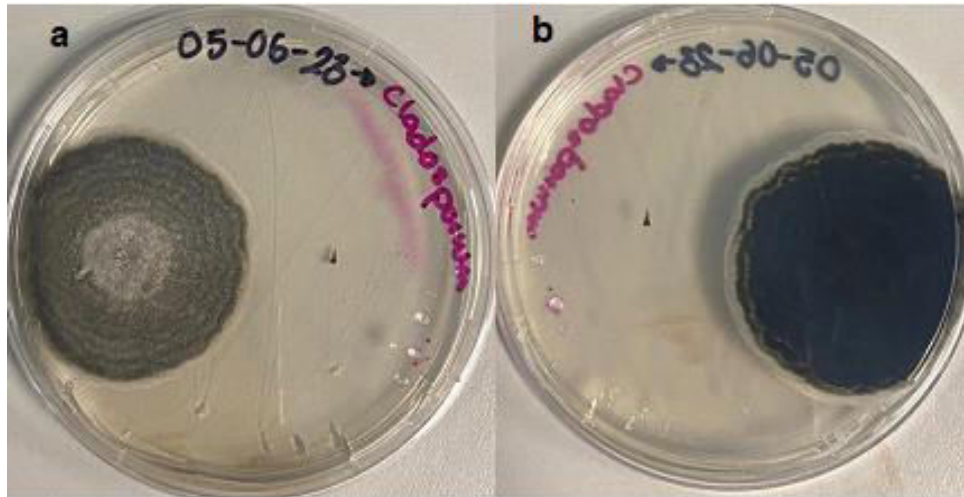


Figura 17. Reproducción de *Cladosporium fulvum* a) Anverso y b) Revés (Imagen propia).

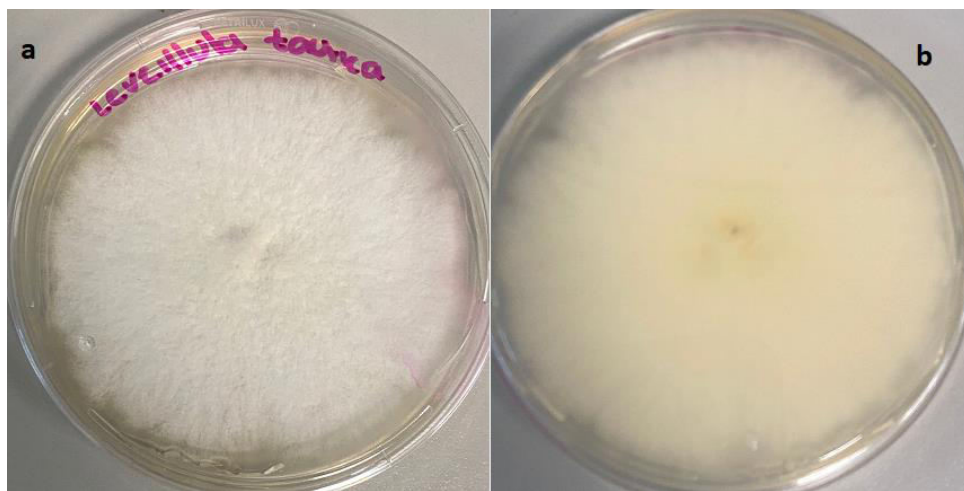


Figura 18. Reproducción de *Leveillula taurica* a) Anverso y b) Revés (imagen propia).



Figura 19. Reproducción de *Phytophthora infestans* a) Anverso y b) Revés.

#### 4.1.2 Confirmación de los hongos re-aislados

Los hongos fueron reaislados de las hojas enfermas chile que fueron inoculadas con *Alternaria solani*, *Cladosporium fulvum*, *Leveillula taurica*, *Phytophthora infestans*, para la confirmación de las estructuras. En las siguientes imágenes se muestran las estructuras microscópicas de los hongos obtenidos de las plantas inoculadas.



Figura 20. Estructura microscópica de *Alternaria solani* (Fuente: propia)

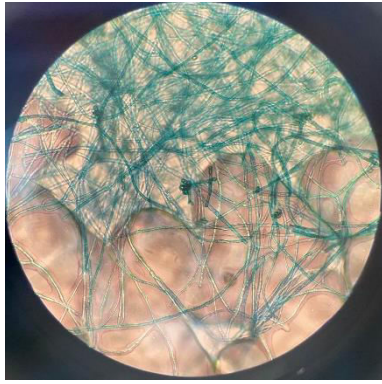


Figura 21. Estructura microscópica de *Cladosporium fulvum* (Fuente: propia)

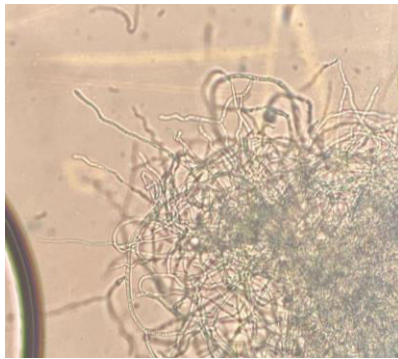


Figura 22. Estructura microscópica de *Leveillula taurica* (Fuente: propia)

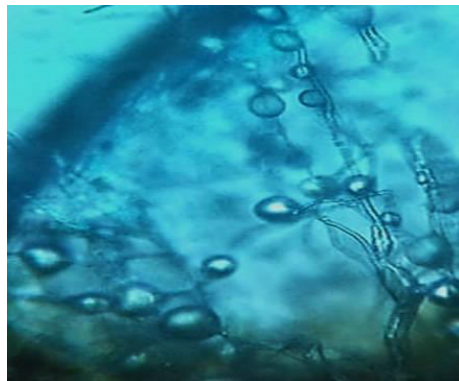


Figura 23. Estructura microscópica de *Phytophthora infestans* (Fuente: propia).



## 4.2 Captura de imágenes de hongos crecidos en PDA para el entrenamiento del algoritmo.

Los hongos se cultivan en cajas de Petri donde se coloca el hongo y este va creciendo durante algunos días. Una de las actividades marcadas en el proyecto es capturar imágenes del crecimiento de los hongos. Para lograr realizar una buena captura de imagen se debe ajustar la configuración luz-pan-tilt-zoom. Para esto se tomaron como referencia cuatro hongos ya crecidos con anterioridad y se realizaron diferentes tomas. En las secuencias de fotos que presentadas los hongos están colocados en el mismo orden y bajo las mismas condiciones descritas. En la figura 24, se muestran las imágenes capturadas con luz natural, a una distancia fija y con autoenfoco. Se puede observar la imagen primera de izquierda a derecha está saturada en luz, la segunda y cuarta están borrosas (la caja está un poco desgastada) y en la tercera se aprecian colores y texturas.



Figura 24. Tomas iniciales de referencia de las cajas Petri con hongos crecidos *Leveillula taurica*, *Phytophthora sp*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaria solani*.

Para determinar la mejor forma de tomar imágenes se consideraron diferentes configuraciones. En la figura 24, las imágenes se capturaron con la lámpara cercana a una distancia de 80 centímetros, se puede observar las diferencias con las imágenes de referencia figura 25, se aprecian mejor los colores y las texturas.





Figura 25. Imágenes con la lámpara cercana (*Leveillula taurica*, *Phytophthora sp*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaria solani*).

En la figura 26 ahora se presentan imágenes con la lámpara alejada 2.5 metros, en este caso a diferencia de las de referencia, los bordes de las cajas presentan saturación de luz (zonas que se ven blancas). Este puede ser no un problema ya que por procesamiento de la imagen se puede recortar estas áreas y dejar solo el contenido de la caja.



Figura 26. Imágenes con lámpara alejada (*Leveillula taurica*, *Phytophthora sp*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaria solani*).

Ahora se utilizó una caja tapada para concentrar la luz y con la lámpara cercana (80 cm de la caja Petri), en la figura 27 se presentan las imágenes. En esta configuración se pierden los colores e igualmente se presenta saturación en los bordes de las cajas. Los algoritmos de aprendizaje ocupan que se tenga información variada y en el caso de estas imágenes tomadas en diferentes las condiciones nos la proporcionan.

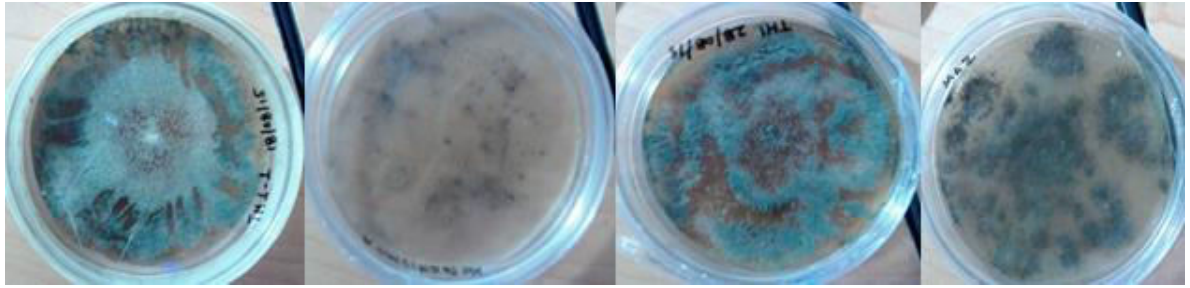


Figura 27. Imágenes de hongos con lámpara cercana y con caja tapada (*Leveillula taurica*, *Phytophthora sp*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaría solani*).

De las condiciones de la secuencia anterior lo único que se cambió ahora, fue alejar la fuente de luz, las imágenes que se obtienen se muestran en la figura 28. Si las comparamos visualmente con las primeras tomas estas parecieran ser muy diferentes la vista.



Figura 28. Imágenes de hongos con lámpara alejada y con caja tapada (*Leveillula taurica*, *Phytophthora sp*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaría solani*).

En las dos secuencias de los hongos, se procedió a colocarlos dentro de una caja, pero sin tapa y con la lámpara cercana y alejada, respectivamente la figura 29 y figura 30.



Figura 29. Secuencia tomada en una caja y con lámpara cercana (*Leveillula taurica*, *Phytophthora sp*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaría solani*).



Figura 30. Secuencia tomada en una caja y con lámpara alejada (*Leveillula taurica*, *Phytophthora sp*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaria solani*).

### 4.3 Evaluación de diferentes métodos de inoculación

Se evaluaron diferentes métodos de inoculación de las plantas para determinar cuál sería el indicado en relación del método y las horas posteriores a la inoculación. Los resultados se muestran en la tabla 6 donde el signo (+) indica el desarrollo de síntomas en la planta.

Tabla 6. Comparación de diferentes métodos de inoculación de hongos fitopatógenos en macetas de chile serrano.

Tratamientos	Porcentaje Inoculación de plantas +/-									
	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240
Aspersión de <i>Leveillula taurica</i> en agua $1 \times 10^9$ en chile	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Aspersión de <i>Alternaria solani</i> $1 \times 10^9$ en chile	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Aspersión de <i>Cladosporium fulvum</i> $1 \times 10^9$ en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspersión de <i>Phytophthora infestans</i> $1 \times 10^9$ en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inoculación con frotado de hisopo directamente de caja de <i>Leveillula taurica</i> en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Inoculación con frotado de hisopo directamente de caja de <i>Alternaria solani</i> en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Inoculación con frotado de hisopo directamente de caja de <i>Cladosporium fulvum</i> en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Inoculación con frotado de hisopo directamente de caja de <i>Phytophthora infestans</i> en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Frotando hojas enfermas de <i>Leveillula taurica</i> sobre las hojas sanas de chile	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Frotando hojas enfermas de <i>Alternaria solani</i> sobre las hojas sanas de chile	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Frotando hojas enfermas de <i>Cladosporium fulvum</i> sobre las hojas sanas de chile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Frotando hojas enfermas de <i>Phytophthora infestans</i> sobre las hojas sanas de chile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inyección de esporas de <i>Leveillula taurica</i> 1X10 <sup>9</sup> en chile	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Inyección de esporas de <i>Alternaria solani</i> 1X10 <sup>9</sup> en chile	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Inyección de esporas de <i>Cladosporium fulvum</i> 1X10 <sup>9</sup> en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inyección de esporas de <i>Phytophthora infestans</i> 1X10 <sup>9</sup> en chile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Los tratamientos de inoculación para chile serrano no tuvieron tanto éxito. *Leveillula taurica* y *Alternaria solani* presentaron infección positiva a los 8 días posteriores a la inoculación por aspersión de conidias. Para los otros dos hongos no existió infección. Para el frotado de hisopo solo *L. taurica*, *C. fulvum* y *A. solani* presentaron infección a los 9 días a una concentración de 1X10<sup>9</sup>. En frotado de hojas en chile *L. taurica* y *A. solani*, mostraron signos de infección al 9 día. De forma similar estos mismos hongos presentaron infección en las plantas al octavo día cuando fueron inyectadas las esporas sobre las hojas. Cabe mencionar que las temperaturas del ambiente fueron de 34-37 °C.

#### 4.3.1 Clasificación de las plantas de acuerdo a escala BBCH

El crecimiento de las plantas se clasificó de acuerdo a lo reportado por Hack, *et al* (1992). En esta investigación se determinaron las etapas por estadio, arrojando los siguientes tratamientos para *Alternaria solani*, *Cladosporium fulvum*, *Leveillula Taurica* y *Phytophthora infestans*, dando un total de veinte plantas.

$$T = H + D + C$$

T1R2= *L. Taurica* + 109 + chile

T1R3= *L. Taurica* + 111 + chile

**T1R4= *L. Taurica* + 515 + chile**

**T1R5= *L. Taurica* + 613 + chile**

**T2R1= *A. solani* + 105 + chile**

**T2R2= *A. solani* + 109 + chile**

**T2R3= *A. solani* + 111+ chile**

**T2R4= *A. solani* + 515 + chile**

**T2R5= *A. solani* + 613 + chile**

**T3R1= *C. fulvum* + 105 + chile**

**T3R2= *C. fulvum* + 109 + chile**

**T3R3= *C. fulvum* + 111 + chile**

**T3R4= *C. fulvum* + 515 + chile**

**T3R5= *C. fulvum* + 613 + chile**

**T4R1= *P. infestans* + 105 + chile**

**T4R2= *P. infestans* + 109 + chile**

**T4R3= *P. infestans* + 111 + chile**

**T4R4= *P. infestans* + 515 + chile**

**T4R5= *P. infestans* + 613 + chile**

Donde:

T= tratamiento

R= repetición

H= hongo

D= clasificación fenología de la planta (estadio)

C= cultivo

#### **4.3.2 Inoculación del hongo entomopatógeno**

De acuerdo a las inoculaciones se depositaron 100 ml del inoculo en cada botella con aspersores para inocularlo en cada una de las plantas. Tomando cinco macetas de chile por hongo cuya fenología se clasificó de acuerdo a las etapas de crecimiento. Se obtuvieron cuatro plantas en el estadio 105, 109, 111, 515 y 613, de las cuales se dividieron en grupos de cuatro con cada uno de los estadios clasificados (tabla 7),

inoculando cinco plantas con cada uno de los estadios con los cuatro hongos fitopatógenos.

Donde:

A= *Alternaria solani*

C= *Cladosporium fulvum*

L= *Leveillula Taurica*

P= *Phytophthora infestans*

Tabla 7. Inoculación por estadio de plantas y agente fitopatógeno.

		ESTADIO				
Número de planta	Fecha de inoculación	105	109	111	515	613
<b>Planta 1A</b>	14-06-2023	x				
Planta 2A	14-06-2023		x			
Planta 3A	14-06-2023			x		
Planta 4A	14-06-2023				x	
Planta 5A	14-06-2023					x
<b>Planta 1C</b>	14-06-2023	x				
Planta 2C	14-06-2023		x			
Planta 3C	14-06-2023			x		
Planta 4C	14-06-2023				x	
Planta 5C	14-06-2023					x
<b>Planta 1L</b>	14-06-2023	x				
Planta 2L	14-06-2023		x			
Planta 3L	14-06-2023			x		
Planta 4L	14-06-2023				x	
Planta 5L	14-06-2023					x
<b>Planta 1P</b>	14-06-2023	x				
Planta 2P	14-06-2023		x			

Planta 3P	14-06-2023			x		
Planta 4P	14-06-2023				x	
Planta 5P	14-06-2023					x

#### 4.4 Captura de imágenes

##### 4.4.1 Montaje del sistema para la captura de imágenes

Se usó un perfil de aluminio de 1.5 pulgadas x 95 cm de largo esta como base para una cámara full HD de 1080 pixeles, esta estructura fue montada en una mesa 1m x 65cm, en la cual también se montó una lámpara para la iluminación. Para el almacenamiento se utilizó una computadora con un procesador Intel(R) Celeron(R) N4100 CPU @ 1.10GHz 1.10 GHz, memoria RAM de 8Gb y un sistema operativo Windows 10. Utilizando un lenguaje de programación Python para usar la interfaz de la toma de imágenes y el CMD (Símbolo del sistema) para la ejecución del código Python.

##### 4.4.2 Captura de imágenes

Las capturas duraron 25 días, las cuales fueron almacenadas en la base de datos del programa y posteriormente se clasificaron de acuerdo a las lesiones que presentaban. Fueron capturadas cinco fotografías de cada una de las plantas por hongo y estadio, obteniendo veinticinco fotografías por tratamiento, obteniéndose un total de cien fotos por día. En la tabla 8. Se muestran los resultados de la clasificación por estadios, número de plantas, fecha de inoculación y captura y número de la imagen.

Tabla 8. Ejemplo de registro de fotos almacenada en la base de datos.

N° de planta	Estadio fenológico	Especie inoculada	Fecha de inoculación	Fecha de imagen	N° de fotos
1A	105	<i>A. solani</i>	14-06-23	15-06-23	5
2A	109	<i>A. solani</i>	14-06-23	15-06-23	5
3A	201	<i>A. solani</i>	14-06-23	15-06-23	5
4A	515	<i>A. solani</i>	14-06-23	15-06-23	5



5A	613	<i>C. fulvum</i>	14-06-23	15-06-23	5
1C	105	<i>C. fulvum</i>	14-06-23	15-06-23	5
2C	109	<i>C. fulvum</i>	14-06-23	15-06-23	5
3C	201	<i>C. fulvum</i>	14-06-23	15-06-23	5
4C	515	<i>C. fulvum</i>	14-06-23	15-06-23	5
5C	613	<i>C. fulvum</i>	14-06-23	15-06-23	5
1L	105	<i>L. taurica</i>	14-06-23	15-06-23	5
2L	109	<i>L. taurica</i>	14-06-23	15-06-23	5
3L	201	<i>L. taurica</i>	14-06-23	15-06-23	5
4L	505	<i>L. taurica</i>	14-06-23	15-06-23	5
5L	613	<i>L. taurica</i>	14-06-23	15-06-23	5
1P	105	<i>P. infestans</i>	14-06-23	15-06-23	5
2P	109	<i>P. infestans</i>	14-06-23	15-06-23	5
3P	201	<i>P. infestans</i>	14-06-23	15-06-23	5
4P	515	<i>P. infestans</i>	14-06-23	15-06-23	5
5P	613	<i>P. infestans</i>	14-06-23	15-06-23	5

En esta sección se muestra la toma de secuencias de imágenes para plantas de chile serrano var. Camino Real F1. Esta variabilidad se puede capturar tomando diferentes ángulos de estas plantas y sobre diferentes días. En un ambiente no controlado se pueden tomar fotos como las que se muestran en la figura 31.



Figura 31. Muestra la planta1 sana, con diferentes estadios en ambiente no controlado.



En las secuencias de imágenes que se muestran en la figura 32, se le tomaron a la planta 1 en días distintos para observar el desarrollo de la enfermedad durante el transcurso del estado fenológico (105, 206, 206) y los días (15, 28 junio y 02 de julio-23) a partir de la inoculación de *Alternaria solani*.



Figura 32. Planta 1, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con *Alternaria solani*.

En las secuencias de imágenes que se muestran en la figura 33, se le tomaron a la planta 5 en días distintos para observar el desarrollo de la enfermedad durante el transcurso del estado fenológico (613, 619, 907) y los días (15, 21 y 26-de junio-23) a partir de la inoculación de *Cladosporium fulvum*.



Figura 33. Planta 5, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con *Cladosporium fulvum*.

En las secuencias de imágenes que se muestran en las figuras 34, se le tomaron a la planta 1 en días distintos para observar el desarrollo de la enfermedad durante el transcurso del estado fenológico (105, 202, 704) y los días (15, 21 y 08-de julio-23) a partir de la inoculación de *Leveillula taurica*.



Figura 34. Planta 2, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con *Leveillula taurica*.

En las secuencias de imágenes que se muestran en la figura 35, se le tomaron a la planta 5 en días distintos para observar el desarrollo de la enfermedad durante el transcurso del estado fenológico (613, 706, 707) y los días (15 julio, 02 y 10 de julio-23) a partir de la inoculación de *Phytophthora infestans*.



Figura 35. Planta 5, imágenes tomadas en 3 días distintos, después de la inoculación con *Phytophthora infestans*.

#### 4.4.3 Clasificación de las plantas de Chile en el software

Después de la secuencia de captura de imágenes se procede a clasificar las hojas enfermas a partir de la clasificación sintomatológica que presentaron las plantas a través del tiempo en base al hongo inoculado.

Los resultados de la clasificación etiquetado, almacenamiento y procesamiento se muestran en la figura 36 y 37, observándose el software en acción.

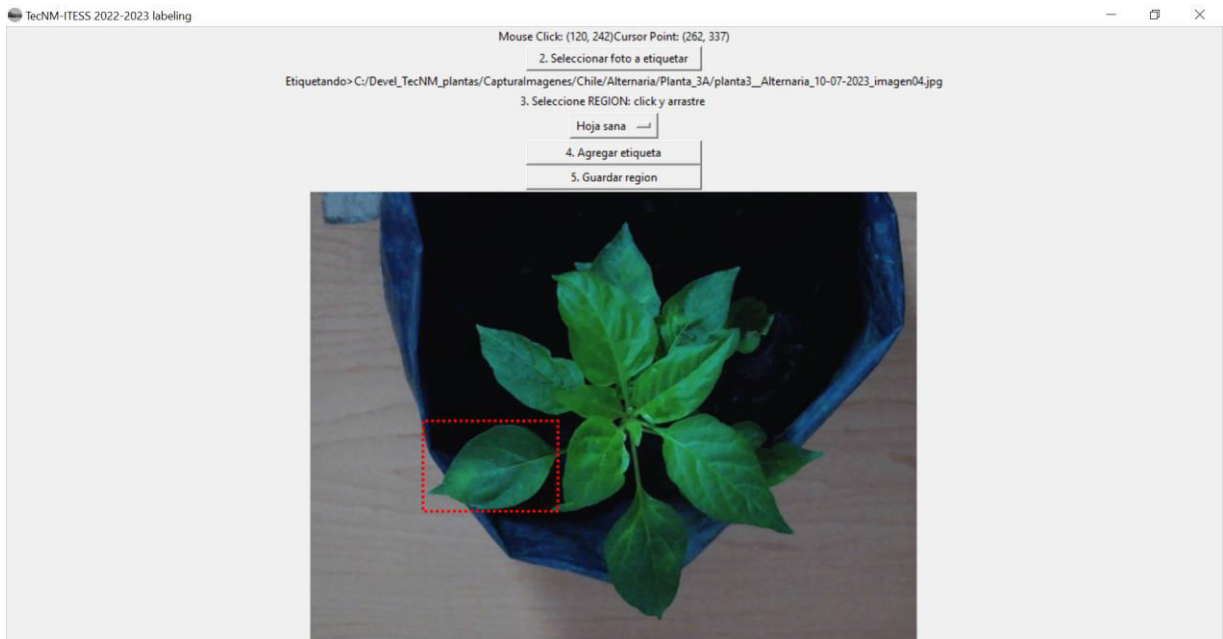


Figura 36. Programa Test tkinter canvas label para la clasificación.

```

planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04: Bloc de notas
Archivo Edición Formato Ver Ayuda
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Marchitez
region:168 22 296 132
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Marchitez
region:247 293 408 453
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Marchitez
region:105 364 215 447
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Marchitez
region:98 294 252 358
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Marchitez
region:67 113 172 228
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Fondo
region:35 224 97 269
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Fondo
region:87 269 146 303
filename:DBASE/Chile/Alternaria/Planta_1A/planta1_Alternaria_10-07-2023_imagen04.jpg
label:Fondo
region:274 251 339 300

```

Figura 37. Archivo de texto con las características de la selección de imagen.

Para la red neuronal profunda donde se tiene una capa de entrada, algunas capas ocultas y una capa de salida, se entrenó utilizando el algoritmo de retro propagación para clasificación de imágenes. Sin embargo, tiene, algunas dificultades en la detección correcta en los siguientes casos:

- Si la imagen de prueba de ha desplazado un poco,
- Si la imagen de prueba tiene al objeto rotado,
- Si la imagen de prueba tiene al objeto escalado,
- Si la imagen de prueba tiene diferentes tonalidades, diferentes condiciones de iluminación a como fue tomada la foto,
- Cualquier combinación de las anteriores.

Para solventar el problema anterior, las redes neuronales convolucionales CNN entran a juego donde se crean capas adicionales que sirven de filtros para considerar las dificultades con las que se encuentran las redes de aprendizaje profundo. Se debe considerar algunos conceptos como paso (stride), relleno (padding) y puesta en común (pooling) al momento de crear los diferentes filtros. El paso se refiere a cuanto se desplaza la operación de convolución, relleno se refiere a completar los datos de los bordes para que sean considerados y la puesta en común se refiere a reducir dimensión de los datos. Por lo que la red, se configuró en dos partes:

- 1) aprendizaje de extracción de características (filtros y puesta en común) y
- 2) clasificación de características.

Cuando se desea detectar múltiples objetos dentro de una imagen se utiliza R-CNN que es una Region-based Convolutional Neural Network. Region-based. Para entrenar el modelo de detección de regiones enfermas presentes en follaje, se obtuvo a partir de los siguientes pasos:

1. Definiendo los datos de referencia que contiene las etiquetas en una región rectangular y las clases a las que pertenecen las diferentes hojas y a sus grados de lesión. Para este caso se creó una base de datos previamente y su etiquetado se realizó manualmente, se cuenta con aproximadamente 2000 imágenes por planta y etiquetando 5 regiones en diferentes categorías de enfermedad. Teniendo por plante cerca de 10 000 regiones.

2. Integrar los mecanismos que escanean la imagen para identificar regiones propuestas que son muy probables a contener objetos. Una de estas técnicas se llama “selective search” que crea combinaciones de entrada-salida, donde la entrada y salida de la imagen son regiones rectangulares en una imagen dada y sus correspondientes clases. Por ejemplo, en una imagen se tiene una región definida y etiquetada, alrededor de esta localización se crean diferentes regiones etiquetadas según la referencia.
3. Crear las variantes de clases objetivo usando la métrica IoU, que corresponde al área de intersección entre las diferentes regiones propuestas generados en el punto. Esto tiene como objetivo considerar desplazamientos y escalamientos.
4. Crear la región rectangular variante desplazada para hacer corrección en la localización de la región propuesta del segundo paso.
5. Construir un modelo que predice la clase de objeto (grado de enfermedad en el follaje) junto con la región rectangular desplazada, donde se encuentra la región propuesta. El modelo consiste en que todas las regiones de interés tengan el mismo tamaño, usar la red VGG16 or ResNet50 y extraer las características del modelo completamente conectado.
6. Finalmente medir la exactitud de la detección de la región enferma usando la precisión promedio (mAP), esto se realiza calculando la relación entre el número de positivos y la suma de positivos y negativos.

#### **4.5 Discusión**

En esta investigación se logró obtener los aislados de *Leveillula taurica*, *Alternaria solani*, *Cladosporium fulvum* y *Phytophthora infestans* con éxito, con un crecimiento de acuerdo a diversas temperaturas y en medios de cultivo semisintéticos (PDA), la temperatura óptima para su crecimiento va de un rango de 22- 26°C a 72 horas después de la siembra.

Los hongos, al igual que otras formas vivientes, se pueden agrupar dependiendo de los intervalos de temperatura en que se desarrollan. La mayoría de los hongos son

mesófilos, es decir, pueden crecer entre 10 a 40 °C, con un intervalo de crecimiento óptimo entre 25 y 30 °C, por lo que pueden crecer en una gran variedad de ambientes naturales, así como en condiciones de laboratorio. Por el contrario, las especies psicrófilas no pueden crecer a temperaturas mayores de 20 °C, ya que su crecimiento óptimo es entre 0 y 15 °C Mata *et al.* (2012).

De acuerdo a los resultados obtenidos y a los datos analizados en investigaciones anteriores, para lograr el desarrollo y reproducción de las diferentes especies fitopatógenas, los medios de cultivo deben reunir características especiales, tomando en cuenta los factores de nutrientes, humedad, temperatura, pH, luz y asepsia. Según Sánchez (2018), los valores óptimos de temperatura varían para cada especie, pero la mayoría de ellas pueden crecer en un rango de 20 a 25 °C. Este es un factor determinante para el desarrollo y la reproducción.

Mientras que A. Wirth *et al.* (2019), concluyen que los hongos se desarrollan cuando la combinación de temperatura y humedad excede las curvas límite de crecimiento. Por lo tanto, para garantizar el crecimiento de hongos fitopatógenos, el contenido de humedad debe ser alto, alrededor del 94-96%, y la temperatura puede variar entre 10 y 40°C.

En los experimentos de la evaluación de los diferentes métodos de inoculación de *Leveillula taurica*, *Alternari solani*, *Cladosporium fulvum* y *Phytophthora infestans*, no se tuvo éxito con cada uno de ellos, ya que a través de hisopo a +/- 216 y 240 solo resulto ser efectivo para los tres primeros, mientras que para *Phytophthora infestans*, el método con efectividad es a través de otro tipo de inoculación, en la cual se licuaron hojas enfermas infectadas para realizar su aspersión, ya que ninguna de las inoculaciones anteriores funciono para este hongo fitopatógeno.

Para inducir el inoculo, es necesario tomar parte del patógeno, el inóculo pueden ser los fragmentos del micelio, las esporas o los esclerocios (masas compactas de micelio), para que este se haga presente y comience el desarrollo de los síntomas de

la enfermedad, mientras sea un método de inoculación eficiente, ya que los métodos de inoculación artificial permiten observar variabilidad en los periodos de incubación y de latencia, el proceso de colonización, el mecanismo de patogénesis, edad óptima de susceptibilidad al agente causante de la enfermedad y optimización de tiempo Agrios (2005).

Donde Garcia *et al.* (2018) en base a los métodos de inoculación utilizados indicó diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0,001$ ), en la incidencia de la enfermedad acumulada a 50 días después de la inoculación, reflejando un 100% de efectividad en los métodos de cribado en tubos de ensayo modificado y la incisión en el tallo, destacando que por el método de inyección fue relativamente baja del 30% de incidencia.

Los métodos de inoculación semejantes con Ortega-Centeno *et al.* (2010), fueron por suspensión, contacto y transferencia, sus resultados de evaluación de los diferentes métodos de inoculación de *U. transversalis* en condiciones de laboratorio, no se tuvo éxito en lograr la infección en los segmentos de hojas de gladiolo. Por lo cual, es importante considerar la especie fitopatógena ya que influye en los métodos de inoculación al igual que el tipo de cultivo.

Por lo que en este experimento funcionaron tres los cuatro métodos establecidos en relación hongo/cultivo, realizando una modificación del método de aspersion para *Phytophthora infestans*, de acuerdo a lo mencionado en el método.

Respecto a la clasificación en las investigaciones reportan que una correcta adquisición de las imágenes se adquiere mediante etapas para que el proceso de reconocimiento tenga éxito, para lo cual existen múltiples factores que deben considerarse en el diseño de una captura adecuada como la cámara, ordenador, software, así como la iluminación, fondo y la posición de la cámara. Por secuencia el preprocesamiento, la segmentación, representación y finalmente la etapa de

reconocimiento y descripción, son las etapas sugeridas para que el procesamiento de imágenes tenga éxito Martínez, (2021).

De acuerdo a la clasificación de imágenes obtenidas por medio del procesamiento del programa Test tkinter canvas label, en conjunto con Region-based Convolutional Neural Network R-CNN arrojó como resultado el reconocimiento con buena precisión e interpretación de la sintomatología presente en las hojas, sin necesidad de implementar colorimetría para su reconocimiento. Esto por medio de la secuencia de imágenes tomadas a partir del día de inoculación para obtener clasificación desde hojas sanas hasta hojas con la presencia del hongo.

En el trabajo de Galárraga (2017), la precisión de la clasificación tiene porcentajes altos y sin mucha diferencia entre los diferentes conjuntos de datos. Debido a la existencia de elementos extras y fondo en las imágenes, se aplicó la técnica del índice de exceso de rojos (ExGR), también se experimentó con la versión en escala de grises, para que las redes neuronales convulsionales aprendieran los patrones característicos correctos, para determinar las enfermedades de las plantas. Por lo cual, no existe ninguna ventaja en realizar un procesamiento de imágenes en escala de grises o binarias sobre el conjunto de datos, debido a que las CNN realizan una extracción de características propias.

Para el entrenamiento de la red neuronal profunda, se utilizó el algoritmo de retro propagación para clasificación de imágenes; las redes entran en juego a partir de CNN convolucionales, donde se crearon capas adicionales que sirven de filtros para considerar las dificultades con las que se encuentran las redes de aprendizaje profundo, para obtener una mejor detención se utiliza R-CNN la cual permite detectar múltiples objetos dentro de una imagen y así poder medir la exactitud de la detección de la región enferma usando la precisión promedio (mAP), esto se realiza calculando la relación entre el número de positivos y la suma de positivos y negativos.



Una red neuronal consta de miles o incluso millones de nodos de procesamiento simples que están densamente interconectados. La mayoría de las redes neuronales actuales están organizadas en capas de nodos, en las cuales los datos se mueven a través de ellas en una sola dirección. Un nodo individual puede estar conectado a varios nodos en la capa debajo de él, desde donde recibe datos, y a varios nodos en la capa superior, a los que envía datos (Lozada-Portilla, 2021). Es decir, aprende desde las capas inferiores e informa a las capas superiores, donde igual se aprende y se envía retroalimentación a la capa inferior en un proceso continuo hasta que se alcanza una condición de desempeño óptima, lo cual indica que se tiene alta confiabilidad en la predicción realizada de acuerdo a Espinoza, (2021).

De acuerdo a los resultados arrojados por Erazo, (2020), éste aplicó el algoritmo utilizando imágenes etiquetadas correctamente que luego serían utilizadas para entrenar la red neuronal, como imágenes de prueba, para así probar la red antes de ser entrenada y después de dicho entrenamiento, con el objetivo de comparar el desempeño con aprendizaje previo. Después del entrenamiento, se aplicó el algoritmo a 60 imágenes de prueba, para que la red neuronal decidiera clasificar a las imágenes con la etiqueta adecuada, de acuerdo con los pesos obtenidos en el entrenamiento. Se obtuvo que la en la totalidad de los casos la red neuronal consiguió identificar correctamente a las imágenes de acuerdo con su categoría. De acuerdo al trabajo realizado, fueron usadas más de 60 imágenes, lo que concuerda con Erazo (2020).

Mientras que en trabajo de Huerta-Mora (2020), su función del tiempo de procesamiento que le tomó a cada red neuronal convolucional de llevar a cabo el proceso de clasificación, MobileNetV2 mostró el mejor desempeño al tomarse el menor tiempo gracias a su menor cantidad de parámetros, lo que significa una mejor eficiencia ya que al igual que esta investigación se usó R-CNN, señalando que su desventaja en las medidas estadísticas no es significativa en comparación con los resultados de las otras convolucional neural networks, por lo que podría considerarse sacrificar una mayor disminución en la precisión a cambio de una mayor eficiencia de procesamiento.

## CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

No todos los hongos crecen en el mismo medio de cultivo y temperatura cada uno requiere de temperaturas ideales y medios de cultivos selectivos.

Las formas de inoculación de las plantas mostraron que a través de hisopo y la hipodérmica, las plantas pueden ser infectadas con una mayor efectividad.

La inoculación de chile mostro que solamente tres de los hongos pudieron ser infectados en las plantas *Leveillula taurica*, *Cladosporium fulvum* y *Alternaria solani*.

El reaislamiento de los hongos mostro la especie correcta para la inoculación en la planta.

Los diseños de software que se crearon durante esta investigación, son de gran utilidad para capturar, almacenar y clasificar las enfermedades fúngicas del follaje.

Se creó un dataset de plantas enfermas por regiones que puede ser utilizado para sistemas de detección de enfermedades. El protocolo de captura de imágenes y etiquetado se puede replicar para que esta base de datos crezca en la cantidad de plantas y hongos analizados. También, se diseñó una red R-CNN basada en aprendizaje profundo que con los datos que se obtuvieron se entrenó, llegando a un 85% de clasificación correcta.

Para mejorar el grado de clasificación se puede realizar ajustando los hiperparámetros de la red o generar más datos para entrenamiento. En ambos casos, la capacidad computacional requerida se incrementa. A manera de referencia el modelo de red R-CNN que se implementó utiliza el modelo de referencia Visual Geometry Group VGG que cuenta con 120 millones de parámetros a entrenar.

## **5.2 Recomendaciones**

Se observó que es preferible utilizar plantas dentro de un invernadero que plantas en maceta, ya que en un ambiente controlado (invernadero) las condiciones son óptimas y reales a las que se presentan en campo.

Para futuros análisis con esta técnica de Deep Learning se propone que se tomen las capturas directamente en invernadero.

## CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍAS

Agrios, G. N., 2005, fitopatología, 2da edición. México, Limusa, 952 p.

Agro 2000. (2009). Manejo de plagas en el cultivo del chile: énfasis en conservación de fauna benéfica. México.

Ángel-García Carolina., Robledo-Buriticá Jacobo & Castaño-Zapata Jairo. (2018). Comparación de métodos de inoculación de *fusarium solani f. Sp. Passiflorae* en plántulas de maracuyá (*passiflora edulis f. Flavicarpa*). Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica.

Alatorre, R. R. (2000). Auto diseminación, estrategia de aumento inoculativo de microorganismos entomopatógenos en la población de insectos plaga. In: S. E. Salazar y M. D. Salas (eds.) Control biológico 2000. Guanajuato, Gto. México, 68-80.

Barnett, H. L., and B. B. Hunter. (1998). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA. 218 p.

Barrales, J. C. (2010). Comparación en la respuesta fisiológica en plantas de chile bajo el efecto de tres temperaturas nocturnas. *Facultad de agronomía*, 7-11.

Bergamin Filho, A., Kimati, H., Amorin L. 1995. Manual de fitopatología: principios de conceptos. 3 ed. São Paulo: Ceres, v.1,. 919.

Braun U and Cook RTA. (2012). Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews). Utrecht, The Netherlands. 720.

Cabrera Bernal A. (2020). El patosistema *Solanum lycopersicum* - *Cladosporium fulvum* en las condiciones de cultivo protegido tropical en Cuba.

Calderón, A., Hurtado, H. (2019), Arquitectura basada en microservicios para aplicaciones web. TIA, 7(2), 55-61.

Chollet, F. (2021). *Deep learning with Python*. Simon and Schuster.

Córdova, Andrés Ramiro. (2003). El cultivo de chile serrano en la zona media de San Luis Potosi, 13-16.

CONABIO. (2022). Chile verde, Recuperado de: <https://www.gob.mx/aserca/articulos/chileverde?idiom=es#:~:text=S%C3%ADmbolo%20de%20identidad%20nacional.&text=noviembre%20de%202018-,S%C3%ADmbolo%20de%20identidad%20nacional.,su%20color%2C%20sabor%20y%20textura.>

Diakaki, M. (2018). Evaluación de productos bioestimulantes para el control de *Phytophthora capsici* en Pimiento, 1-3.

Encalada, M. C. (2021). Competitividad mundial de la producción de chile verde de México. *Revista de Economía*, 104-110.

Erazo Jorge D. (2020). Redes neuronales para la identificación de enfermedades en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) en Honduras. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras. 3-7.

Escalante, José Alberto S. (2011). Edad al trasplante y su efecto en el crecimiento y rendimiento del chile, 19-23.

Espinoza Sanjinez, J. J. (2021). Chatbot con Dialogflow y redes neuronales recurrentes para la mejora del proceso de comercialización de productos agrícolas para la Gerencia Regional de Agricultura.

- F. Jakjoud, A. Hatim, and A. Bouaaddi. (2019). Deep Learning application for plant diseases detection. In Proceedings of the 4th International Conference on Big Data and Internet of Things (BDIoT'19). Association for Computing Machinery, New York, NY, USA, Article 45, 1–6.
- Galárraga, José Luis (2017). Region-based Convolutional Neural Network. Universidad Politécnica De Madrid (POLITÉCNICA). 46-50.
- Geetharamani G., Arun Pandian J., (2019). Identification of plant leaf diseases using a nine-layer deep convolutional neural network, Computers & Electrical Engineering, Volume 76, 323-338.
- Granados Montero M. (2018). Identificación morfológica de hongos fitopatógenos. Fitopatógenos-Universidad de Costa Rica, 4-9.
- Guaña-Moya, J., Salgado-Reyes, N., & Escobar-Terán, C. (2022). La informática y la ciencia de datos utilizando Deep Learning. Revista Ibérica de Sistemas e Tecnologías de Información.
- Guigón. L. C. (2001). Estudio Regional de las Enfermedades del Chile (*Capsicum annum*, L.) y su Comportamiento Temporal en el Sur de Chihuahua, México. Revista Mexicana de fitopatología, 4-9.
- Hack, H., Agusti, M., Zaragoza, S., Bleiholder, H., Buhr, L., Klose, R., & Staub, R. (1995). Escala BBCH para la descripción de los estadios fenológicos del desarrollo de los agrinos (Gén. Citrus). Levante Agrícola, (332), 189-199.
- Heckathorn, D. y. (2006). The interactive effects of light and temperature on heat-shock protein accumulation in *solidago altissima* (asteraceae) in the field and laboratory. *Amer Jour Bot*, 102-109.

Hernández, E. A. (2015). El chile como alimento. Ciencia, pp. 16-22.

Huerta-Espino J., O. Constantinescu, C. Velásquez, S.A. Herrera-Foessel, P. Figueroa-López, 2006. First report of *Ramularia cercosporelloides* on *Carthamus tinctorius* in Northwestern Mexico. Plant Disease 90: 1552.

Huerta-Mora Eduardo, A. (2020). Detección de enfermedades foliares con arquitecturas de redes neuronales convolucionales. Revista Internacional de Desarrollo Regional Sustentable, (RINDERESU) vol. 5(1). 18-40.

INEGI. (2021) Aspectos geográficos. Recuperado de: [https://inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen\\_11.pdf](https://inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_11.pdf)

INIFAP. (2003). El cultivo de chile serrano en la zona media de San Luis Potosí, México.

INSST. (2018). *Alternaria spp. Diferentes especies del género: A. alternata, A. infectoria, A. solani, A. tenuissima y A. alternata f. sp. lycopersici.* Recuperado de: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/alternaria-spp>

INTAGRI. (2018). "*Phytophthora infestans*", un Patógeno Devastador para las Hortalizas: Extraído de <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/phytophthora-infestans-un-hongo-devastador-para-las-hortalizas>.

IBM. (2022). Deep Learning. Recuperado de: <https://www.ibm.com/mx-es/cloud/deep-learning>.

- Jara, S. (2014). Requerimiento macro nutricional en plantas de chile (*Capsicum annuum L.*). *BIO CIENCIAS*.
- Macedo, V. M. (2019). Histopatología dos mecanismos de resistencia de pimento a *Leveillula taurica*, agente causal de oídio (Doctoral dissertation, Universidad de San Paulo).
- Madinaveita, Yasmin Ileana Chew. (2018). Principales enfermedades del chile, 2-17.
- Mancilla, C. L. (2017). El chile (*Capsicum annuum L.*) cultivo y producción de semilla. *Ciencia, Tecnología y Agropecuaria*, 19-22.
- Martínez-Ruiz, Francisco Eleazar, Andrade-Bustamante, Gabriela, Aispuro Hernández, Emmanuel, Hernández-Montiel, Luis Guillermo, Holguín Peña, Ramón Jaime, & Rueda-Puente, Edgar Omar. (2020). Antisuero vs hongos fitopatógenos en el cultivo de tomate en Sonora, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(4), 873-884. Epub 22 de mayo de 2020. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i4.1706>.
- Martínez-Scott, M. M. 2016. Evaluación de aislados nativos de *Trichoderma sp* para el control de hongos fitopatógenos del suelo en tomate. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*. 3(6): 32-42.
- Martínez Silva, O. A. (2021). Clasificación de imágenes de área amplia utilizando redes neuronales convolucionales. Aplicación en agricultura de precisión.
- Mata Gerardo, Salmenes Dulce. (2021) Técnicas de aislamiento, cultivo y conservación de cepas de hongos en el laboratorio. Instituto De Ecología, A.C. Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CP-SADER-CONACYT) Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, México. e-ISBN: 978-607-8833-00-9. 6-9.



- Mata, Vasquez. (2010). Fertiirrigación de chile serrano con riego por goteo en el sur de Tamaulipas, 13-19.
- Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., & Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 45(1), 23-30.
- Laha Ale, Alaa Sheta, Longzhuang, Ye Wang, Ning Zhang. (2019). Deep Learning based Plant Disease Detection for Smart Agriculture. IEEE Globecom Workshops (GC Wkshps).
- Longone, M. V., Aguado, G. D., Pisi, G. E., D'innocenzo, S. H., & Uliarte, E. M. (2020). Estudio preliminar de uso de compuestos biorracionales para el control de oidiopsis (*Leveillula taurica* (Lév.) Arn.) en pimiento bajo cubierta. EEA San Pedro, INTA.
- Lozada-Portilla, W. A., Suarez-Barón, M. J., & Avendaño-Fernández, E. (2021). Aplicación de redes neuronales convolucionales para la detección del tizón tardío *Phytophthora infestans* en papa *Solanum tuberosum*. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 24(2).
- Ortega-Centeno S., Ramos-García M., & Troncoso-Rojas. (2010). Métodos de inoculación y evaluación de extractos botánicos e isotiocianatos de la familia Brassicacea en el control de la roya del gladiolo. *Rev. Chapingo Ser.Hortic* vol.16 no.1 Chapingo.
- Ortiz-Castro *et al.* (2009) *Plant Signaling and Behavior* 4(8), 1-12
- Panorama, Agropecuario. (2018). Guía de manejo del chile, 4-17.

- Peña Solís, J. A. (2021). Efectos de la aplicación de fungicidas protectantes en la prevención del Tizón temprano del tomate (*Alternaria solani*) (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2021), 6-10.
- Quispe, F. (2017). Los 10 hongos más relevantes en fitopatología. Recuperado de: <https://www.zamorano.edu/2017/07/07/los-10-hongos-mas-relevantes-fitopatologia/>.
- Ramírez, G. D. (2014). Evaluación de tecnología para maximizar la producción de chile serrano en la Región Lagunera. *Revista Mexicana de ciencias agrícolas*.
- Ramírez, G. D. (2014). Evaluación de tecnología para maximizar la producción de chile serrano en la Región Lagunera. *Revista Mexicana de ciencias agrícolas*.
- Reyes, C. (2018). Enfermedades del cultivo de chile. *Panorama agro. Revista de agricultura*.
- Ricardo, J. E., Vázquez, M. Y. L., Palacios, A. J. P., & Ojeda, Y. E. A. (2021). Inteligencia artificial y propiedad intelectual. *Universidad y Sociedad*.
- Rivera, M. C., & Wright, E. R. (2020). *Apuntes de patología vegetal. Fundamentos y prácticas para la salud de las plantas*. Editorial Facultad de Agronomía, UBA.
- Robles-Hernández, L., González-Franco, A.C., Gill-Langarica, E.M., Pérez-Moreno, L. y López-Díaz, J.C. (2010). Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección. *Tecnociencia Chihuahua IV*:72-86.
- Rojas Amado, J. C., & Escobar Ávila, M. E. E. (2021). Beneficios del uso de tecnologías digitales en la auditoría externa: una revisión de la literatura. *Revista Facultad de Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión*.

Rouhiainen, L. (2018). Inteligencia artificial. Madrid: Alienta Editorial.

SAGARPA. (2017). Chiles y Pimientos Mexicanos. Secretaría de la Agricultura, 8-16.

Sánchez Pablo S. (2018). Fitopatología (AEJ-1028). Instituto Tecnológico de la Zona Maya (ITZM). 20-23

SIAP, (2021). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Recuperado de: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Sotelo, J. A. L. (2021). Deep Learning: Teoría y aplicaciones. Alpha Editorial.

Steiner, A.A. (1984). The Universal Nutrient Solution. En Proc 6th Int. Cong. Soilless Cult. pp. 633-649.

Torres, J. (2020). Python deep learning (Vol. 1). Barcelona, Spain: Marcombo.

Universidad de Minesota. (2023). Moho de la hoja de tomate. Recuperado de: <https://extension.umn.edu/disease-management/tomato-leaf-mold>.

Urbina. C. M. (2011). Enfermedades causadas por hongos, fitopatología general, Universidad agropecuaria del trópico seco.

Valle, E. M. (2013). Rendimiento y calidad de fruto de tres híbridos de chile serrano (*Capsicum annuum L.*) bajo dos láminas de riego y diferente colocación de cinta. División de carreras agronómicas, 4-8.

Velásquez, V.R., Mena, C.J., Amador, R.M.D. y Reveles, H.M. (2009). El virus de la marchitez manchada del jitomate afectando chile y jitomate en Zacatecas.

Folleto Técnico No. 20. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP.  
Aguascalientes, Aguascalientes, México, 24 p.

Wirth A. Análisis sobre el crecimiento de hongos en diferentes revestimientos aplicados a sistemas ligeros. Rev. ing. constr. vol.34 no.1 Santiago.

Yan Peng, Shi J. Li, Jun Yan. (2021). Avances de la investigación sobre hongos fitopatógenos y su papel como agentes de biocontrol. National Library of Medicine.

## CAPÍTULO VII. ANEXOS

### Anexo 1. Escala de Clasificación fenológica de especies mono y dicotiledóneas cultivadas. Escala BBCH extendida de Hack *et al.* (1992).

<b>Estadio principal 1.</b>	<b>Desarrollo de las hojas (tallo principal)</b>
100	Cotiledones, desplegados completamente
101	La 1a hoja verdadera del tallo principal, desplegada completamente.
102	La 2a hoja verdadera del tallo principal, desplegada.
103	La 3a hoja verdadera del tallo principal, desplegada.
10.	Los estadios continúan hasta...
109	9 o más hojas del, tallo principal, desplegadas.
<b>Estadio principal 2.</b>	<b>Formación de brotes laterales</b>
201	1er brote apical lateral primario, visible
202	2º brote apical lateral primario, visible
203	3er brote apical lateral primario, visible
20.	Los estadios continúan hasta...
209	9 o más brotes apicales laterales, visibles
221	1er brote apical lateral secundario, visible
22.	Los estadios continúan hasta...
229	9o brote apical lateral secundario, visible
231	1er bote apical lateral terciario, visible
23.	Los estadios continúan hasta...
2NX	X brote apical lateral N-orden, visible
<b>Estadio principal 5.</b>	<b>Aparición del órgano floral</b>
501	1a inflorescencia, visible (1er. botón erecto) 1er. botón floral, visible
502	2a inflorescencia, visible (1er. botón erecto) 2o botón floral, visible
503	3a inflorescencia, visible (1er. botón erecto) 3o botón floral, visible

50.	Los estadios continúan hasta ...
509	9 o más inflorescencias, visibles (código 2 dígitos) 9 a inflorescencia, visible (1er. botón erecto) (código 3 dígitos) 9 o más botones florales, ya visibles (código 2 dígitos) 9o botón floral, visible (código 3 dígitos)
510	10a inflorescencia, visible (1er. botón erecto) (código 3 dígitos) 10o botón floral, visible
51.	Estadios continúan hasta ...
519	19a inflorescencia, visible (1er. botón erecto) (código 3 dígitos) 19o botón floral, visible
<b>Estadio principal 6.</b>	<b>Floración</b>
601	1a inflorescencia: 1a flor abierta 1a flor abierta
602	2a inflorescencia: 1a flor abierta 2a flor abierta
603	3a inflorescencia: 1a flor abierta 3a flor abierta
60.	Los estadios continúan hasta ...
609	9 o más inflorescencias con flores abiertas (código 2 dígitos) 9a inflorescencia: 1a flor abierta (código 3 dígitos) 9 o más flores abiertas (código 2 dígitos) 9a flor abierta
610	10a inflorescencia: 1a flor abierta 10a flor abierta
61.	Los estadios continúan hasta ...
619	19a inflorescencia: 1a flor abierta

---

	19a flor abierta
<b>Estadio principal 7.</b>	<b>Formación del fruto</b>
701	1er pomo de frutos: 1er. fruto alcanza el tamaño típico
	1er fruto alcanza la forma y el tamaño típico
702	2o pomo de frutos: 1er. fruto alcanza el tamaño típico
	El 2o fruto alcanza la forma y el tamaño típico
703	3er pomo de frutos: 1er. fruto alcanza el tamaño típico
	El 3er fruto alcanza la forma y el tamaño típico
70.	Los estadios continúan hasta ...
709	9 o más pomos de frutos, con frutos de tamaño típico (código 2 dígitos)
	9o pomo de frutos: 1er. fruto alcanza el tamaño típico
710	10o pomo de frutos: 1er. fruto alcanza el tamaño típico
	El 10o fruto alcanza la forma y el tamaño típico (código 3 dígitos)
	9 o más frutos alcanzan la forma y el tamaño típicos (código 2dígitos)
71.	El 9o fruto alcanza la forma y tamaño típicos (código 3 dígitos)
	Estadios continúan hasta
719	19o pomo de frutos: 1er. fruto alcanza el tamaño típico
	El 19o fruto alcanza la forma y el tamaño típico
<b>Estadio principal 8.</b>	<b>Maduración de frutos y semillas</b>
801	El 10% de los frutos muestra el color típico de madurez

---

802	El 20% de los frutos muestra el color típico de madurez
803	El 30% de los frutos muestra el color típico de madurez
804	El 40% de los frutos muestra el color típico de madurez
805	El 50% de los frutos muestra el color típico de madurez
806	El 60% de los frutos muestra el color típico de madurez
807	El 70% de los frutos muestra el color típico de madurez
808	El 80% de los frutos muestra el color típico de madurez
809	Madurez completa: los frutos tienen el color típico de madurez

**Estadio principal 9.**

**Senescencia**

---

907	Plantas, muertas
909	Partes cosechadas

---

**Anexo 2. Germinación de semillas.**





### Anexo 3. Trasplante.



### Anexo 4. Recolección del inoculo.



### Anexo 5. Preparación de medio de cultivo.



### Anexo 6. Aislamiento de hongos



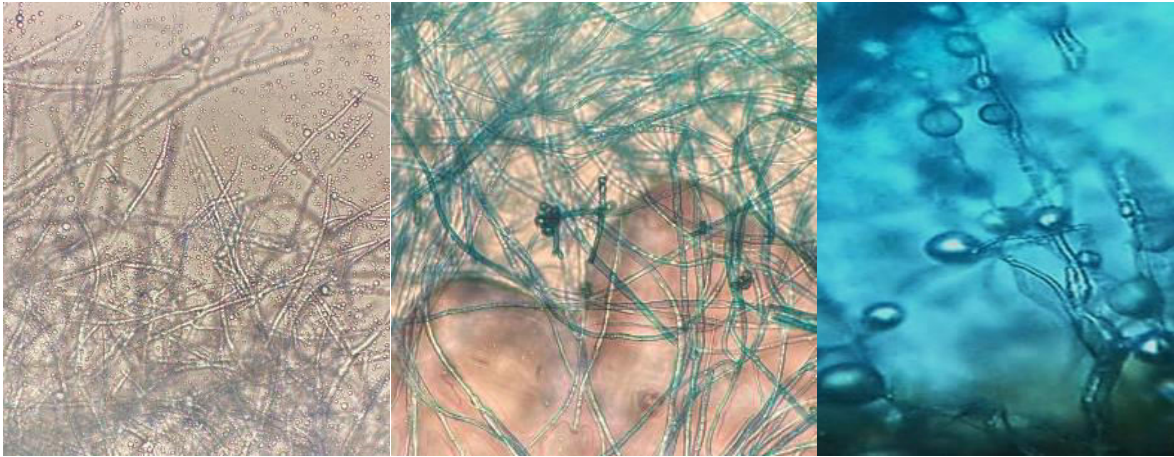


**Anexo 7. Purificación del hongo fitopatógeno.**



**Anexo 8. Identificación microscópica de los hongos fitopatógenos.**

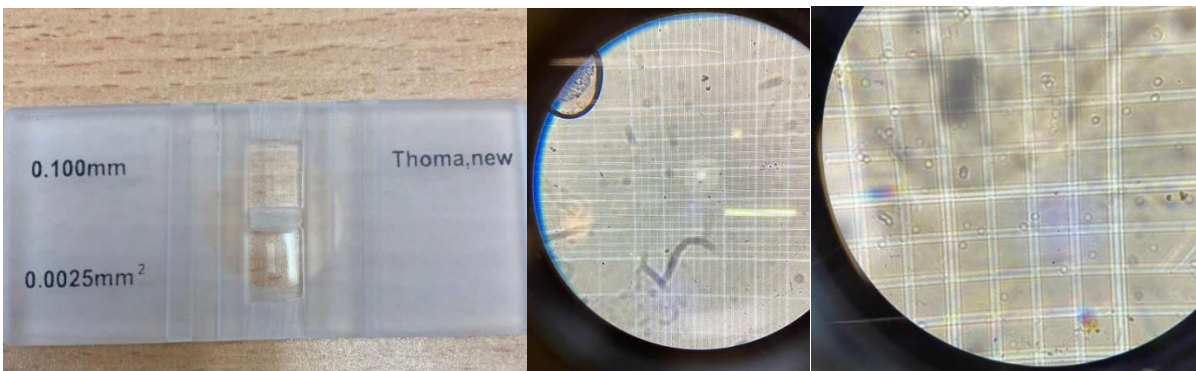




**Anexo 9. Preparación del inoculo para su aplicación.**



**Anexo 10. Conteo del inoculo con cámara Neubauer.**





**Anexo 11. Clasificación por estado fenológico.**



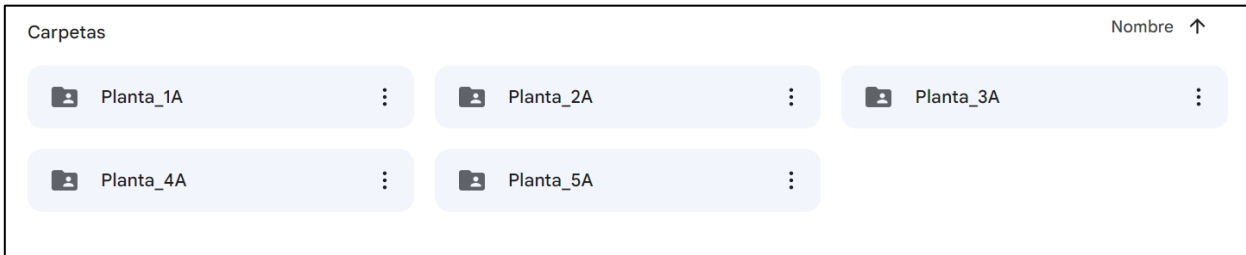
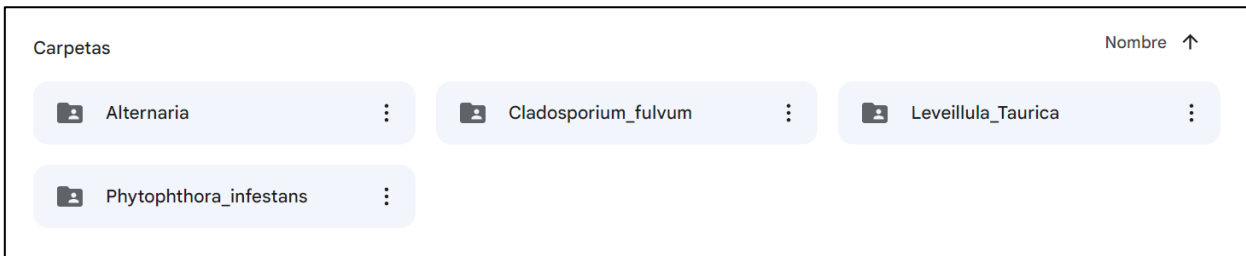
**Anexo 12. Inoculación.**



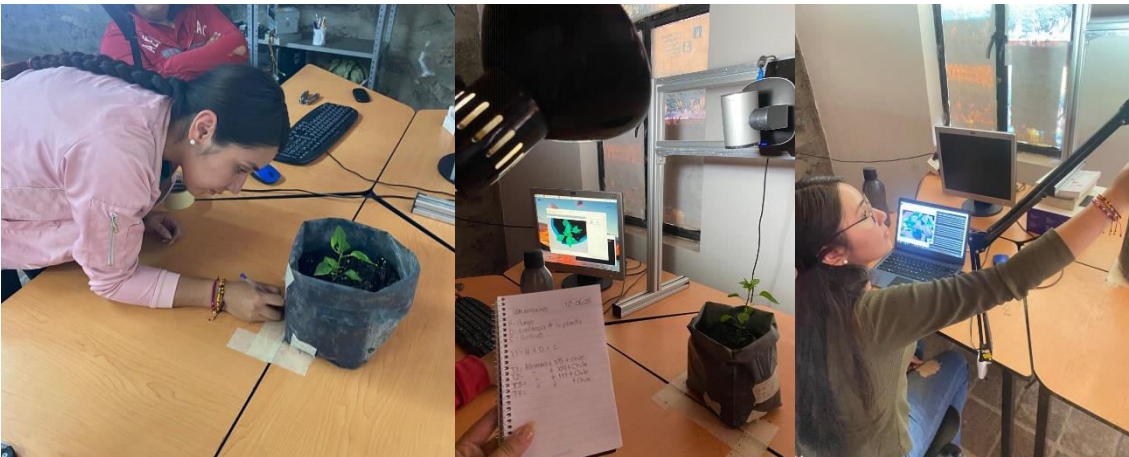
**Anexo 13. Manejo agronómico de plantas en maceta.**



## Anexo 14. Creación de base de datos de las imágenes.



## Anexo 15. Captura de imágenes.



## Anexo 16. Lesiones en hojas por cada hongo fitopatógeno.



## Anexo 17. Programa de etiquetado para lesiones en hojas de chile.

