



Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Παραδοτέο Π.1.3.1: Μεθοδολογία Χαρτογράφησης αγρών – διάγνωσης ιώσεων σε εσπεριδοειδή (CTV)

Πληροφορίες για το έγγραφο

Αριθμός παραδοτέου: Π1.3.1

Ενότητα εργασίας: ΕΕ1

Επικεφαλής δικαιούχος: ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ/ΙΕΛΥΑ

Συγγραφείς: Ματθαίος Μαθιουδάκης, Κωνσταντίνος Φερεντίνος

Έκδοση: 1.0

Είδος Παραδοτέου: Έκθεση

Ημερομηνία παράδοσης: 16 Δεκεμβρίου 2025

Στοιχεία Πράξης

Τίτλος: Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Τίτλος (EN): InnoPP-Innovations in Plant Protection for sustainable and environmentally friendly pest control

Κωδικός πράξης: ΤΑΕDR-0535675

Ακρωνύμιο έργου: InnoPP

Ημερομηνία έναρξης: 15 Μαΐου 2023

Διάρκεια: 28 Μήνες

Συντονιστής Φορέας: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Συντονιστής/ Επιστημονικός Υπεύθυνος: Ιωάννης Βόντας

Πίνακας Περιεχομένων

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ	4
2	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ	5
2.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	5
2.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	15
3	ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	23
4	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι- Βιβλιογραφικές Αναφορές	24

Περίληψη του Έργου

Το έργο «Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος» στοχεύει στην ανάπτυξη σύγχρονων και καινοτόμων μεθόδων για την προστασία των καλλιεργειών όπως τα κηπευτικά, τα εσπεριδοειδή και το επιτραπέζιο σταφύλι. Περιλαμβάνει τη δημιουργία προηγμένων διαγνωστικών εργαλείων για την ανίχνευση εχθρών και παθογόνων με τεχνολογίες αιχμής, όπως ηλεκτρονικές παγίδες και βιοαισθητήρες, καθώς και πλατφόρμες αλληλούχισης για τον πλήρη προσδιορισμό των ιωμάτων. Επιπλέον, θα αναπτυχθούν μοντέλα πρόβλεψης επιδημιών και καινοτόμα βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα, τα οποία θα αξιολογηθούν για την ασφάλεια τους σε μη στόχους οργανισμούς. Τέλος, οι νέες τεχνολογίες θα ενσωματωθούν σε συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης φυτοπροστασίας και θα δοκιμαστούν σε πραγματικές συνθήκες, ενώ θα αξιολογηθούν οι κοινωνικοοικονομικές και περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους.

Σύνοψη της ΕΕ1

Στο πλαίσιο της ΕΕ1 του έργου, στόχος είναι να αναπτυχθούν διαγνωστικά εργαλεία και μέθοδοι για την ανίχνευση, ταυτοποίηση και παρακολούθηση των εχθρών και παθογόνων και των χαρακτηριστικών τους (έντομα, ακάρεα, νηματώδεις, φυτοπαθογόνοι οργανισμοί και ζιζάνια), με βάση σύγχρονες ηλεκτρονικές παγίδες, συστήματα επεξεργασίας εικόνων (δορυφορικών και drones) και μοριακές τεχνικές συνδυασμένες με φορητά συστήματα ανίχνευσης. Οι ερευνητικές δραστηριότητες περιλαμβάνουν 9 υποενότητες, καθεμία από τις οποίες καλύπτει διαφορετικές πτυχές της φυτοπροστασίας. Η υποενότητα 1.3 - Ανάπτυξη διαγνωστικών συστημάτων πρόβλεψης επιδημιών ιολογικών ασθενειών, στην οποία ανήκει και το παραδοτέο Π1.3.1, εστιάζει στο σχεδιασμό ενός πρωτόκολλου διάγνωσης ιολογικών ασθενειών μέσω της επεξεργασίας δορυφορικών εικόνων υψηλής χωρικής ανάλυσης με εφαρμογή συγκεκριμένων δεικτών βλάστησης, όπως ο NDVI. Η απόκτηση αυτής της μεθόδου με τη χρήση πολυφασματικών καναλιών ή συνδυασμοί αυτών (RGB) θα αποτελέσουν τη βάση δομής της φασματικής ανάκλασης ώστε να αναπτυχθεί ένα μοντέλο αλγόριθμου για τον εντοπισμό περιοχών με δένδρα μολυσμένα στον ιό της τριστέσσας εσπεριδοειδών (citrus tristeza virus, CTV).

Συνοπτική παρουσίαση του παραδοτέου Π1.3.1

Το παραδοτέο Π1.3.1 αποσκοπεί στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων έρευνας που εστιάζει στην ανάπτυξη ενός ημι-αυτόνομου μοντέλου όπου θα χρησιμοποιηθεί μια μεθοδολογία συνδυασμένων τεχνικών τηλεπισκόπησης με χαρτογραφημένους αγρού/δένδρα μολυσμένα με το CTV για συσχέτιση των αποτυπωμάτων βλάστησης. Το πρωτόκολλο στη συνέχεια θα ελεγχθεί στις δυο βλαστικές περιόδους εσπεριδοειδών (άνοιξη-φθινόπωρο) που είναι οι κατάλληλες περιόδους ανίχνευσής του με μοριακές μεθόδους. Η αξιολόγηση αποτελεσματικότητας του μοντέλου θα πραγματοποιηθεί με μοριακές μεθόδους ανίχνευσης.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Η εσπεριδοκαλλιέργεια διαδραματίζει κρίσιμο κοινωνικοοικονομικό ρόλο τόσο στην Ελλάδα όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο. Η παραγωγή εσπεριδοειδών αντιμετωπίζει συστηματικά απειλές από φυτοπαθολογικές ασθένειες, οι οποίες μειώνουν την απόδοση και την ποιότητα του τελικού προϊόντος, ενώ αυξάνουν τα κόστη παραγωγής (Tennant et al., 2009), με τον ιό τριστέτσας των εσπεριδοειδών (Citrus tristeza virus, CTV) να προκαλεί τεράστιες οικονομικές απώλειες στην παγκόσμια βιομηχανία εσπεριδοειδών (Moreno et al., 2008). Η πρωταρχική στρατηγική κατά του CTV βασίζεται στην αξιοποίηση ανθεκτικών υποκειμένων, καθιστώντας επιτακτική την ανάπτυξη νέων μεθόδων και τεχνικών για ταχεία και ακριβή ανίχνευση, καθώς και για έγκαιρη πρόβλεψη της παρουσίας του παθογόνου. Τα ανωτέρω δεδομένα καθόρισαν τον σκοπό του Πακέτου Εργασίας (ΠΕ) 1.3, ο οποίος εστιάζει στην απόκτηση νέων δεδομένων καινοτόμων τεχνολογιών μέσω της χρήσης τεχνικών τηλεπισκόπησης για την ταχεία εφαρμογή μέτρων ελέγχου, συμβάλλοντας στην επιτήρηση, προστασία και τη μελλοντική αναδιάρθρωση της καλλιέργειας.

Ο σκοπός του παρόντος εγγράφου είναι η παρουσίαση των αποτελεσμάτων καινοτόμου έρευνας στο πλαίσιο του παραδοτέου Π1.3.1, που αφορά την ανάπτυξη ενός πρωτόκολλου γεωργίας ακριβείας για τη διάγνωση ιολογικών ασθενειών, μέσω της επεξεργασίας δορυφορικών εικόνων υψηλής χωρικής ανάλυσης με εφαρμογή συγκεκριμένων δεικτών βλάστησης. Στην υποενότητα 1.3 και το Π1.3.1 θα χρησιμοποιηθούν δείκτες όπως ο NDVI και η χρήση πολυφασματικών καναλιών ή συνδυασμοί αυτών (RGB) ως βάση δομής της φασματικής ανάκλασης για να αναπτυχθεί ένα ημι-αυτόνομο μοντέλο αλγόριθμου εντοπισμού περιοχών με δέντρα μολυσμένα στον ιό της τριστέτσας εσπεριδοειδών (CTV). Η εμπάθунση γνώσης σε θέματα επιδημιολογίας των ιών αυτών θα αποτελέσει τη βάση για την πρόβλεψη εμφάνισης ιών στις καλλιέργειες εσπεριδοειδών ώστε να αναπτυχθούν στρατηγικές ολοκληρωμένης αντιμετώπισης των ιών ή διαχείρισης των καλλιεργειών

Το παρόν έγγραφο **ακολουθεί την παρακάτω δομή:**

1. Εισαγωγή και Στόχοι: Παρουσιάζεται το πλαίσιο της έρευνας και οι στόχοι του εγγράφου.

2. Περιγραφή των Εργασιών: 2.1. Υλικά και Μέθοδοι, 2.2. Αποτελέσματα και Συζήτηση.

3. Σύνοψη και Συμπεράσματα: Βασικά ευρήματα της έρευνας και σχετικά συμπεράσματα.

4. Παράρτημα: Βιβλιογραφικές αναφορές.

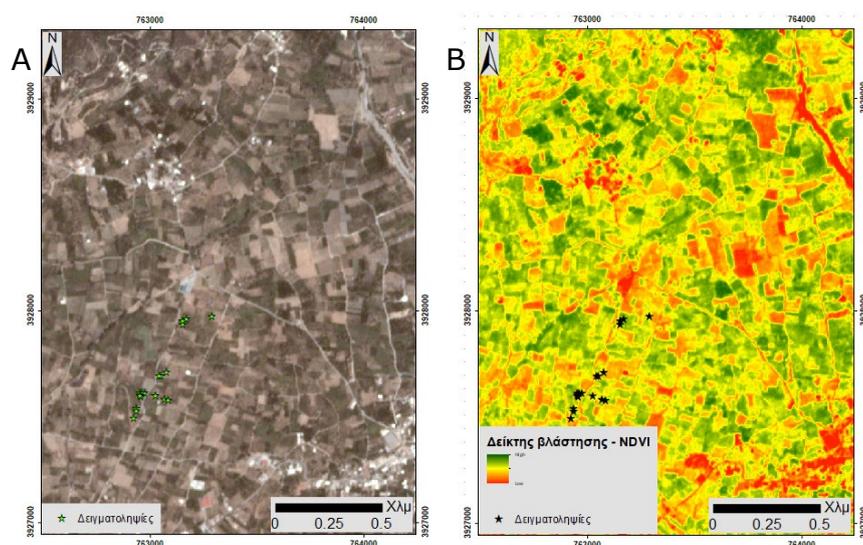
2 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

2.1 Υλικά και Μέθοδοι

2.1.1 Σχεδιασμός μεθοδολογίας δορυφορικής τηλεπισκόπησης του CTV

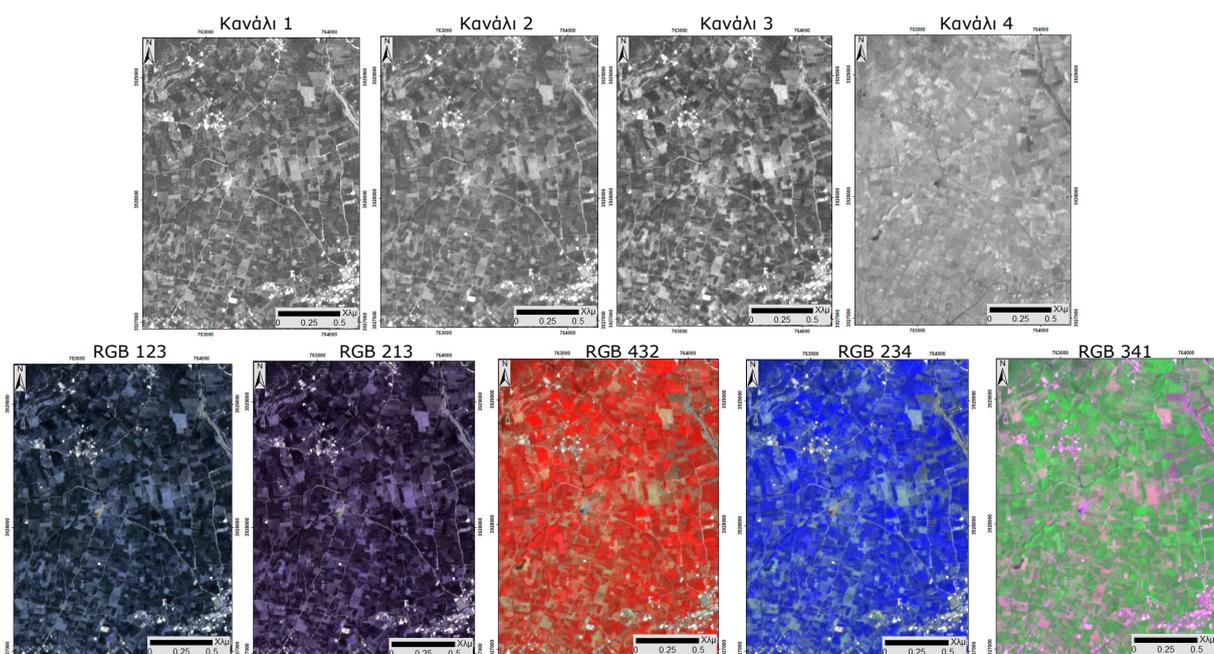
Προηγούμενες έρευνες υποδεικνύουν ότι η ενσωμάτωση τεχνικών τηλεπισκόπησης σε περιβάλλοντα Γεωγραφικών Συστημάτων Πληροφοριών (GIS) διευκολύνει την εκτεταμένη αναγνώριση δέντρων με πιθανή υποψία μόλυνσης από τον ιό CTV (Santoro et al., 2009), στοχεύοντας στην ταχεία και έγκαιρη διάγνωσή τους.

Η συγκεκριμένη μεθοδολογία μέσω τηλεπισκόπησης αναπτύχθηκε έως ένα αρχικό στάδιο στο πλαίσιο προηγούμενου ερευνητικού έργου (Τ2ΕΔΚ-00431) και στην παρούσα πράξη με ακρωνύμιο InnoPP μελετήθηκε η περαιτέρω βελτιστοποίηση του αλγόριθμου έγκαιρης ανίχνευσης μολυσμένων δέντρων. Πραγματοποιήθηκε αρχική προκαταρκτική ανάλυση εικόνων μέτριας έως υψηλής χωρικής ανάλυσης (3 m) από τον δορυφόρο PlanetScore (Εικόνα 1.3.1-1Α), όπου είχαν προσημανθεί δέντρα θετικά στον ιό CTV βάσει προηγούμενων δειγματοληψιών (αποτελέσματα προγράμματος Επισκοπήσεων παθογόνων καραντίνας). Επιλέχθηκε ο δείκτης κανονικοποιημένης διαφοράς βλάστησης (Normalized Difference Vegetation Index-NDVI) για την καταγραφή της φασματικής απόκρισης που μπορεί να εμφανίζουν τα προσβεβλημένα δέντρα, ο οποίος συνδυάζει πολυφασματικά κανάλια (μη ορατά στο ανθρώπινο μάτι) από το εγγύς υπέρυθρο και το κόκκινο τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, παράγοντας τιμές από +1 έως -1. Υψηλές τιμές υποδηλώνουν πυκνή και υγιή βλάστηση, ενώ τιμές κοντά στο μηδέν χαρακτηρίζουν περιοχές με συμπτωματική ή απύουσα βλάστηση (Εικόνα 1.3.1-1Β). Η υγιής βλάστηση, χάρη στη χλωροφύλλη, αντανακλά έντονα την υπέρυθη και πράσινη ακτινοβολία, ενώ απορροφά περισσότερο το μπλε και κόκκινο φάσμα, εξηγώντας την πράσινη όψη της στο ανθρώπινο οπτικό σύστημα. Οι δείκτες βλάστησης αποδεικνύονται ιδιαίτερα ευαίσθητοι σε συμπτώματα λόγω βιοτικού στρες (Fletcher & Skaria, 2004).



Εικόνα 1.3.1-1. Α. Πολυφασματική εικόνα PlanetScore με συνδυασμό καναλιών RGB 321 και οι δειγματοληψίες που είχαν πραγματοποιηθεί σε αγρούς που έχει εντοπιστεί ο CTV. Β. Η εφαρμογή του δείκτη βλάστησης NDVI στην πολυφασματική εικόνα PlanetScore.

Συμπληρωματικά, εφαρμόστηκαν πολλαπλοί συνδυασμοί καναλιών PlanetScore σε ψευδοχρωματικά σύνθετα (RGB color composites) για βελτιωμένη αντίθεση και διαφοροποίηση δέντρων (Εικόνα 1.3.1-2), σχηματίζοντας εικόνες από τρία μονοφασματικά ασπρόμαυρα επίπεδα της πολυφασματικής εικόνας που τοποθετούνται σε ένα χρωματικό συνδυασμό με τη χρήση των πρωτευόντων χρωμάτων κόκκινου, πράσινου και μπλε (RGB).

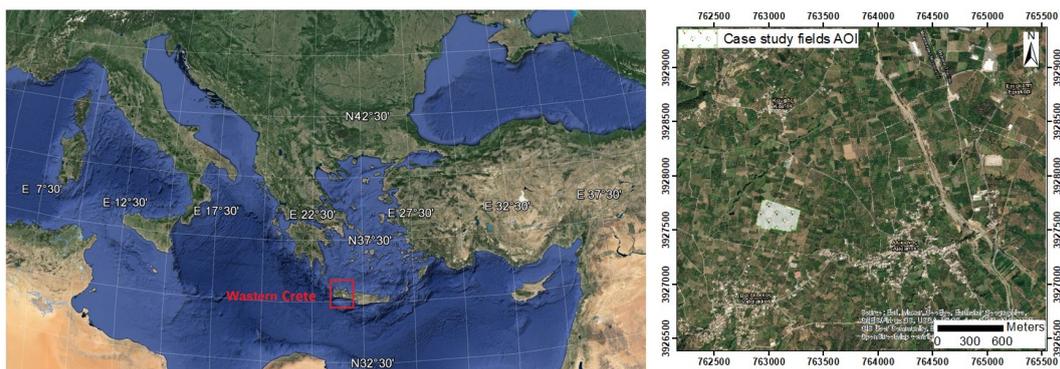


Εικόνα 1.3.1-2. Πολυφασματική εικόνα PlanetScore με την απεικόνιση των καναλιών και με διάφορους συνδυασμούς καναλιών - RGB.

Μέσω της εν λόγω προκαταρκτικής μεθοδολογίας επιτεύχθηκε επιτυχής αντιστοίχιση μεταξύ αγροτεμαχίων με δέντρα υπό στρες και των αντίστοιχων τιμών του δείκτη NDVI. Οι τιμές NDVI κυμάνθηκαν σε εύρος 0,2-0,75, υποδηλώνοντας ανωμαλίες στη βλαστική κατάσταση, πιθανώς συνδεδεμένες με την παρουσία του CTV σε αυτά τα αγροτεμάχια. Η βελτιστοποίηση των τηλεπισκοπικών τεχνικών στοχεύει στη δημιουργία ενός ημι-αυτόματου συστήματος ανίχνευσης CTV σε κλίμακα αγροτεμαχίου ή/και δέντρου. Τα αρχικά ευρήματα από τη σύνδεση τηλεπισκόπησης με δορυφορικές εικόνες PlanetScore, σε συνδυασμό με επιτόπια έρευνα και επαλήθευση νέων θετικών δειγμάτων, αποτέλεσαν το θεμέλιο για την εφαρμογή εικόνων υψηλότερης χωρικής ανάλυσης. Στόχος είναι, μέσω βελτίωσης της μεθοδολογίας, ο ακριβής εντοπισμός και διαχωρισμός των προσβεβλημένων δέντρων με μεγαλύτερη ευκρίνεια και αποτελεσματικότητα.

2.1.1.1 Επιλογή περιοχών μελέτης

Ως περιοχή ενδιαφέροντος επιλέχθηκε η περιοχή του Βατόλακκου Χανίων (Εικόνα 1.3.1-3) όπου το παθογόνο τα τελευταία χρόνια βρίσκεται σε ενδημική μορφή δημιουργώντας διάφορες εστίες με προσβεβλημένα δέντρα, σε συνδυασμό με την ταχεία εξάπλωση του με τα έντομα-φορείς (αφίδες).



Εικόνα 1.3.1-3. Η περιοχή ενδιαφέροντος ορίστηκε ο Βατόλακκος, στην Ανατολική Κρήτη (Χανιά).

Στην περιοχή αυτή επιλέχθηκαν τέσσερα αγροτεμάχια μελέτης (case study fields) τα οποία ονομάστηκαν CF1 έως CF4. Στα αγροτεμάχια αυτά ο ιός CTV είχε ταυτοποιηθεί το 2020 (CF3-CF4) και 2021 (CF1-CF2) με μολυσμένα δέντρα και αποτυπώθηκαν σε δορυφορικούς χάρτες (Εικόνα 1.3.1-4).



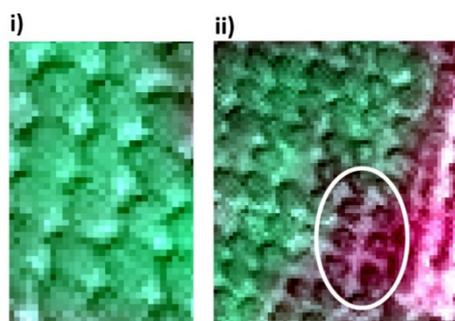
Εικόνα 1.3.1-4. Απεικόνιση περιοχής ανάλυσης και χαρτογράφηση των τεσσάρων αγρών μελέτης για την εφαρμογή τηλεπισκόπησης. Στην αριστερή εικόνα με κόκκινο κύκλο αποτυπώνονται τα αγροτεμάχια που είχαν εντοπιστεί παλαιότερα με CTV σε δορυφορική εικόνα μέσω GoogleEarth και στη δεξιά εικόνα μέσω drone.

2.1.1.2 Χρήση δορυφορικών εικόνων υψηλής ευκρίνειας

Για τον εντοπισμό του ιού CTV με καλύτερη ευκρίνεια σε επίπεδο αγρού ή/και δέντρου, καθώς κάποια αγροτεμάχια μπορεί να φέρουν λίγα μολυσμένα δέντρα και να μην είναι εφικτή η ανίχνευση τους, ακολούθησε η ανάλυση και η φωτοερμηνεία των δορυφορικών εικόνων πολύ υψηλής χωρικής ανάλυσης που αφορούσαν την περίοδο 2017-2021. Χρησιμοποιήθηκαν οι δορυφορικές εικόνες WorldView-2, GeoEye-1 και Pleiades (εικόνες που αποκτήθηκαν στα πλαίσια υλοποίησης του Έργου T2ΕΔΚ-00431) με διακριτική ικανότητα 0,4-0,7 m. Οι εικόνες επεξεργάστηκαν ανεξάρτητα και συγκρίθηκαν μεταξύ τους ως προς τον εντοπισμό δέντρων θετικά στον CTV στις περιοχές μελέτης CF1-CF4. Αρχικά πραγματοποιήθηκε παραμετροποίηση των εικόνων για διόρθωση γεωμετρικών και ραδιομετρικών μειώνοντας τις ατμοσφαιρικές συνθήκες.

Στη συνέχεια ακολούθησε η φωτοερμηνεία μέσω σύνθετων ψευδοχρωμάτων (False Colour Composites, FCCs) με διάφορους συνδυασμούς RGB για τη συσχέτιση του αποτυπώματος του δείκτη βλάστησης με την παρουσία του CTV στους αγρούς CF1-CF4. Με βάση προηγούμενες μελέτες που έχουν χρησιμοποιήσει τεχνικές γεωργίας ακριβείας για την ανίχνευση του CTV (Vanella et al., 2020), ένα κρίσιμο στάδιο περιλάμβανε τον υπολογισμό συγκεκριμένων και κατάλληλων δεικτών βλάστησης. Στην περίπτωση μας χρησιμοποιήθηκε ο NDVI, ο οποίος έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην επιτήρηση της φυτοϋγείας (Zhang et al., 2019; Fletcher & Skaria, 2004), με την ακόλουθη φόρμουλα $NDVI = (NIR - RED)/(NIR + RED)$, όπου NIR και RED είναι οι τιμές ανάκλασης στις ζώνες εγγύς υπέρυθρης και κόκκινης ακτινοβολίας του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, αντίστοιχα.

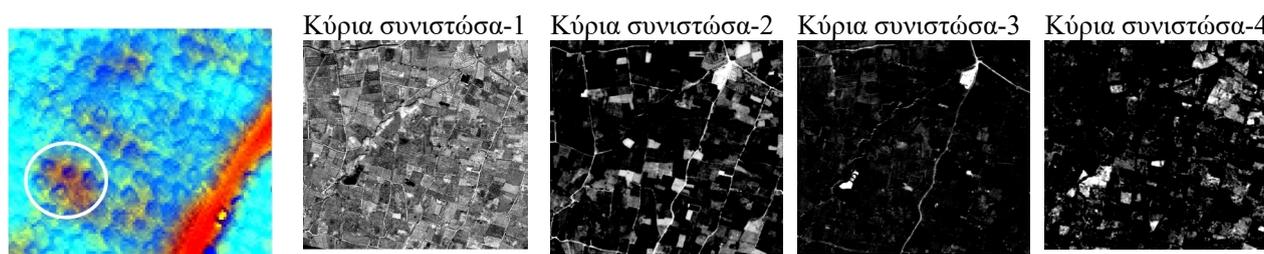
Με τις παραπάνω αυτές διαδικασίες αναγνωρίστηκε με επιτυχία επαρκής αριθμός συμπτωματικών δένδρων στους τέσσερις αγρούς μελέτης όπου οι παλαιότερες δειγματοληψίες είχαν αναδείξει δέντρα θετικά στον ιό CTV (Εικόνα 1.3.1-5) αλλά και νέων πιθανών δέντρων με την συγκεκριμένη ασθένεια, για την έγκαιρη λήψη μέτρων και τη μη εξάπλωση του ιού σε όλο το αγροτεμάχιο.



Εικόνα 1.3.1-5. Υψηλής ευκρίνειας δορυφορική εικόνα WorldView-2: i) Απεικόνιση υγιούς βλάστησης, ii) Απεικόνιση μη υγιούς βλάστησης με συνδυασμό πολυφασματικών καναλιών.

Επιπροσθέτως, εφαρμόστηκε η ανάλυση της κύριας συνιστώσας (PCA, Principal Component Analysis) κατά τη φωτοερμηνεία των εικόνων πολύ υψηλής ευκρίνειας με τον δείκτη NDVI για την εξάλειψη πλεονασματικότητας στα αρχικά datasets. Η PCA ανάλυση αποτελεί μια πολυμεταβλητή στατιστική τεχνική και τεχνική μείωσης διαστάσεων που συμπιέζει τα δεδομένα μιας εικόνας, ενώ παράλληλα βελτιώνει τα χαρακτηριστικά, αφαιρώντας ή μειώνοντας τον πλεονασμό (οποιαδήποτε κοινή πληροφορία μεταξύ πολυφασματικών τηλεπισκοπικών ψηφιακών απεικονίσεων) και διασφαλίζοντας ότι τα μετασχηματισμένα στοιχεία δεν είναι συσχετισμένα (Jia & Richards, 1999). Η PCA πραγματοποιήθηκε στο λογισμικό ERDAS IMAGINE®. Η εφαρμογή ανάλυσης PCA συνδυαστικά με τα πολυφασματικά κανάλια και το δείκτη βλάστησης σε σύνθετα ψευδοχρωμάτων συντελεί στην ακόμα καλύτερη ευκρίνεια των μολυσμένων δένδρων σε σχέση με την εγγύς στον περιβάλλοντα χώρο του αγροτεμαχίου υγιούς βλάστησης (Εικόνα 1.3.1-5A). Στην ανάλυση των πολυφασματικών ψηφιακών απεικονίσεων πολλές φορές η ανάδειξη της συσχέτισης μεταξύ των καναλιών της δορυφορικής εικόνας είναι προβληματική. Αυτό οφείλεται στο ότι οι απεικονίσεις που έχουν παραχθεί από ψηφιακά δεδομένα σε διαφορετικά μήκη κύματος, συχνά εμφανίζονται παρόμοιες με αποτέλεσμα να εμπεριέχουν σε μεγάλο μέρος τους την ίδια πληροφορία. Για τα κανάλια μιας πολυφασματικής ψηφιακής

τηλεπισκοπικής απεικόνισης, η πρώτη κύρια συνιστώσα (PC1) περιλαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό της συνολικής διασποράς της απεικόνισης, ενώ οι συνιστώσες που ακολουθούν περιλαμβάνουν μειωμένα ποσοστά της συνολικής διασποράς της απεικόνισης, σε σχέση με την προηγούμενη συνιστώσα (Εικόνα 1.3.1-5B). Επιπλέον, τα μετασχηματισμένα νέα δεδομένα είναι ασυσχέτιστα εφόσον η κάθε νέα συνιστώσα είναι ορθογώνια προς όλες τις προηγούμενες. Για να επιτευχθεί μια όσο γίνεται καλύτερη απεικόνιση της διαθέσιμης πληροφορίας, συνήθως αρκούν οι πρώτες δύο ή τρεις κύριες συνιστώσες στις οποίες ελαττώνεται σημαντικά το πλήθος των δεδομένων που χρειάζεται να αποθηκευτούν.



Εικόνα 1.3.1-5. Α. Υψηλής ευκρίνειας δορυφορική εικόνα WorldView-2 με απεικόνιση της μη υγιούς βλάστησης (άσπρος κύκλος) με ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA). Β. Υψηλής ευκρίνειας δορυφορική εικόνα WorldView-2 με απεικόνιση των διαφόρων εκάστοτε συνιστωσών (4 στο σύνολο) μετά την εφαρμογή της ανάλυσης κυρίων συνιστωσών (PCA), με την περισσότερη πληροφορία να περιέχεται στην πρώτη συνιστώσα.

Για την περαιτέρω διερεύνηση των δεδομένων δορυφορικών εικόνων, οι αρχικές πολυφασματικές ζώνες επικαλύφθηκαν με τα αποτελέσματα NDVI και PCA. Αυτή η στοίβαξη επέτρεψε τη δημιουργία FCCs που ενσωμάτωσαν όλες τις αντίστοιχες πληροφορίες κάθε ζώνης καναλιών. Χρησιμοποιώντας καθολικά όλες τις τεχνικές επεξεργασίας των δορυφορικών εικόνων που περιγράφηκαν παραπάνω, η φασματική απόκριση των ταυτοποιημένων μολυσμένων δέντρων από τους αγρούς CF1 έως CF4 στις εικόνες ήταν επιτυχής και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως οδηγός για την κλιμάκωση της μεθόδου στην ευρύτερη περιοχή. Η ανίχνευση νέων υποψήφιων αγρών που μολύνθηκαν από τον CTV προσδιορίστηκε από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων ανάλυσης των δορυφορικών εικόνων, χρησιμοποιώντας την απόκριση φαινοτύπου ως αναφορά και τις διακυμάνσεις στα μολυσμένα από CTV δέντρα σε σύγκριση με τα υγιή που παρατηρήθηκαν σε αυτούς τους τέσσερις αγρούς.

2.1.1.3 Χρήση δορυφορικών εικόνων μέσω UAVs (drones)

Η αξιοποίηση εικόνων υψηλότερης χωρικής ανάλυσης μέσω πτήσεων UAV (μη επανδρωμένο όχημα-drone) πάνω από τους τέσσερις αγρούς μελέτης μπορεί να αυξήσει την ακρίβεια των δεικτών που σχετίζονται με τον CTV μέσω των δορυφορικών εικόνων και να προσφέρει την αναγνώριση της ασθένειας με καλύτερη σαφήνεια και αποτελεσματικότητα από τις δορυφορικές εικόνες βοηθώντας και να κατανοηθεί καλύτερα η ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Επιπλέον, η σύγκριση μεταξύ εικόνων UAV και δορυφορικών εικόνων θα μας επιτρέψει να επεκτείνουμε την ανίχνευση του CTV και σε άλλους αγρούς, καλύπτοντας μια περιοχή μεγαλύτερης κλίμακας και την

παρακολούθησή της σε ένα ευρύτερο εύρος κάλυψης σε επίπεδο δέντρου μέσω των δορυφορικών εικόνων.

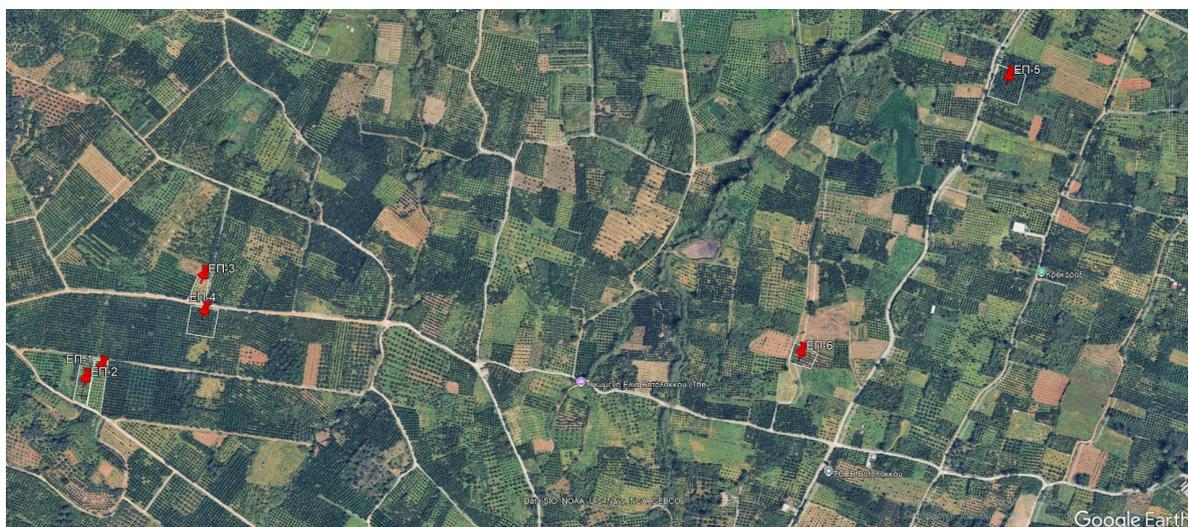
Χρησιμοποιήθηκαν εικόνες UAV που είχαν συλλεχθεί κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού του 2022 (Ιούλιος 2022) χρησιμοποιώντας ένα drone DJI Phantom 4Pro, εξοπλισμένο με έναν αισθητήρα CMOS 1 ίντσας, 20 megarixel και μια πολυφασματική κάμερα MicaSense RedEdge-MX. Η οπτική φωτοερμηνεία των FCCs των εικόνων UAV σε σχέση με τον δείκτη NDVI καθώς και η εφαρμογή της PCA που εφαρμόστηκαν στις δορυφορικές εικόνες (WorldView-2, GeoEye-1 και Pleiades) παρείχε τη δυνατότητα να εξεταστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια η αξιολόγηση των δέντρων που είναι θετικά στο CTV και την επιβεβαίωση της παραπάνω μεθοδολογίας με χρήση δορυφορικών εικόνων.

2.1.2 Αξιολόγηση της μεθοδολογίας με χρήση μοριακών ελέγχων RT-PCR

Για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου στην έγκαιρη ανίχνευση του ιού CTV μέσω συνδυαστικών τεχνικών τηλεπισκόπησης πραγματοποιήθηκε τόσο χρήση δεδομένων αγρών που εντοπίστηκαν μολυσμένα δέντρα κατά την περίοδο 2023-2024 (αποτελέσματα προγράμματος επισκοπήσεων) όσο και νέες δειγματοληψίες από αγρούς που υπέδειξε η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε (2024-2025).

2.1.2.1 Χαρτογράφηση αγρών με μολυσμένα δέντρα στον ιό CTV

Κατά τη διάρκεια υλοποίησης του ερευνητικού έργου «Επισκοπήσεις» για τον έλεγχο παρουσίας του παθογόνου CTV στην Κρήτη το 2023 (Ιούνιος και Οκτώβριος) και το 2024 (Ιούνιος) εντοπίστηκαν κατόπιν ορολογικής ανίχνευσης 15 δέντρα από 6 διαφορετικούς αγρούς (ΕΠ-1 έως ΕΠ-6). Κάθε αγρός καθώς και κάθε δέντρο μολυσμένο με τον CTV χαρτογραφήθηκε σε δορυφορικό χάρτη (Εικόνα 1.3.1-6). Τα νέα αυτά δεδομένα από τους 6 αγρούς (ΕΠ-1 έως ΕΠ-6) χρησιμοποιήθηκαν για τη βελτιστοποίηση εκμάθησης του πρωτοκόλλου αλγόριθμου ανίχνευσης μέσω τηλεπισκόπησης και την αύξηση του βαθμού ακρίβειας (βλέπε παρακάτω), ενώ τα δεδομένα που λήφθηκαν από πέντε νέους αγρούς δειγματοληψιών χρησιμοποιήθηκαν για την περαιτέρω αξιολόγηση της μεθοδολογίας και του αλγόριθμου που αναπτύχθηκαν.



Εικόνα 1.3.1-6. Απεικόνιση χαρτογράφησης των έξι αγρών (ΕΠ-1 έως ΕΠ-6) (2023-2024) για την τροφοδότηση εκπαίδευσης του αλγόριθμου ανίχνευσης του CTV μέσω τηλεπισκόπησης (GoogleEarth).

2.1.2.2 Δειγματοληψίες φυτικού υλικού

Πραγματοποιήθηκαν επισκοπήσεις σε νέους αγρούς που υποδείχθηκαν ως υποψήφιοι με μολυσμένα CTV δέντρα με βάση τα αποτελέσματα της μεθοδολογίας ανάλυσης δορυφορικών και UAV εικόνων. Στο πλαίσιο του έργου Τ2ΕΔΚ-00431 είχαν διεξαχθεί δυο δειγματοληψίες (2021, 2022) γύρω από την περιοχή του Βατόλακου από συνολικά εννέα υποψήφιους πορτοκαλεώνες που αναφέρονται ως CdF1 έως CdF9 (Εικόνα 1.3.1-7) από όπου είχαν συλλεχθεί συνολικά 35 δείγματα είτε τυχαία από ένα ευρύτερα πιθανώς μολυσμένο αγρό είτε από συγκεκριμένα δέντρα που οι δορυφορικές και οι εικόνες UAV είχαν επισημάνει, αντίστοιχα, ως πιθανώς μολυσμένα με CTV. Τα δεδομένα που είχαν προκύψει από τους εννέα αυτούς αγρούς στην παρούσα πράξη χρησιμοποιήθηκαν για βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας (όσα περισσότερα δεδομένα μολυσμένων δέντρων χρησιμοποιούνται τόσο περισσότερο επιτυγχάνεται παραμετροποίηση μεθοδολογίας για την αφαίρεση θορύβου απόκρισης του NDVI από είδη που δεν είναι εσπεριδοειδή).

Κατόπιν συνεχών βελτιστοποιήσεων της μεθοδολογίας τεχνικών τηλεπισκόπησης και εκμάθησης του αλγόριθμου στο πλαίσιο υλοποίησης του ΙννοΡΡ πραγματοποιήθηκαν τρεις δειγματοληψίες κατά τη διάρκεια του Π1.3.1, το 2024 (Ιούνιος και Οκτώβριος) και την άνοιξη του 2025. Συνολικά συλλέχθηκαν 68 δείγματα πορτοκαλιάς και βοτρυόκαρπου από 18 αγρούς στην περιοχή του Βατόλακου (Πίνακας 1.3.1-1) που κάλυπταν οι διαθέσιμες δορυφορικές εικόνες. Οι αγροί αναφέρονται ως ΥΑ-1 έως ΥΑ-18 (Εικόνα 1.3.1-7). Σε όλες τις περιπτώσεις συλλέχθηκαν τέσσερα φρέσκα κλαδιά (15-20 cm) με φύλλα της ετήσιας βλάστησης από τα τέσσερα τέταρτα του δέντρου για περαιτέρω ανάλυση.



Εικόνα 1.3.1-7. Απεικόνιση χαρτογράφησης των 18 αγρών (ΥΑ-1 έως ΥΑ-18) κατά τις δειγματοληψίες 2024-2025 για την ανίχνευση του CTV (GoogleEarth). Στην εικόνα αποτυπώνονται και οι περιοχές μελέτης CF1-CF4, καθώς και οι 9 αγροί του έργου Τ2ΕΔΚ-00431 που χρησιμοποιήθηκαν που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα πράξη ΙννοΡΡ για τη βελτίωση του πρωτόκολλου τηλεπισκόπησης.

Πίνακας 1.3.1-1. Δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν από υποψήφιους αγρούς κατά τα έτη 2024-2025.

Έτος	Εποχή δειγματοληψίας	Αρ. Αγρών	Κωδ. αγρών	Ξενιστής	Αρ. δειγμάτων
2024	Ιούνιος	4	YA-1 → YA-4	Πορτοκαλιά	12
	Οκτώβριος	9	YA-5 → YA-13	Πορτοκαλιά, Βοτρυόκαρπος	24
2025	Ιούνιος	5	YA-14 → YA-18	Πορτοκαλιά	32
Σύνολα		18			68

2.1.2.3 Προετοιμασία δειγμάτων και απομόνωση ολικών RNAs

Πραγματοποιήθηκε ομογενοποίηση ιστών φύλλου σε γουδί με γουδοχέρι με τη βοήθεια υγρού αζώτου (Εικόνα 1.3.1-8). Πέρασ της λειοτρίβησης όταν ο ιστός είχε έρθει σε μορφή σκόνης ακολούθησε μεταφορά του ιστού σε μικροσωλήνες των 2 ml και ετοιμασία μικροσωλήνων 1,5 ml με 0,1-0,15 g ιστού-σκόνης. Στην φάση αυτή μπορούσε να γίνει αποθήκευση των δειγμάτων σε καταψύκτη -80°C και ανάλυση τους μελλοντικά. Για την απομόνωση των ολικών RNAs εφαρμόστηκε η μεθοδολογία Trizol.



Εικόνα 1.3.1-8. Ιστός προς λειοτρίβηση με γουδί-γουδοχέρι.

Το πρωτόκολλο εκχύλισης με τη μεθοδολογία **Trizol**, ελαφρώς τροποποιημένη όπως αναφέρεται στους Mathioudakis et al. (2020), ήταν το εξής: πραγματοποιήθηκε προσθήκη 1 ml από το διάλυμα Trizol (38% Phenol, 0.8 M Guanidine Thiocyanate, 0.4 M Ammonium Thiocyanate, 0.1 M Sodium Acetate, 5 % Glycerol, υπερκάθαρο νερό) σε 0,1 g φυτικού ιστού, ανακίνηση σε vortex για 1,5 min και φυγοκέντρηση στα 12.000 g για 10 min στους 4°C. Μεταφορά 800 μl υπερκείμενου σε νέο μικροσωλήνα 1,5 ml και προσθήκη 200 μl Trizol και ανάδευση σε vortex για 2 min. Ακολούθησε επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (18-22°C) για 5 min και απευθείας προσθήκη 200 μl χλωροφόρμιου και ανακίνηση για 15 sec. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 12.000 g για 15 min στους 4°C. Μεταφορά υπερκείμενης (διαφανής) φάσης σε νέο μικροσωλήνα, προστέθηκαν 200 μl χλωροφόρμιου και αναδεύτηκαν σε vortex για 20 sec και ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 12.000 g για 5 min στους 4°C. Ακολούθησε μεταφορά του υπερκείμενου σε νέο μικροσωλήνα και επανάληψη του παραπάνω σταδίου. Ακολούθησε προσθήκη 0,5ml ισοπροπανόλης στο τελικό υπερκείμενο, ήπια ανακίνηση (5 φορές αναστροφή του μικροσωλήνα) και επώαση για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν φυγοκέντρηση στα 12.000 g για 10 min στους 4°C για την κατακρήμνιση του RNA (σχηματίζοντας μια μορφή ιζήματος στη βάση του μικροσωλήνα). Από το στάδιο αυτό και έπειτα όλοι οι χειρισμοί γίνονταν με τοποθέτηση των δειγμάτων σε πάγο. Ακολούθησε απομάκρυνση του υπερκείμενου και ξέπλυμα του ιζήματος με 1 ml 75% κρύας αιθανόλης (αποθηκευμένης στους -20°C), ήπια ανακίνηση σε vortex και φυγοκέντρηση στα 7.500 g για 5 min στους 4°C. Απομάκρυνση του υπερκείμενου και κατόπιν ξήρανσης του ιζήματος σε θερμοκρασία δωματίου για 8 min ακολούθησε διάλυση του ιζήματος σε 30 μl υπερκάθαρου (Rnase-free, Dnase-free) νερού με αναδεύσεις χρησιμοποιώντας την πιπέτα και ενδιάμεσα και μέσω vortex. Τα

ολικά RNAs κατόπιν ποσοτικοποιούνται με χρήση του σπεκτροφωτόμετρου (nanodrop) λαμβάνοντας ένδειξη και της ποιότητας τους η οποία επαληθεύεται και κατά την ηλεκτροφόρηση των δειγμάτων σε γέλη 1% αγαρόζης. Πριν την εφαρμογή των μοριακών ελέγχων ανίχνευσης τα RNAs αραιώθηκαν σε συγκέντρωση 100 ng/μl.

2.1.2.4 Μοριακή ανίχνευση με χρήση της συμβατικής μεθόδου Αντίστροφη Μεταγραφή-Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (RT-PCR) και προσδιορισμός γενότυπου CTV

Για τη μοριακή ανάλυση των δειγμάτων και την ανίχνευση παρουσίας του CTV χρησιμοποιήθηκε η RT-PCR one-tube χρησιμοποιώντας τους ήδη δημοσιευμένους εκκινητές CTV-1, CTV-10 (Nolasco et al., 2002). Η μοριακή ανάλυση των δειγμάτων περιλάμβανε τη χρήση της RT-PCR σε ένα στάδιο για το περιορισμό του χρόνου δυο αντιδράσεων και των επιμολύνσεων από τη κοινή και επαναλαμβανόμενη χρήση των cDNAs και για την άμεση κτήση αποτελεσμάτων. Το πρωτόκολλο RT-PCR ήταν το εξής: 200 ng RNA, αντίστοιχος ανοδικός και καθοδικός εκκινητής σε συγκέντρωση 0,4 μM, 5 mM DTT (dithiothreitol), 0,25 mM dNTPs mix (deoxy nucleotide triphosphates), 1,5 mM MgCl₂, 1,25 μονάδες ενζύμου αντίστροφης μεταγραφάσης (MINOTECH Reverse Transcriptase), 6 μονάδες αναστολέας RNase (NEB Rnase Inhibitor), 1,25 μονάδες DNA πολυμεράσης (G2 Flexi PROMEGA), διάλυμα αντίδρασης 5x Green Buffer PROMEGA και υπερκάθαρο νερό (Biowest Cell culture water) ως τελικό όγκο τα 25 μl. Η διαδικασία εκτέλεσης της RT-PCR στο θερμοκυκλοποιητή περιλάμβανε τα εξής στάδια: 1) 42°C για 60 min (αντίστροφη μεταγραφή RNA), 2) 95°C για 10 min (αποδιάταξη εκμαγείου), 3) 40 κύκλοι ενίσχυσης στους 94°C για 30 sec, στους 51°C για 30 sec για υβριδισμό των εκκινητών και στους 72°C για 45 sec για την επιμήκυνση συμπληρωματικής αλυσίδας και 4) ένα τελικό στάδιο επώασης στους 72°C για 7 min για ολοκλήρωση επιμήκυνσης ημιτελών αλυσίδων. Μεταφορά προϊόντων των αντιδράσεων της RT-PCR για ανάλυση σε συσκευή ηλεκτροφόρησης και 1,5% γέλης αγαρόζης. Για τον προσδιορισμό του γενότυπου (στελέχους) του CTV πραγματοποιήθηκε ανάλυση πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) με το περιοριστικό ένζυμο *KpnI*, όπου ο γενότυπος του επιθετικού στελέχους, που ενδημεί στην Κρήτη, δίδει ένα φαινότυπο με την παρουσία δυο ζωνών στα 523 bp και 149 bp, του γονιδίου της καψιδιακής πρωτεΐνης.

2.1.3 Διαδικασία ημι-αυτόματης μηχανικής εκμάθησης αλγορίθμου ανίχνευσης του CTV και αξιολόγηση της ακρίβειας της μεθόδου

Πρόσφατα, οι παράμετροι τηλεπισκόπησης που χαρακτηρίζουν τα χαρακτηριστικά των φυτών έχουν συνδυαστεί με επιτυχία με αλγόριθμους μηχανικής μάθησης στον προσδιορισμό των φυτικών ασθενειών (Zarco-Tejada et al., 2019). Τα υποψήφια δέντρα που υποδείχθηκαν ως πιθανώς μολυσμένα από CTV εντός των αγρών που σημάνθηκαν χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα εκπαίδευσης ενός αλγορίθμου Random Forest (RF) μηχανικής μάθησης (machine learning, ML) χρησιμοποιώντας το περιβάλλον Google Earth Engine (GEE). Ο RF είναι ένας ισχυρός μη παραμετρικός αλγόριθμος ταξινόμησης και παλινδρόμησης συνόλων που χρησιμοποιεί πολλαπλά δέντρα κατάλληλης ένδειξης ως βασικούς ταξινομητές (Breiman, 2001). Έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε εφαρμογές τηλεπισκόπησης, με εξαιρετικά αποτελέσματα απόδοσης (Belgiu & Dragut, 2016; Chan & Paelinckx, 2008) και στην ταξινόμηση των

φυτικών ασθενειών, ειδικότερα, έχει αποδειχθεί εξαιρετικά αποτελεσματικός (Adelabu et al., 2014).

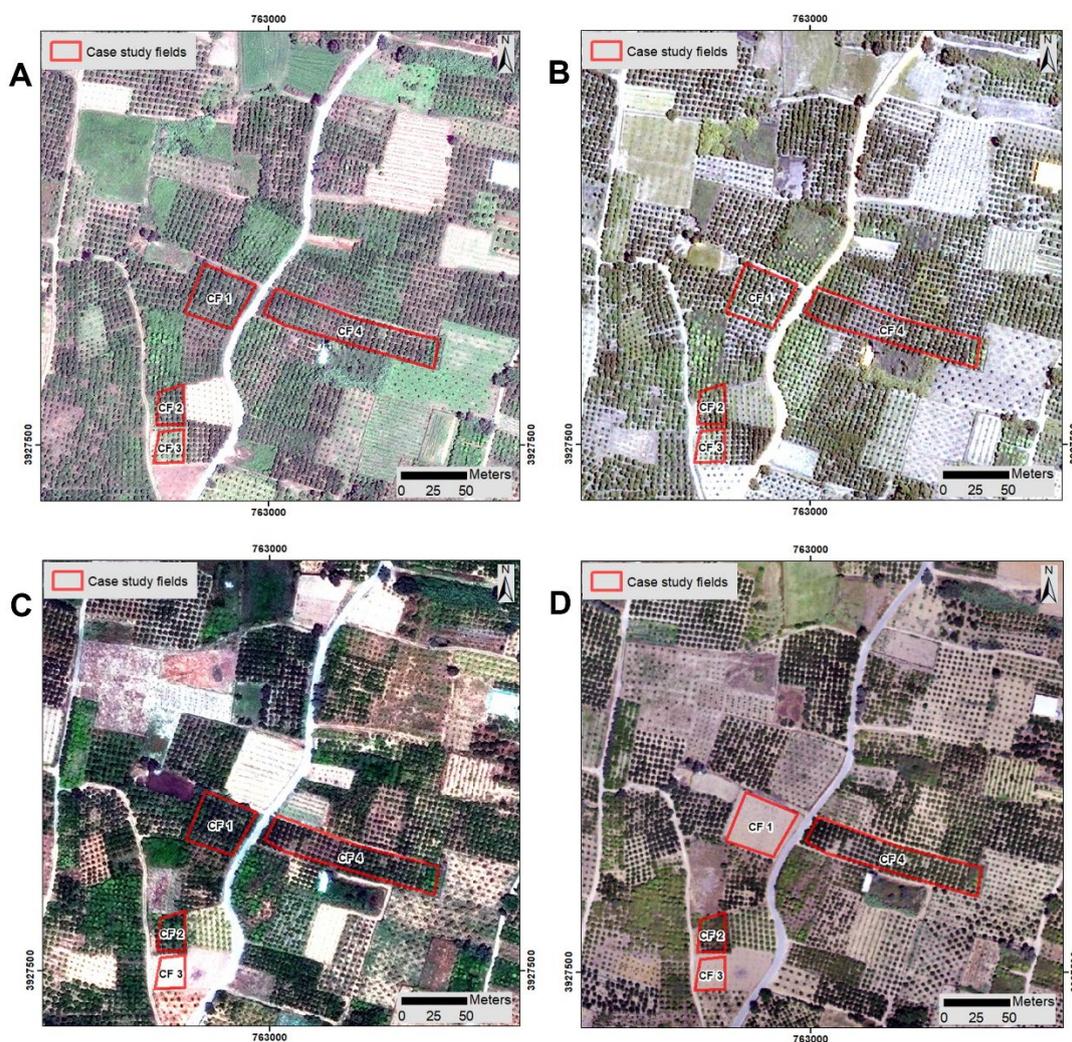
Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπαίδευση του αλγορίθμου RF ήταν μόνον αυτά που ταυτοποιήθηκαν ως θετικά μέσω εργαστηριακής ανάλυσης. Ο αλγόριθμος εφαρμόστηκε στην εικόνα UAV, εκμεταλλευόμενος την υψηλή χωρική του ανάλυση, για να αποκαλύψει την κατανομή των δέντρων που έχουν μολυνθεί από CTV. Για την αξιολόγηση της απόδοσης του αποτελέσματος της ταξινομημένης εικόνας RF, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση ακρίβειας (accuracy assessment). Αυτό βασίστηκε σε ένα σύνολο δειγματοληψιών από τους προτεινόμενους υποψήφιους αγρούς, τα οποία επιβεβαιώθηκαν θετικά για CTV. Αυτά χρησιμοποιήθηκαν για σκοπούς επαλήθευσης σε συνδυασμό με δειγματοληψίες από υγιή δέντρα για την αξιολόγηση της ακρίβειας της ταξινομημένης εικόνας RF. Τα δείγματα επαλήθευσης χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των εκτιμώμενων θετικών και μη θετικών δέντρων που ανιχνεύθηκαν με μοριακές αναλύσεις σε σχέση με τα αποτελέσματα των δορυφορικών εικόνων της ταξινομημένης εικόνας RF και την αξιολόγηση της ακρίβειας του χάρτη ταξινόμησης, συμπεριλαμβανομένης του προσδιορισμού ολικής ακρίβειας (overall accuracy, OA), και άλλων παραμέτρων όπως: confusion matrix, kappa statistics, user's and producer's accuracy (Feng et al., 2023). Η αξιολόγηση ακρίβειας κατά την υλοποίηση του έργου Τ2ΕΔΚ-00431 είχε φτάσει στο 89% στην αναγνώριση του αγρών ή/και δέντρων με την παρουσία του CTV.

Στο πλαίσιο του InnoPP πραγματοποιήθηκε περαιτέρω βελτίωση μέσω εκπαίδευσης του αλγόριθμου ώστε να παρέχει με μια ημι-αυτόνομη διαδικασία την ανάλυση και υπόδειξη αγρών/δέντρων με μόλυνση από τον CTV. Για την εκπαίδευσή του ως προς την αναγνώριση δέντρων με την παρουσία του CTV, ο αλγόριθμος τροφοδοτήθηκε αρχικά με τις συντεταγμένες 15 συνολικά νέων δέντρων θετικών στον CTV από έξι διαφορετικούς αγρούς (ΕΠ-1 έως ΕΠ6), καθώς και με ένα σύνολο 20 υγιών δέντρων. Παράλληλα από τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις νέες δειγματοληψίες χρησιμοποιήθηκαν οι προσβεβλημένοι αγροί των δειγματοληψιών του 2024-2025 για την περαιτέρω εκμάθηση του αλγόριθμου, και αξιολογήθηκε εκ νέου η ακρίβεια του αλγόριθμου εφαρμόζοντας τον αλγόριθμο σε πέντε (ΥΑ-3, ΥΑ-12, ΥΑ-15, ΥΑ-16, ΥΑ-17) από τους 18 αγρούς (που είχαν το μεγαλύτερο αριθμό δέντρων θετικών στο CTV), ως προς την επιβεβαίωση υπόδειξής τους.

2.2 Αποτελέσματα και Συζήτηση

2.2.1 Μεθοδολογία ανίχνευσης και παρακολούθησης του CTV μέσω τηλεπισκόπησης

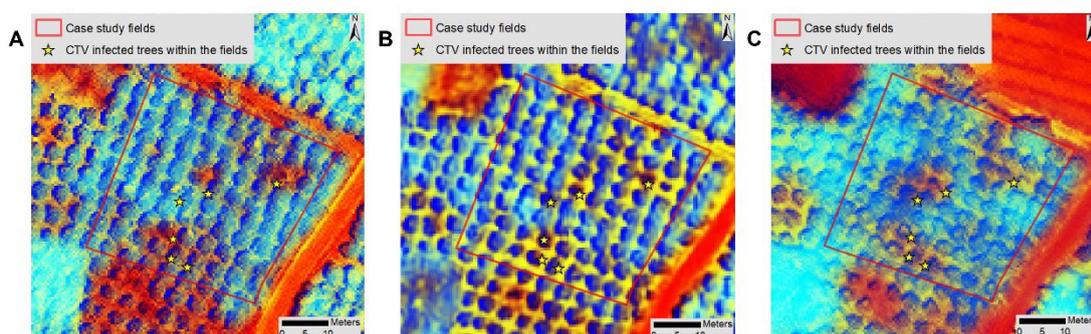
Τα φυσικού έγχρωμου σύνθετου RGB (natural RGB color composites) του συνδυασμού καναλιών 3-2-1 των εικόνων από τους πολυφασματικούς δορυφόρους υψηλής χωρικής ανάλυσης Worldview-2, Pleiades και GeoEye-1 και την εικόνα UAV, που καλύπτουν συνολικά την περίοδο 2017-2022, παρουσιάζονται στην εικόνα 1.3.1-8, στην οποία έχουν σημειωθεί και οι τέσσερις αγροί μελέτης CF1-CF4. Στις εικόνες αυτές προσδιορίστηκε ο δείκτης βλάστησης NDVI και με την πρόσθετη ανάλυση PCA (διάφορες συνιστώσες) επιλέχθηκε ο συνδυασμός με την PC1 για τη συμπίεση ψηφιακών πληροφοριών από τα αρχικά δεδομένα.



Εικόνα 1.3.1-8. Απεικόνιση των δορυφορικών εικόνων (A) GeoEye-1 (06/2017), (B) Pleiades (07/2018), (C) Worldview-2 (05/2021), (D) UAV (07/2022) κατά την εφαρμογή του φυσικού έγχρωμου σύνθετου στα κανάλια 3-2-1 RGB 321) μέσω της μεθόδου FCCs στα αγρούς μελέτης CF1-CF4.

Αυτά τα αποτελέσματα στη συνέχεια συνδυάστηκαν με τις άλλες πολυφασματικές ζώνες για να δημιουργηθούν μοτίβα FCCs που διέκριναν καλύτερα τους δείκτες, μέσω οπτικής

επιθεώρησης των εντοπισμένων δέντρων που είχαν μολυνθεί από CTV στα πεδία μελέτης περίπτωσης CF1–CF4. Μεταξύ των διαφόρων συνδυασμών FCCs που εξετάστηκαν, η σύνθεση που αποτελείται από RED-PC1-NDVI σε συνδυασμό RGB παρείχε μεγαλύτερη διακριτική ευκρίνεια διάκρισης των συγκεκριμένων δέντρων που είχαν μολυνθεί από το CTV (Εικόνα 1.3.1-9, αγρός CF1) και αυτή επιλέχθηκε για περαιτέρω χρήση σε ακόλουθες αναλύσεις. Στην εικόνα 1.3.1-9, η υγιής βλάστηση παρουσιάζεται σε μπλε αποχρώσεις, ενώ η θέση των μολυσμένων δέντρων αποτυπώνεται σε πιο σκούρες καφέ/κιτρινωπές αποχρώσεις.

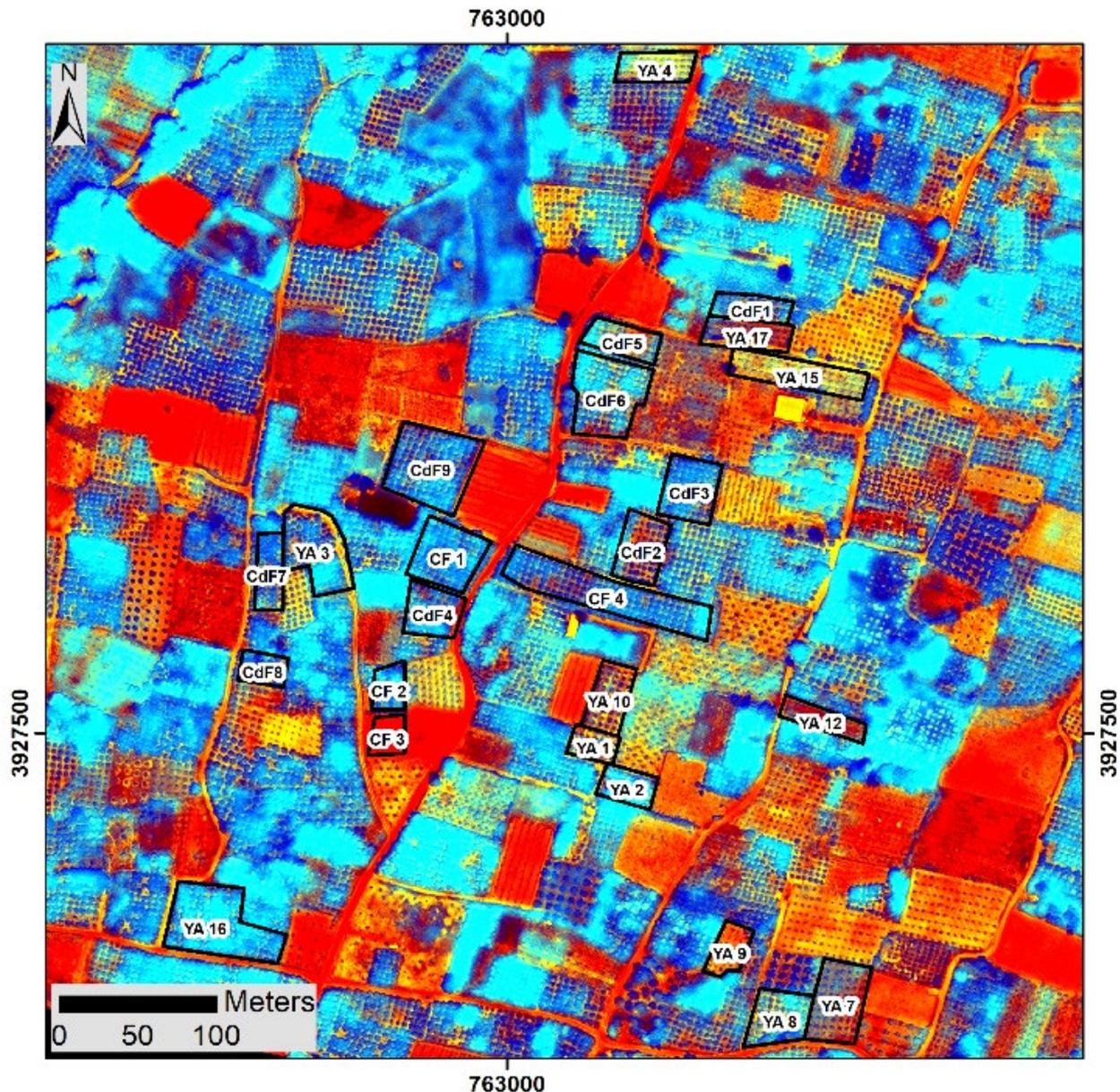


Εικόνα 1.3.1-9. Απεικόνιση των δορυφορικών εικόνων (A) GeoEye-1 (06/2017), (B) Pleiades (07/2018) και (C) Worldview-2 (05/2021) κατά την εφαρμογή του RED-Principal Component 1-NDVI) σε μια σύνθεση RGB μέσω της μεθόδου FCCs με επισήμανση αναφοράς των μολυσμένων δένδρων στο πιλοτικό αγροτεμάχιο CF1 στο οποίο ανιχνεύτηκε ο CTV το 2021. Με κίτρινο αστερίσκο είναι η επισήμανση των θετικών δένδρων που είχαν εντοπιστεί το 2021. Η υγιής βλάστηση αποτυπώνεται με γαλάζιες αποχρώσεις και τα μολυσμένα δένδρα με σκούρες καφέ/κιτρινωπές αποχρώσεις.

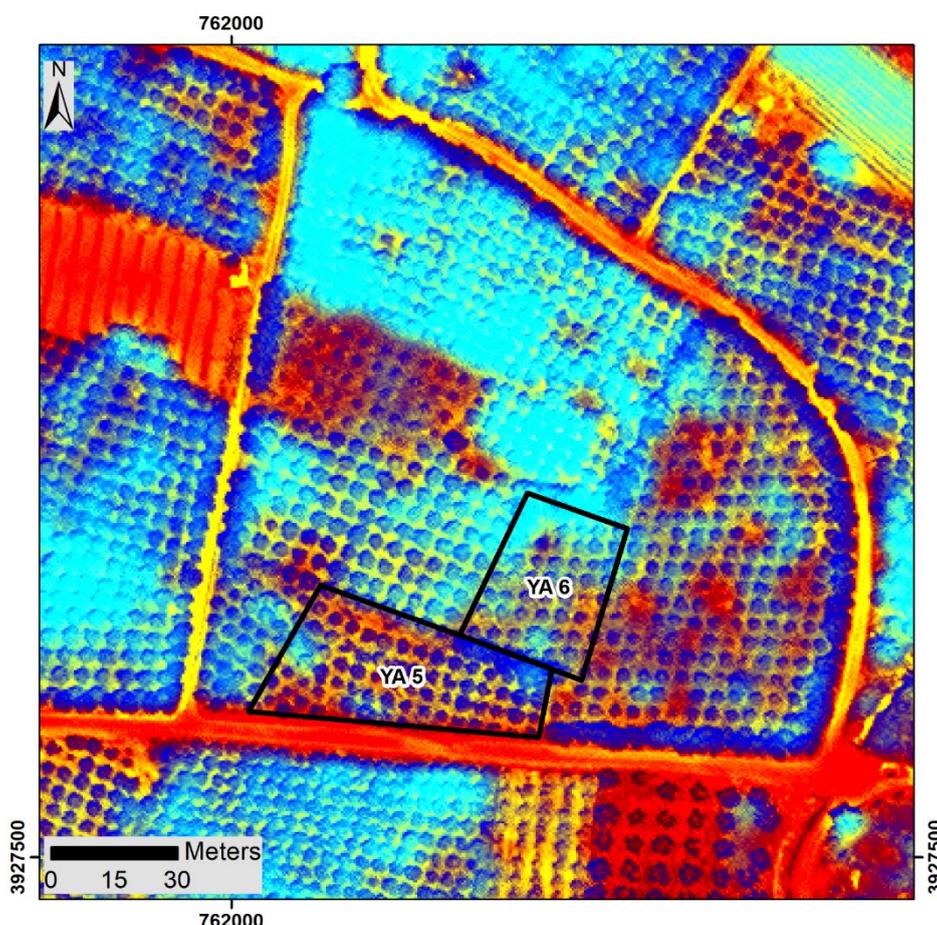
Η παραπάνω ανάλυση έδειξε με επιτυχία ότι τα μολυσμένα με CTV τμήματα των αγρών μελέτης CF1-CF4 σε μακρο-κλίμακα σημειώνονται με έναν φαινότυπο που διαφέρει από το υπόλοιπο μοτίβο του αγρού που αποτελείται από υγιή δέντρα. Καθότι οι εικόνες αντιπροσωπεύουν τη χρονική περίοδο 2017-2021 γίνεται αντιληπτό ότι το 2017, στον αγρό CF1, αποτυπώνονται λιγότερα μολυσμένα δέντρα σε σχέση με το 2018 και το 2021 (σήμανση με αστερίσκο), που οδήγησαν σε ένα εμφανή φαινότυπο ορατό στο ανθρώπινο μάτι με εμφάνιση συμπτωμάτων και στη δειγματοληψία φυτικού υλικού για την ανίχνευση του CTV. Η μεθοδολογία αυτή λοιπόν αποδεικνύει πέραν από τον έγκυρο εντοπισμό του αγρού με την παρουσία του CTV, την έγκαιρη πρόωρη ανίχνευση του (από το 2017) πριν την εμφάνιση ορατών συμπτωμάτων (το 2021).

Με βάση τις αναλύσεις και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τους πιλοτικούς αγρούς μελέτης και τις δορυφορικές εικόνες, σε συνδυασμό με τις εικόνες UAV που λήφθηκαν και έχουν ανώτερη χωρική ανάλυση για την επίτευξη εμπλουτισμένης ακρίβειας των εντοπισμένων δεικτών και την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, υποδείχθηκαν υποψήφιοι αγροί που έχουν μολυνθεί από CTV (CdF1 έως CdF9 από το έργο Τ2ΕΔΚ-00431 και ΥΑ-1 έως ΥΑ-18 στο παρών έργο InnoPP) εντός της ευρύτερης περιοχής (Εικόνα 1.3.1-10). Η υπόδειξη των αγρών αυτών προήλθε από τη χειροκίνητη

προσεκτική σάρωση της συγκεκριμένης διαθέσιμης περιοχής κάλυψης της δορυφορικής εικόνας εφαρμόζοντας τη συνδυαστική μεθοδολογία τεχνικών τηλεπισκόπησης. Σε πολλές από τις περιπτώσεις αγρών που υπήρχε έντονη εμφάνιση του μοτίβου δόθηκε η ικανότητα οι εικόνες να κατευθύνουν την επισήμανση της μόλυνσης σε επίπεδο συγκεκριμένο δέντρου για τις δειγματοληψίες αξιολόγησης αποτελεσμάτων με μοριακές μεθόδους.



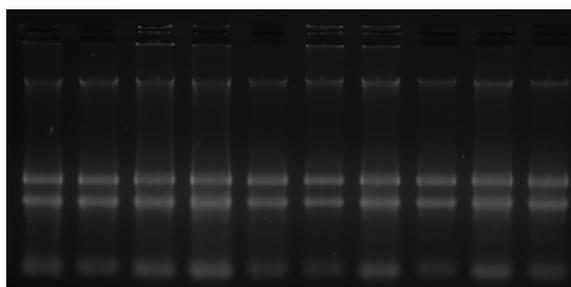
Συνεχίζεται.



Εικόνα 1.3.1-10. Δώδεκα ενδεικτικά υποψήφια αγροτεμάχια YA-1 → YA-18 (έργο InnoPP), μαζί με τα υποψήφια CdF1-CdF9 (έργο Τ2ΕΔΚ-00431) και τους αγρούς μελέτης CF1-CF4, που εντοπίστηκαν με τη χρήση της μεθοδολογίας τεχνικών τηλεπισκόπησης με την εφαρμογή του εφαρμογή του RED-Principal Component 1-NDVI) σε μια σύνθεση RGB. Η εικόνα είναι από το δορυφόρο WorldView-2 (05/2021).

2.2.2 Αξιολόγηση πρωτόκολλων απομόνωσης ολικών RNAs

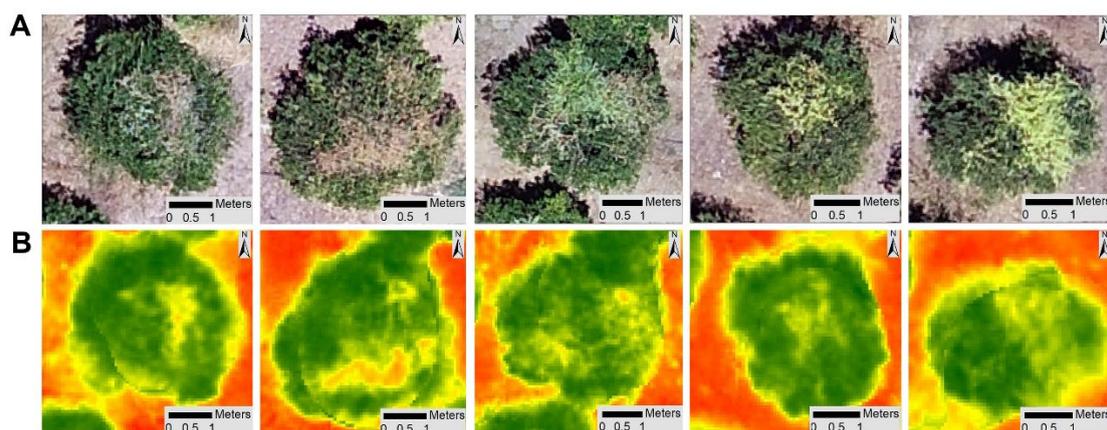
Η μεθοδολογία Trizol αναδείχθηκε ως αρκετά αξιόπιστη για την απομόνωση ολικών RNAs από φυτικό υλικό εσπεριδοειδών, καθώς ήταν επιτυχής στο σύνολο των δειγμάτων. Η ποιότητα των ολικών RNAs που απομονώθηκαν αξιολογήθηκε τόσο με ηλεκτροφόρηση τους σε πηκτική αгарόζης όσο και σε σπεκτροφωτόμετρο (nanodrop) [υπολογισμός της συγκέντρωσης και των δεικτών καθαρότητας (λόγοι A260/280, A260/230)]. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε κανένα από τα δείγματα δεν παρατηρήθηκε αποικοδόμηση του RNA (Εικόνα 1.3.1-11) και η πλειοψηφία των δειγμάτων έφερε υψηλή καθαρότητα (A260/280 >1,8-2,1).



Εικόνα 1.3.1-11. Ηλεκτροφόρηση RNAs σε πηκτή αгарόζης με τη μεθοδολογία Trizol.

2.2.3 Αξιολόγηση και επαλήθευση της μεθοδολογίας ανίχνευσης του CTV μέσω τηλεπισκόπησης με εργαστηριακές αναλύσεις

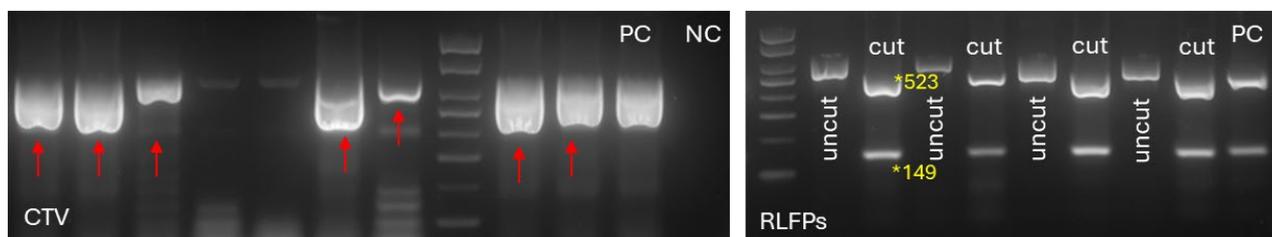
Η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε αρχικά με βάση τις τέσσερις περιοχές μελέτης CF1-CF4 από τη συνδυαστική χρήση διάφορων τεχνικών τηλεπισκόπησης σε δορυφορικές εικόνες υψηλής ανάλυσης και τη βελτιστοποίηση της στη παρούσα πράξη (χρήση αγρών CdF1-CdF9) επαληθεύτηκε κατόπιν επισκοπήσεων στους αγρούς που υποδείχθηκαν για δειγματοληψίες. Συνολικά συλλέχθηκαν 68 δείγματα από τα 18 υποψήφια αγροτεμάχια, ΥΑ-1 έως ΥΑ-18, που υπέδειξε η μέθοδος ως εν δυνάμει θετικά στην παρουσία του CTV. Στην διαδικασία αξιολόγησης της μεθοδολογίας χρησιμοποιήθηκε η εικόνα UAV για την αποτύπωση με μεγαλύτερη ευκρίνεια των αγρών (~0,25 m) για τον προσδιορισμό των τιμών του NDVI κυρίως στην κόμη των δένδρων (Εικόνα 1.3.1-12) προς σύγκριση με εκείνες από τις δορυφορικές εικόνες. Τα αποτελέσματα έδειξαν μικρή παραλλαγή στις τιμές του δείκτη βλάστησης NDVI μεταξύ εικόνας UAV και δορυφορικών εικόνων επιβεβαιώνοντας την αξιοπιστία της μεθόδου στη μέτρηση NDVI μέσω των δορυφορικών εικόνων.



Εικόνα 1.3.1-12. Δένδρα με την παρουσία του CTV και αποτύπωση του NDVI στο κανάλι RGB 3-2-1 (B) κατά τη χρήση εικόνας UAV (07/2022) (A). Τα πράσινα σημεία υποδηλώνουν υγιή βλάστηση.

Τα αποτελέσματα των μοριακών αναλύσεων παρουσιάζονται στο Πίνακα 1.3.1-2, τα οποία επιβεβαίωσαν την επιτυχή χρήση της μεθοδολογίας ως προς την έγκαιρη ανίχνευση του CTV μέσω τηλεπισκόπησης. Συγκεκριμένα οι αναλύσεις των 68 δειγμάτων ανέδειξαν την παρουσία του CTV (Εικόνα 1.3.1-13A) σε 17 αγρούς από τους 18 αγρούς (94,4%) σε 55 από τα 68 δένδρα (80,8%), ενώ κανένα από δείγματα που

συλλέχθηκαν από ένα αγροτεμάχιο δεν μπόρεσε να ανιχνευτεί ο CTV. Ίσως τα δείγματα που συλλέχθηκαν από αυτό το αγροτεμάχιο να μην τα καταλληλότερα (αρκετά ξυλοποιημένα) ή μπορεί να ήταν και εσφαλμένη υπόδειξη από την ανάλυση των χαρτών μέσω της μεθοδολογίας.



Εικόνα 1.3.1-13. Α. Ηλεκτροφορήσεις προϊόντων RT-PCR σε γέλη αγαρόζης του CTV. Αρνητικός μάρτυρας (NC), θετικός μάρτυρας (PC). Μ: δείκτης μοριακού βάρους ανά 100 bp. Με τα βέλη συμβολίζονται τα θετικά δείγματα με το αναμενόμενο προϊόν. Β. Ηλεκτροφόρηση DNA προϊόντων μετά από RFLP ανάλυση. Το "uncut" αναφέρεται στο αρχικό προϊόν της RT-PCR και το "cut" στο DNA προϊόν μετά από πέψη με το *KpnI* ένζυμο με την εμφάνιση του φαινότυπου δυο ζωνών.

Πίνακας 1.3.1-2. Υποψήφια αγροτεμάχια, αριθμός δειγμάτων και αποτελέσματα μοριακής ανίχνευσης του CTV.

Υποψήφια αγροτεμάχια	Έτος επισκόπησης	Ξενιστής	Αρ. δειγμάτων	RT-PCR
YA-1	2024 άνοιξη	Πορτοκαλιά	1	1 (100%)
YA-2	2024 άνοιξη	Πορτοκαλιά	2	2 (100%)
YA-3	2024 άνοιξη	Πορτοκαλιά	6	5 (83,3%)
YA-4	2024 άνοιξη	Πορτοκαλιά	3	2 (66,7%)
YA-5	2024 φθινόπωρο	Πορτοκαλιά	2	2 (100%)
YA-6	2024 φθινόπωρο	Βοτρυόκαρπος	3	2 (66,7%)
YA-7	2024 φθινόπωρο	Πορτοκαλιά	1	1 (100%)
YA-8	2024 φθινόπωρο	Βοτρυόκαρπος	2	1 (50%)
YA-9	2024 φθινόπωρο	Πορτοκαλιά	2	2 (100%)
YA-10	2024 φθινόπωρο	Πορτοκαλιά	2	0 (0%)
YA-11	2024 φθινόπωρο	Πορτοκαλιά	1	1 (100%)
YA-12	2024 φθινόπωρο	Πορτοκαλιά	9	8 (88,9%)
YA-13	2024 φθινόπωρο	Πορτοκαλιά	2	2 (100%)
YA-14	2025 άνοιξη	Πορτοκαλιά	1	1 (100%)
YA-15	2025 άνοιξη	Πορτοκαλιά	10	9 (90%)
YA-16	2025 άνοιξη	Πορτοκαλιά	5	4 (80%)
YA-17	2025 άνοιξη	Πορτοκαλιά	9	7 (77,8%)
YA-18	2025 άνοιξη	Πορτοκαλιά	7	5 (71,4%)
Σύνολο συλλεχθέντων δειγμάτων			68	55 (80,8%)

Η RFLP ανάλυση των DNA προϊόντων της RT-PCR με τη χρήση του περιοριστικού ενζύμου *KpnI* ανέδειξε την παρουσία του επιθετικού στελέχους από την Ταϊβάν με την παρουσία δυο ζωνών στα 523 και 149 bp (Εικόνα 1.3.1-13B).

2.2.4 Βελτιστοποίηση διαδικασίας μηχανικής μάθησης του ημι-αυτόνομου αλγόριθμου ανίχνευσης του CTV και εκτίμηση ακρίβειας

Κατά τη διάρκεια του έργου Τ2ΕΔΚ-00431 χρησιμοποιώντας τα επιβεβαιωμένα θετικά δείγματα με CTV για την εκπαίδευση και αξιολόγηση του αλγόριθμου μέσω μηχανικής μάθησης υπολογίστηκε η συνολική ακρίβεια (ΟΑ) έφτασε σε ποσοστό 89,7%, με τα στατιστικά Καρρα να είναι 0,85.

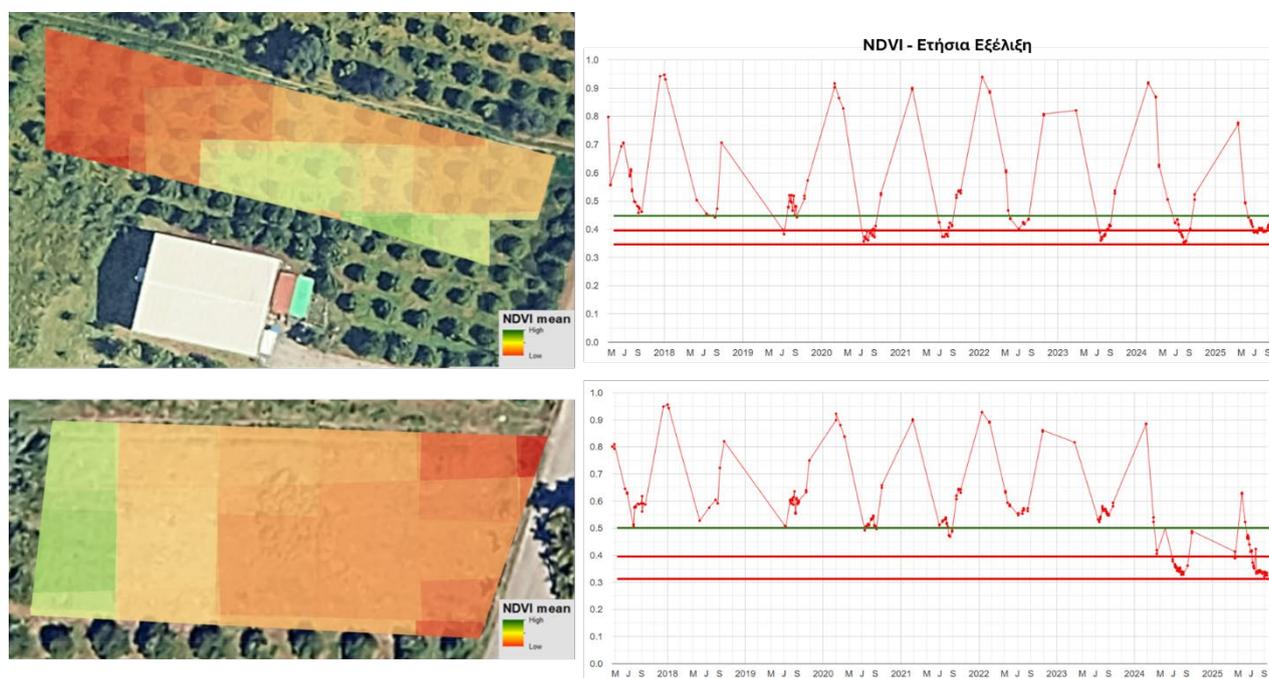
Κατά τη διάρκεια της παρούσας πράξης ΙνποΡΡ χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα των θετικών δειγμάτων από τις δειγματοληψίες για τη περαιτέρω εκπαίδευση του αλγόριθμου στην αναγνώριση του φαινότυπου δέντρων με την παρουσία του CTV. Συγκεκριμένα τα δεδομένα από τους 12 αγρούς χρησιμοποιήθηκαν σταδιακά το 2024 και 2025 για την τροφοδότηση μηχανικής μάθησης για τη βελτιστοποίηση του αλγόριθμου. Ο αλγόριθμος RF εφαρμόστηκε κατόπιν στην εικόνα UAV, με τις κοκκινωπές αποχρώσεις στον Πίνακα 1.3.1-3 ως το αποτέλεσμα του RF, να υποδεικνύει τα δέντρα που έχουν μολυνθεί από CTV και να συμπίπτουν με τα δεδομένα των εργαστηριακών αναλύσεων των υπόλοιπων πέντε αγρών (YA-3, YA-12, YA-15, YA-16, YA-17) που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της ακρίβειας της ταξινομημένης RF εικόνας. Βάσει την εικόνας RF η φαινοτυπική ποικιλομορφία που αντιστοιχεί στο CTV ήταν ανιχνεύσιμη. Η ΟΑ προσδιορίστηκε εκ νέου μετά την βελτιστοποίηση εκπαίδευσης του αλγόριθμου η οποία έφτασε σε ποσοστό 91,8%, με τα στατιστικά Καρρα να είναι 0,89, επαληθεύοντας ότι ο RF αλγόριθμος ήταν αποτελεσματικός με καλή συμφωνία στην ανίχνευση δέντρων μολυσμένων από CTV χρησιμοποιώντας τις εικόνες UAV.

Πίνακας 1.3.1-3. Αποτελέσματα μηχανικής μάθησης του RF αλγόριθμου με χρήση των πέντε υποψήφιων αγρών (YA-3, YA-12, YA-15, YA-16, YA-17) στην παρουσία του CTV, χρησιμοποιώντας την εικόνα UAV (07/2022). Οι κοκκινωπές αποχρώσεις υποδηλώνουν τα μολυσμένα δένδρα με CTV.

Field	FCC (RGB 321)	Random Forest
YA-15		
YA-3		

2.2.5 Πρόωρη απεικόνιση εξέλιξης της ασθένειας από το CTV σε χρονοσειρές

Στο πλαίσιο του έργου ΙηποPP χρησιμοποιήθηκαν επίσης οι πολυφασματικές εικόνες του δορυφόρου Sentinel-2 για τη δημιουργία των χρονοσειρών NDVI που καλύπτουν την περίοδο από το 2017 έως το 2025 εντός του περιβάλλοντος GEE (Εικόνα 1.3.1-14). Οι τιμές NDVI κυμαίνονταν από 0,35 έως 0,96 στο YA-15 και από 0,31 έως 0,96 στο YA-4 (Εικόνα 1.3.1-14). Η παρατηρούμενη μείωση των τιμών NDVI κατά τη διάρκεια των ετών χρησίμευσε ως ενδεικτικός δείκτης για τον προσδιορισμό της αρχικής παρουσίας μόλυνσης από CTV σε αυτά τα συγκεκριμένα χωράφια. Το μοτίβο χρονικής διακύμανσης, που εντοπίστηκε μέσω της ανάλυσης των εικόνων Sentinel-2, παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τη δυναμική της υγείας της βλάστησης που σχετίζεται με το CTV κατά τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο και την επιδημιολογική της εξέλιξη κατά τη διάρκεια των ετών στην ευρύτερη περιοχή. Στις εικόνες αριστερά ο κόκκινος χρωματισμός απεικονίζει τα σημεία με χαμηλό μέσο όρο τιμών του NDVI και την διαταραχή της υγιούς βλάστησης. Η πράσινη γραμμή υποδεικνύει τις τιμές NDVI πάνω από τις οποίες υπάρχει υγιής βλάστηση, η κόκκινη γραμμή την πτώση τιμών NDVI λόγω παρουσίας στρες από την ασθένεια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και στα δυο αγροτεμάχια η εμφάνιση του ιού ξεκινά νωρίτερα με την πρώτη διαφοροποίηση και πτώση των τιμών του NDVI. Συγκεκριμένα στο YA-15 η πτώση ξεκινά το 2019, σχεδόν έξι χρόνια νωρίτερα από την ανίχνευση του παθογόνου εργαστηριακά κατόπιν δειγματοληψιών το 2025 (Εικόνα 1.3.1-14).



Εικόνα 1.3.1-14. Απεικόνιση κατά τη διαχρονική σύγκριση του δείκτη NDVI μέσω των δορυφορικών εικόνων Sentinel-2, για την περίοδο 2017-2025, στα ενδεικτικά αγροτεμάχια YA-15 (πάνω) και YA-4 (κάτω) όπου είχε ανιχνευτεί ο CTV το 2025 και 2024 αντίστοιχα.

3 ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά τα αποτελέσματα της τελικής έκθεσης του παραδοτέου σχετικά με τη χρήση χαρτογραφημένων αγρών και δορυφορικών εικόνων με τεχνικές τηλεπισκόπησης ανέδειξαν την επιτυχή ανάδειξη υποψήφιων αγρών με την παρουσία του CTV. Συγκεκριμένα η έρευνα του Π1.3.1 έδειξε:

- την περαιτέρω βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας συνδυαστικών μεθόδων τηλεπισκόπησης για τον εντοπισμό νέων υποψήφιων αγρών με την παρουσία του ιού CTV. Η αξιοπιστία της μεθοδολογίας αυξήθηκε στο 94,4% έναντι του 88,9% που ήταν κατά την υλοποίηση του Τ2ΕΔΚ-00431
- την σημαντική συμβολή χρήσης πολύ υψηλής ευκρίνειας εικόνων UAV για τον εντοπισμό σε επίπεδο συγκεκριμένων δέντρων στους εν δυνάμει προσβεβλημένους αγρούς με τον CTV. Η χρήση των εικόνων UAV αποτελεί μια ευκολότερη χαρτογράφηση περιοχών ενδιαφέροντος με χρήση drones με υψηλότερη ανάλυση, χαμηλότερο κόστος από την αγορά δορυφορικών εικόνων και σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή θεωρηθεί απαραίτητο, με βασική μειονέκτημα την κάλυψη μικρότερων εκτάσεων εν αντιθέση με τις δορυφορικές εικόνες
- την περαιτέρω εκπαίδευση μηχανικής μάθησης του αλγόριθμου για την ανάπτυξη ενός ημι-αυτόνομου συστήματος για τον εντοπισμό αγρών με δένδρα μολυσμένα με τον CTV μέσω ενός συνδυασμού χρήσης δορυφορικών εικόνων και τεχνικών τηλεπισκόπησης με υπολογισμό του δείκτη NDVI. Η εκτίμηση ακρίβειας της μεθοδολογίας πλέον αυξήθηκε σε πολύ υψηλότερα ποσοστά φτάνοντας σχεδόν το 92%. Η εφαρμογή του συγκεκριμένου αλγόριθμου βασίζεται στη χρήση εικόνων UAV παρέχοντας την υψηλότερη ευκρίνεια από τις δορυφορικές εικόνες
- την δυνατότητα χρήσης χρονοσειρών δορυφορικών εικόνων (χαμηλότερης ευκρίνειας) για τον εντοπισμό των περιόδων αρχικής εμφάνισης του CTV και τις περιόδους που βρίσκεται σε έξαρση, καθώς και μελέτη της επιδημιολογίας του παθογόνου χρονικά και χωρικά,
- δυνατότητα χρήσης και υιοθέτησης της μεθοδολογίας ως ένα χαμηλού κόστους εργαλείο σε κυβερνητικούς φορείς και φορείς μηχανισμών ελέγχου φυτοϋγείας για τον προσδιορισμό έγκαιρης διάγνωσης παρουσίας του παθογόνου επιτρέποντας στους ειδικούς συγκεκριμένες και στοχευμένες επισκοπήσεις για εφαρμογή μέτρων ελέγχου και περιορισμού της ασθένειας

Τα ευρήματα αυτά αποτελούν καινοτόμο γνώση για την έγκυρη και πρόωρη πρόβλεψη παρουσίας του CTV για την λήψη άμεσων μέτρων αποφυγής ή εξάπλωσης επιδημιών στα εσπεριδοειδή. Οι συνεχείς βελτιστοποιήσεις του αλγόριθμου θα επιτρέψουν τη δημιουργία μιας ηλεκτρονικής εφαρμογής μέσω τεχνητής νοημοσύνης (AI) προσβάσιμη σε παραγωγούς για την παρακολούθηση του ιού CTV αποτελούν μελλοντικό στόχο για τη συνέχεια του έργου και του συγκεκριμένου παραδοτέου.

4 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Βιβλιογραφικές Αναφορές

1. Adelabu S., Mutanga O., Adam E. (2014). Evaluating the impact of red-edge band from Rapideye image for classifying insect defoliation levels. *ISPRS J. Photogramm. Remote Sens.* 95, 34–41.
2. Belgiu M., Dragut L. (2016). Random forest in remote sensing: A review of applications and future directions. *ISPRS J. Photogramm. Remote Sens.* 114, 24–31.
3. Breiman L. (2001). Random Forests. *Mach. Learn.* 45, 5–32.
4. Chan J.C.W., Paelinckx D. (2008). Evaluation of Random Forest and Adaboost tree-based ensemble classification and spectral band selection for ecotope mapping using airborne hyperspectral imagery. *Remote Sens. Environ.* 112, 2999–3011.
5. Feng Z., Zhang H., Duan J., He L., Yuan X., Gao Y., Liu W., Li X., Feng W. (2023). Improved Spectral Detection of Nitrogen Deficiency and Yellow Mosaic Disease Stresses in Wheat Using a Soil Effect Removal Algorithm and Machine Learning. *Remote Sens.* 15, 2513.
6. Fletcher R.S., Skaria M. (2004). Response of ratio vegetation indices to foot rot-infected citrus trees. Evaluating airborne normalized difference vegetation index imagery for citrus orchard surveys. *Int. J. Remote Sens.* 25, 3967-3972.
7. Jia X., Richards J.A. (1999). Segmented Principal Components Transformation for Efficient Hyperspectral Remote-Sensing Image Display and Classification. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing.* 37, 538–542.
8. Mathioudakis M.M., Saponari M., Hasiów-Jaroszewska B., Elbeaino T., Koubouris G. (2020). Detection of viruses in olive cultivars in Greece, using a rapid and effective RNA extraction method, for certification of virus-tested propagation material. *Phytopathol. Mediterr.* 59, 203-211.
9. Moreno P., Ambrós S., Albiach-Martí M.R., Guerri J., Peña L. (2008) Citrus tristeza virus: a pathogen that changed the course of the citrus industry. *Mol. Plant Pathol.* 9, 251–268.
10. Nolasco G., Sequeira Z., Soares C., Mansinho A., Bailey A.M., Niblett C.L. (2002). Asymmetric PCR ELISA: increased sensitivity and reduced costs for the detection of plant viruses. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, 293-298.
11. Santoro F., Gualano S., Djelouah K., Guarino A., D'Onghia A.M. (2009). Remote sensing to support the monitoring of Citrus tristeza virus (CTV) infected areas. In: D'Onghia A.M. (ed.), Djelouah K. (ed.), Roistacher C.N. (ed.). Citrus tristeza virus and Toxoptera citricidus: a serious threat to the Mediterranean citrus industry. *Bari: CIHEAM, 2009. pp. 165-171.*
12. Tennant P.F., Robinson D., Fisher L., Bennett S.M., Hutton D., Coates-Beckford P., McLaughlin W. (2009). Diseases and pests of citrus (*Citrus* spp.). *Tree For Sci Biotech* 3, 81–107.

13. Vanella D., Consoli S., Ramirez-Cuesta J.M., Tessitori M. (2020). Suitability of the MODIS_NDVI time series for a posteriori evaluation of the Citrus Tristeza Virus epidemic. *Remote Sensing* 12, 1-20.
14. Zarco-Tejada P.J., Hornero A., Beck P.S.A., Kattenborn T., Kempeneers P., Hernández-Clemente R. (2019). Chlorophyll content estimation in an open-canopy conifer forest with Sentinel-2A and hyperspectral imagery in the context of forest decline. *Remote Sens. Environ.* 223, 320–335.
15. Zhang J., Huang Y., Pu R., Gonzalez-Moreno P., Yuan L., Wu K., Huang W. (2019). Monitoring plant diseases and pests through remote sensing technology. A review. *Comput. Electron. Agric.* 165, 104943I.