

.....

**Katarina MARTINKO**

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za fitopatologiju, Odsjek za fitomedicinu.

kmartinko@agr.hr

## DIGITALNI ALATI ZA PROCJENU JAČINE ZARAZE BILJAKA

### SAŽETAK

Negativni ekološki i ekonomski učinci pesticida rastu s njihovom prekomjernom primjenom, što je posljedica pogrešne procjene jačine zaraze biljaka. Pogrešna procjena dovodi do provođenja neadekvatnih metoda suzbijanja biljnih patogena i aplikacije prekomjernih doza pesticida u poljoprivrednoj praksi. U svrhu održive zaštite bilja, objektivna i ispravna procjena jačine zaraze biljaka te donošenje odluke o suzbijanju patogena, dugoročno se smatra isplativom metodom. Osim toga, pouzdane procjene jačine zaraze važne su i za predviđanje gubitka prinosa, oplemenjivanje biljaka, praćenje patogena i razvoja otpornosti na pesticide. Suvremene digitalne tehnike preteča su klasičnim tehnikama, kao što su vizualni pregledi koji koriste ljestvice (skale) s određenim numeričkim rasponom. Digitalne tehnike za kvantifikaciju bolesti na biljkama koriste digitalne slike poput fotografija, sken-slika i hiperspektralnih slika, međutim takva procjena ovisi o kvaliteti i karakteristikama slike koja se analizira. Napretkom tehnologije razvijeni su računalni programi (*software*), a u novije vrijeme i aplikacije za pametne mobitele za brže i preciznije određivanje jačine zaraze biljaka. Aplikacija *Leaf Doctor* inovativna je poluautomatska tehnika čija primjena reducira vrijeme i napor uloženi u procjenu jačine zaraze u terenskim istraživanjima. Ovim preglednim radom predstaviti će se poznate karakteristike digitalnih tehnika za procjenu jačine zaraze biljnih bolesti te navesti kriteriji za preciznu kvantifikaciju simptoma na temelju digitalnih slika. Usporedbom računalnog programa (*ImageJ*) i mobilne aplikacije (*Leaf Doctor*) s klasičnim pristupom (vizualnim pregledom biljaka), stiče se uvid u mogućnosti bržeg, jednostavnijeg i preciznijeg određivanja stupnja bolesti biljaka, što je važno u fitopatološkim istraživanjima te dugoročno isplativo za biljnu proizvodnju.

**Ključne riječi:** jačina zaraze, *Leaf Doctor*, *ImageJ*, vizualni pregled, fitopatogeni, digitalne tehnikež

### UVOD

Prekomjerna uporaba sredstava za zaštitu bilja (SZB) povećava opasnost od toksičnih ostataka na poljoprivrednim površinama i proizvodima zbog čega se njihovo korištenje mora svesti na minimum. U svrhu održive poljoprivredne

proizvodnje, točna procjena jačine zaraze biljnih bolesti i donošenje odluke o primjeni SZB-a, dugoročno je isplativa metoda u redukciji štetna djelovanja ovih kemijskih supstanci (Patil i sur., 2011.; Pethybridge i Nelson, 2015.). Osim što je najvažniji, procjena jačine zaraze je i najzahtjevniji kriterij u fitopatologiji na temelju kojeg se može donijeti ispravna odluka o upravljanju biljnim bolestima (Gaunt, 1995.; Kranz 1988.; Pethybridge i Nelson, 2015.; Alheeti i sur., 2021.). Osim za odluku o primjeni SZB-a, pouzdane procjene jačine zaraze važne su i za predviđanje gubitka prinosa, praćenje i predviđanje razvoja bolesti te razvoja otpornosti patogena na bolesti (Bock i sur., 2010.). Suvremene tehnike procjene zaraze vrijedan su alat u fitopatološkim istraživanjima, a njihovim daljnjim usavršavanjima i obukom poljoprivrednika povećava im se mogućnost svakodnevnog korištenja i u integriranoj biljnoj proizvodnji.









### Vizualne procjene jačine zaraze

Uobičajeni je pristup kvantificiranju jačine zaraze procjena njezine ozbiljnosti definirane kao površina zaražena (simptomatična) tkiva u odnosu na ukupnu površinu biljnog tkiva (Nutter i sur., 1991.). Kod biljaka koje su zaražene patogenima čiji su simptomi uočljivi na listovima, jačina zaraze može se izraziti kao broj lezija po jedinici površine lista. Takvi simptomi uočljivi su vizualnim pregledom – tradicionalnom tehnikom procjene zaraze koja je podložna pristranosti i pogreškama u percepciji od strane osobe koja provodi vizualni pregled (ocjenjivača) (Pethybridge i Nelson, 2015.). U posljednjih trideset godina postignuti su veliki pomaci u identificiranju izvora pogrešaka u vizualnom ocjenjivanju, a pogreške se mogu smanjiti obukom ocjenjivača ili korištenjem pomagala za ocjenjivanje. Stoga, većina istraživanja čiji je cilj procjena jačine zaraze biljnih bolesti, koristi ručne laboratorijske metode koje zahtijevaju kvalificirane biljne patologe (Sibiya i Sumbwanyambe, 2019.). Zbog subjektivnosti ocjenjivača, pogrešna percepcija negativno utječe na konačnu procjenu (Alheeti i sur., 2021.). Također, pouzdanost ocjenjivača unutar grupe može biti promjenjiva, osobito ako se ne koriste pomagala ili ocjenjivači nisu prošli stručnu obuku (Bock i sur., 2010.).

Tijekom posljednjih osamdeset godina prihvatljiva točnost i preciznost vizualnih procjena bolesti često se postizala korištenjem tehnika izravnih i neizravnih procjena jačine zaraze kvantitativnim mjerenjima, odnosno ljestvicama za određivanje bolesti (Madden i sur., 2007.; Stump, 2015.; Alheeti, 2016.; Alheeti i sur., 2021.) koje koriste definirane numeričke raspone (Shah i Madden, 2004.; Bock i sur., 2010.) Jedna je od najpoznatijih ljestvica Horsfall-Barrattova ljestvica (Horsfall i Barratt, 1945.) prema kojoj se svakoj biljci dodjeljuje brojčana vrijednost prema postotku lisne površine koja pokazuje simptome bolesti, a osmišljena je kako bi se kompenzirala pogreška ocjenjivača

u procjeni zaraze prisutne bolesti (slika 1). Takve tehnike, koje koriste ljestvice, primijenjene su u brojnim istraživanjima zbog lakoće kojom se mogu naučiti te zbog praktičnosti i brzine ocjenjivanja, ali suvremena istraživanja upozoravaju na nedostatke u njihovoj upotrebi (Bock i sur., 2010.; Chiang i sur., 2020.). Jedan od primjera je to što ocjenjivač možda nije sposoban lako razlikovati razlike unutar redne klase (*index*) definirane ljestvicom (Chiang i sur., 2020.). U tim tradicionalnim načinima procjene jačine zaraze, stručnjaci za procjenu najprije moraju doći do polja i procijeniti jačinu zaraze promatranjem golim okom. Tako određene terenske kvantifikacije ipak imaju ograničenja zbog napora, diskontinuiranosti, donekle proizvoljnih i nepreciznih procjena ovisno o varijacijama simptoma biljnih bolesti (Alheeti i sur., 2021.). Isto tako, više ocjenjivača može dodijeliti različite ocjene (*index*) za istu biljku zbog različite percepcije i neosjetljivosti tehnike za razlikovanje suptilnih varijacija boja simptoma na biljnim organima (Nutter i sur., 1993.; Pethybridge i Nelson, 2015.; Atoum i sur., 2016.). Procjene bolesti, koje su netočne i/ili neprecizne dovode do pogrešnih zaključaka i do prekomjerna korištenja SZB-a u svrhu suzbijanja biljnih bolesti (Bock i sur., 2010.).

Horsfall-Barrattova skala (1945.)

Index	Zaražena (simptomatska) površina lista (%)					
1	0	}				
2	0 - 3		1,9 %	10,8 %	34,6 %	59,8 %
3	3 - 6					
4	6 - 12					
5	12 - 25					
6	25 - 50					
7	50 - 75					
8	75 - 87					
9	87 - 94					
10	94 - 97					
11	97 - 100					
12	100					
						
			2 (0 – 3 %)	4 (6 – 12 %)	6 (25 – 50 %)	7 (50 – 75 %)

**Slika 1.** Shematski prikaz određivanja jačine zaraze listova jagode i graha sa simptomima gljivične pjegavosti i bakteriozne pjegavosti, prema Horsfall-Barratovoj skali (izradila K. Martinko)

### Digitalne tehnike za procjenu jačine zaraze

Primjene digitalnih tehnika sve su više nezaobilazan alat u integriranoj zaštiti bilja (Sibiya i Sumbwanyambe, 2019.). Potrebno je razmotriti nove tehnologije koje omogućuju procjenu zaraze biljaka s većom objektivnošću, što dovodi do pouzdanosti, preciznosti i točnosti. Posljednjih trideset godina, od kada su računalni programi postali sofisticiraniji i jednostavniji za korištenje, sve se više koristi tehnika analize digitalnih slika (sken-slike, hiperspektralne slike,

fotografije) (Nutter i Schultz, 1995.; Bock i sur., 2010.), a sve su popularnija kvantificiranja digitalnih slika korištenjem modernih informacijskih sustava za automatske i poluautomatske metode mjerenja jačine zaraze biljaka. Mjerenja utemeljena na fotografijama daju kvantitativne podatke, zbog čega je procjena objektivnija i točnija od vizualne procjene (Laflamme i sur., 2016.; Mutka i Bart, 2015.; Pride i sur., 2020.), kao i hiperspektralne slike (Bock i sur., 2010.) koje su se sve češće počele primjenjivati i u tu svrhu u području biljne patologije. Digitalne tehnike privukle su zanimanje mnogih istraživača jer su automatske i ekonomski pristupačne (Lamari, 2002.; Barbedo, 2014.; Alheeti i sur., 2021.), a Pethybridge i Nelson izvijestili su da je obuka za korištenje računalnog programa poboljšala sposobnost polaznika da točno procijene jačinu zaraze. Stoga je tehnologija obrade digitalnih slika prikladnija i preciznija jer eliminira subjektivnost tradicionalnih metoda i pogreške uzrokovane ljudskim djelovanjem. Razine primjene digitalnih tehnika daljinskog očitavanja kretale su se od neograničenih raspona veličina biljnih populacija do ograničenih i pojedinačnih segmenata korištenjem profesionalnih kamera ili pametnih telefona. U navedenom procesu kvantifikacije, digitalne slike obrađuju se i analiziraju na računalima ili pametnim telefonima s pomoću različitih programa koji omogućuju mjerenje jačine zaraze putem određivanja površine zaražena dijela biljke (Alheeti i sur., 2021.). Uzimajući u obzir popularnost i sve nižu cijenu kamera, pristup utemeljen na računalnoj procjeni može biti ispravan izbor za sustav ocjenjivanja u kojemu se slike biljaka analiziraju i ocjenjuju na automatiziran, dosljedan i učinkovit način. Nažalost, čini se da poljoprivrednoj industriji nedostaju takve vrste komercijalnih sustava. U istraživačkoj zajednici većina studija usmjerena je samo na otkrivanje ili klasificiranje jačine zaraze iz uvećanog i dobro kontroliranog prikaza fotografija listova (Bauer i sur., 2009.; Rumpf i sur., 2010.; Al-Hiary i sur., 2011.; Shen i sur., 2008.; Atoum i sur., 2016.). Iako takvi pristupi na razini listova pojednostavljuju problem klasifikacije, teško ih je usvojiti u praksi zbog strogih zahtjeva za dobivanje kvalitetne slike. Osim toga, ocjene pojedinačnih listova nisu se pokazale pouzdanima za procjenu jačine zaraze biljaka u usporedbi s ocjenom cijele biljke, kako ističu Vereijssen i sur. (2003.), no svakako daju pouzdaniji rezultat od klasičnih tehnika procjena jačine zaraze. Alternativno, digitalne slike cijelih biljaka mogu se dobiti u poljima s pomoću bespilotne letjelice ili traktora. Međutim, automatsko ocjenjivanje slika na razini biljke izazovno je. Različiti svjetlosni uvjeti u različitim vremenskim uvjetima pridonose velikim varijacijama u prikazu simptoma na slikama. Zasjenjenja mogu sakriti detalje što otežava analizu simptomatskih površina biljaka, a uginule biljke iz zraka je teško razlučiti zbog pozadine tla jer se često mogu zamijeniti s tlom. Zrcalna refleksija od sunca u zdravih listova pokazuje svjetliju nijansu žute boje koja je normalno prisutna oko zaraženih listova, povećavajući mogućnost zabune (Atoum i sur., 2016.). Slike su vrlo dobar vizualni podatak, međutim mjerenjima na temelju

digitalnih slika ne mogu se razlikovati različite bolesti i simptomi uzrokovani različitim čimbenicima (npr. bolest uzrokovana biotskim čimbenikom u odnosu na abiotski stres), a kvaliteta slike može utjecati na procjenu i točnost mjerenja. Bez obzira na neprilagođenosti digitalnih tehnika, u odnosu na ljestvice i vizualni pregled, može se reći da je navedena tehnologija u poljoprivrednim istraživanjima dovela do značajna pomaka u razvoju preciznih metoda za procjenu jačine zaraze biljnih bolesti. Uz napredak tehnologije, i usavršavanje digitalnih tehnika za procjenu zaraze biljaka pomoći će poljoprivrednicima pri odluci o pragu odluke za primjenu SZB-a, čime se smanjuju troškovi i zagađenje okoliša (Patil i sur., 2011.).

### Simptomi pjegavosti na listovima biljaka za procjenu jačine zaraze

Bolesti biljaka mogu uzrokovati mnoge tipove simptoma. Iako se simptomi mogu pojaviti na cijeloj biljci ili samo na jednom organu biljke, širok spektar biljnih patogena uzrokuje simptome na listovima (Pride i sur., 2020.). Nekoliko istraživača, poput Sannakkija i sur. (2011.), bili su pioniri u procjeni jačine zaraze biljaka korištenjem računala za obradu fotografije s prikazanim simptomima na listovima. Sun i sur. (2014.) te Wang i sur. (2017.) bavili su se pitanjem procjene jačine zaraze koristeći skup slikovnih podataka simptoma kao što je trulež ploda jabuke. Navedeni autori, u svojoj studiji koristili su model s najboljom izvedbom, koji je postigao točnost od 90,4 %. Usjevi lisnatog povrća zahvaćeni su raznim bolestima koje uzrokuju simptome pjegavosti listova. Primjeri su takvog povrća blitva i salata koje mogu biti zaražene fitopatogenim gljivama iz roda *Cercospora* i *Bremia*. Simptome pjegavosti lista blitve karakterizira pojava malih sivih pjega okruženih aureolom u početku crvene boje, a s napretkom bolesti, prelaze u smeđu boju te se spajaju, što dovodi do povećanja pjega (Franc, 2010.; Koike i sur., 2010.). Plamenjača salate još je jedna ekonomski značajna bolest kod koje se simptomi infekcije pojavljuju u obliku uglastih lezija na licu lista, dok se na naličju lista uočava pepeljasto siva prevlaka zbog sporulacije gljive. S napredovanjem bolesti, povećava se broj i veličina pjega, zbog čega je često zahvaćena velika lisna površina koja postaje žuta zbog kloroze i u konačnici smeđe obojena kad nastupi nekroza (Kushalappa i sur., 2001.). Osim na navedenim bolestima, digitalne tehnike za procjenu zaraze ispitane su i na lisnim bolestima koje uzrokuju patogene gljive *Phomopsis sp.* na kupini, *Pseudoperonospora cubensis* na krastavcu (Pride i sur., 2020.), *Exserohilum sp.*, *Cercospora sp.* i *Puccinia sorghi* na kukuruzu (Pethybridge i Nelson, 2015.) te patogene bakterije *Pseudomonas sp.* na rajčici (Pride i sur., 2020.). Takve bolesti čiji su simptomi izraženi bojom i oblikom lezije na listu, dobar su primjer za procjenu jačine zaraze korištenjem digitalnih tehnika. Za održivu poljoprivrednu proizvodnju i s obzirom na navedene lisne bolesti, potrebna je brza i precizna procjena jačine

zaraze, što dovodi do predviđanja gubitka prinosa, procjenu otpornosti domaćinskih biljaka i proučavanje interakcije biljni domaćin-patogen. Uvedene digitalne tehnike za kvantifikaciju na temelju fotografija simptoma uvelike su značajne kod lisnih zaraza, a osobna vještina i stručnost imaju važnu ulogu u izvedbi analiziranja fotografije (Alheeti i sur., 2021.).

### **Računalni programi i mobilne aplikacije za procjenu jačine zaraze**

Troškovi i potrebni alati za provođenje digitalne procjene jačine zaraze minimalni su. U tu svrhu potreban je uređaj za izradu digitalnih slika (fotoaparati, pametni telefon ili plošni skener) te aplikacija ili računalni program s pomoću kojih se provodi kvantifikacija digitalnih slika (Pride i sur., 2020.). Zanimljivo je da se korištenjem iste aplikacije ili programa može izvršiti više izmjera kao što je mjerenje zaražene površine, određivanje postotka jačine zaraze i broja pjega na biljnim organima (listovima). Na primjer, korisnik aplikacije može kvantificirati opseg vidljive štete od insekata na drvetu ili analizirati zračnu fotografiju polja biljaka. Korisnik također može kvantificirati naoblaku na fotografiji neba (Pethybridge i Nelson, 2015.; Pride i sur., 2020.). Potaknuti navedenim potrebama, Pethybridge i Nelson (2015.) dizajnirali su interaktivnu aplikaciju za pametne telefone pod nazivom *Leaf Doctor* koja se koristi za razlikovanje zaraženih od zdravih biljnih tkiva i izračunavanje postotka jačine zaraze biljaka. Ta je aplikacija besplatna i dostupna za pametne telefone (Alheeti i sur., 2021.). S druge strane, *ImageJ* je računalni program otvorena pristupa baziran na Javi koji je razvio Državni institut za zdravlje u SAD-u (*National Institutes of Health*, NIH). Riječ je o jednom od računalnih programa (*software*) za obradu fotografija koji je korišten u brojnim znanstvenim istraživanjima (Al-Saad i Hussain, 2018.; Alheeti i sur., 2021.). Općenito, računalni programi za analizu digitalnih slika dizajnirani su posebno za potporu istraživačkim ciljevima u fitopatologiji (Kwacket sur. 2005.; Lindow i Webb, 1983.; Patil i Bodhe, 2011.). Istraživanjem Alheeti i sur. (2021.), program *ImageJ* i aplikacija *Leaf Doctor* uspoređene su s vizualnom procjenom kako bi se procijenila pouzdanost računalnog programa i aplikacije za procjenu jačine zaraze. Preciznost i robusnost aplikacije i programa procjenjivane su obrađujući fotografije različita spektra bolesti čiji su simptomi lezije različitih veličina. Rezultati istraživanja pokazali su da je procjena jačine zaraze aplikacijom *Leaf Doctor* lakša, brža, pouzdanija i točnija bez obzira na vrstu bolesti. Potvrđene rezultate o osjetljivosti aplikacije naspram klasičnih metoda procjene donosi i istraživanje de Almeida i sur. (2021.) koje sugerira potencijal aplikacije u oplemenjivanju biljaka na temelju procjene jačine zaraze među genotipovima.

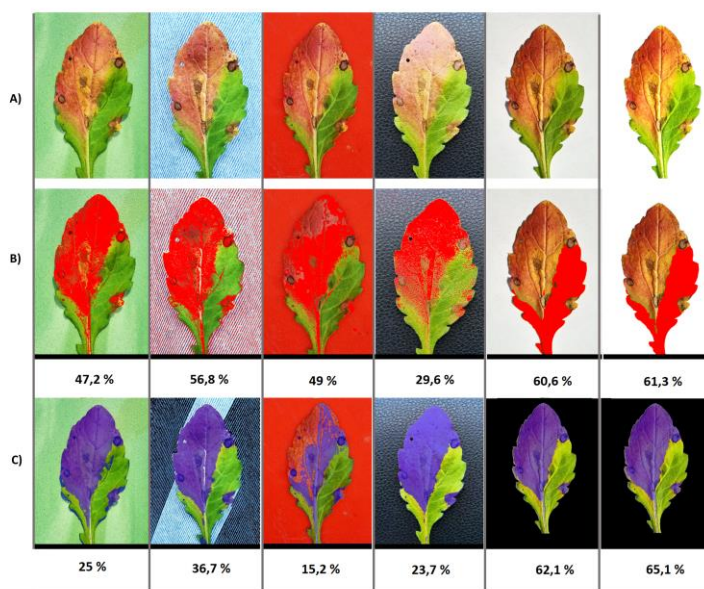
---

## Karakteristike računalnih programa i aplikacija za procjenu jačine zaraze

Korištenje računalnih programa za obradu i analizu digitalnih slika zahtijeva osnovnu računalnu pismenost. Dobivanje visokokvalitetnih slika ključno je za kvalitetu tumačenja i kvantitativna mjerenja. Slike visoke kvalitete također mogu značajno uštedjeti vrijeme potrebno za njihovu obradu. Skenirane slike imaju nekoliko prednosti u odnosu na fotografije, a uključuju bolju dubinu boje, ravnomjerno osvjetljenje, izostanak optičkog izobličenja i minimiziranje učinaka zakrivljenosti lista. Primjerice, da bi se dobila slika visoke kvalitete, potrebno je koristiti ravni skener umjesto fotoaparata. U protivnom navedene karakteristike slike (sjena, izobličenje, zakrivljenost) mogu negativno utjecati na procjenu. Ako se kao digitalne slike koriste fotografije, tada je preporuka koristiti visokokvalitetne fotografije, tj. fotografije razlučivosti od 300 dpi ili više. U slučaju fotografiranja u zatvorenu prostor, preporučuje se polaganje listova na pozadinu visokog kontrasta (npr. bijeli komad papira) ili naknadno uklanjanje pozadine korištenjem *photoshopa*. Ako se fotografiranje provodi na otvorenom, savjetuje se fotografiranje za vrijeme oblačnog dana ili prilagoditi kut kamere koji smanjuje duboke sjene na površinama biljnog materijala koji se fotografira (Pride i sur., 2020.). Prednosti aplikacije u odnosu na računalne programe očituju se u brzini obradi fotografija, niskoj cijeni i jednostavnosti korištenja. Nakon jednog su sata obuke ocjenjivači koji su koristili aplikaciju postali svjesni svoje pristranosti i mogli su prilagoditi svoj pristup u obuci, a ne prilikom uzorkovanja tijekom terenskih eksperimenata. Takvi napredci u obuci dovode do poboljšanja u procesima automatizacije za fitopatometriju koja smanjuju subjektivne pogrešne procjene (Pethybridge i Nelson, 2015.). S pojavom računalnih programa otvorenog pristupa za analizu fotografija putem besplatnih platformi (kao što je program *ImageJ*) (Abramoff i sur., 2004.) korisnici mogu konstruirati makronaredbe u svrhu specifične obrade fotografija simptomatičnih biljaka ili njihovih dijelova (Wijekoon i sur., 2008.). Ovaj makro pristup zahtijeva od korisnika dovoljno vještina računalnog programiranja i vremena za dodjeljivanje različitih makronaredbi za različite bolesti. Fotografiranje za takve računalne programe uvjetuje korištenje listova ili drugih biljnih organa sa simptomima koji se fotografiraju pojedinačno na crnoj, nereflektirajućoj pozadini. Alternativno, fotografija se može modificirati s pomoću računalnog programa za uređivanje fotografija kako bi se stvorila crna pozadina koja potpuno okružuje područje interesa (npr. list), ili potpuno ukloniti. Međutim, na terenu ocjenjivač treba fotografirati u sjeni, za što može poslužiti kišobran ili gusta krošnja, te, ako je moguće, isključiti bljeskalicu mobilnog uređaja prilikom fotografiranja. Takav način fotografiranja smanjuje reflektirano svjetlo s površine listova, što može promijeniti prirodne boje površine lista i zakomplicirati procjenu jačine zaraze. Reflektirano svjetlo može biti problematično za analizu slike na listovima koji imaju voštanu (sjajnu)

površinu jer smanjuje sposobnost ocjenjivača da razlikuje boje povezane s oboljelim i zdravim područjima na listovima. Na primjer, za bolesti kod kojih simptomi uključuju dvije kontrastne boje, kao što je nekroza (tamne nijanse smeđe boje) i kloroze (nijanse žute boje), korisnici aplikacije *Leaf Doctor* mogu kvantificirati biljnu bolest uključivanjem područja zahvaćena s oba simptoma ili isključivanjem jednog ili drugog simptoma iz analize. Taj sustav također omogućuje korisnicima da odaberu žile lista koje često imaju drugačiji spektralni potpis od onih dijelova lista koji su zeleni i zdravi ili su zaraženi. Nemogućnost drugih sustava za analizu slike da odaberu lisne žile kao zdravo tkivo često je značajan izvor pogreške u procjeni (Barbedo, 2014.; Pethybridge i Nelson, 2015.). Prednosti aplikacija kao što je *Leaf Doctor* uključuju poboljšanu točnost i preciznost procjena ocjenjivača te bolju ponovljivost među ocjenjivačima (Nutter i sur., 1993.; Braidó i sur., 2014.). Također, dostupnost aplikacije na mobilnoj platformi omogućuje prenosivost i fleksibilnost za prikupljanje podataka na licu mjesta. Suprotno tome, računalni programi (npr. *ImageJ*) zahtijevaju stolno računalo (ako je program instaliran na prijenosnom računalu) ili ne nudi ekvivalentnu funkcionalnost jer prijenosnim računalima nedostaju kamere koje mogu u trenutku snimati fotografije. Da bi se izvršila procjena u tom slučaju, fotografije se najprije moraju uvesti s vanjske kamere ili drugog uređaja na računalo. Osim toga, računalni programi poput *ImageJ*-a nisu kompatibilni i ne funkcioniraju na bilo kojem pametnom telefonu ili mobilnom uređaju. Relativna jednostavnost upotrebe i brzo vrijeme obrade fotografija svojstveno aplikaciji *Leaf Doctor* dopuštaju upotrebu onima koji nemaju visoko razvijene vještine računalnog programiranja ili analize fotografija. Te posebne vještine obično su bitne za ispravnu implementaciju drugih sustava za analizu fotografija. Potencijalno je ograničenje aplikacije *Leaf Doctor* potreba za crnom ili bijelom pozadinom, ili mogućnost uklanjanja pozadine fotografije. Ako simptomi bolesti pokazuju tamnu obojenost, vjerojatno se simptomi neće dovoljno razlikovati od pozadine. Tada se predlaže korištenje homogeno obojene pozadine koja ne dolazi u sukob s bojama simptoma (slika 2) Novija istraživanja (Alheeti i sur., 2021.) potvrđuju da je mobilna aplikacija (*Leaf Doctor*) pouzdanija i pristupačnija tehnika za razliku od računalnog programa (*ImageJ*), osobito u terenskim istraživanjima, jer u realnom vremenu donosi rezultate procjene jačine zaraze. Programska poboljšanja aplikacije mogla bi omogućiti fotografiranje simptomatičnih listova na licu mjesta, automatsko prepoznavanje rubova jedinica uzorkovanja (listova i/ili plodova) i stvaranje homogeno obojene pozadine kako ističu Alheeti i sur. (2021.) te Pethybridge i Nelson (2015.).





**Slika 2.** Prikaz utjecaja različitih podloga na procjenu jačine zaraze simptomatičnog lista korištenjem računalnog programa *ImageJ* (B) i mobilne aplikacije *Leaf Doctor* (C.) (izradila K. Martinko).

Kod neadekvatne podloge tijekom fotografiranja biljnih simptomatičnih organa, mobilna aplikacija *Leaf Doctor* uključuje podlogu kao dio ukupne mjerene površine lista u odnosu na zaraženu. Posljedica toga je značajno smanjen, time i netočan postotak zaražene površine lista. Isključivanjem pozadine iz kvantifikacije, analizira se samo površina lista, a isključivanje pozadine postiže se odabirom odgovarajuće podloge koja je važan kriterij u procjeni zaraze biljnih bolesti. S druge strane, aplikacija *Leaf Doctor* omogućuje odabir većeg spektra obojenosti simptoma na fotografiji, što ju čini osjetljivijom i selektivnijom u procjeni jačine zaraze u odnosu na program *ImageJ* (slika 2). Premda je nastala 2015. godine, aplikacija *Leaf Doctor* korištena je samo u jednom istraživanju u svrhu procjene zaraze (de Almeida i sur., 2021.), što svjedoči o tome da inovativne digitalne tehnike još nisu etablirane u fitopatološkim istraživanjima.

## ZAKLJUČCI

Razvojem tehnologije u području fitopatologije, digitalne tehnike za procjenu jačine zaraze biljaka zamjenjuju nedovoljno pouzdane i subjektivne klasične tehnike vizualnog pregleda biljaka i kvantificiranje jačine zaraze na temelju klasičnih ljestvica s numeričkim rasponom. Poluautomatske digitalne tehnike u vidu aplikacija za pametne telefone (*Leaf Doctor*) ili računalnih programa (*ImageJ*) objektivne su, jednostavnije, brže i pouzdanije tehnike za procjenu jačine zaraze biljaka. Mobilna aplikacija (*Leaf Doctor*) pouzdanija je i

.....

pristupačnija tehnika za razliku od računalnog programa (*ImageJ*), osobito u terenskim istraživanjima, jer u realnom vremenu donosi rezultate procjene jačine zaraze. Osim brojnih prednosti, postoje nedostaci u primjeni digitalnih tehnika zbog zahtjevnih kriterija u postizanju slike visoke kvalitete na odgovarajućoj podlozi (pozadini). Također, uvedene digitalne tehnike za kvantifikaciju na temelju fotografija simptoma uvelike su značajne, osobito kod lisnih oboljenja, a osobna vještina i stručnost imaju značajnu ulogu u izvedbi analiziranja fotografije. Usprkos strogim kriterijima za postizanje visokokvalitetne slike za analizu, digitalne tehnike vrijedan su alat u fitopatološkim istraživanjima kojemu su potrebna daljnja usavršavanjima i obuka korisnika s ciljem povećanja mogućnosti svakodnevnog korištenja u znanstvenim istraživanjima na području fitopatologije, kao i u integriranoj biljnoj proizvodnji.

## DIGITAL TOOLS FOR ASSESSING THE PLANT DISEASE SEVERITY

### SUMMARY

With the development of technology in phytopathology, digital techniques for assessing the plant disease severity are replacing insufficiently reliable and subjective classical techniques of visual plant analysis and quantifying the disease severity based on scales with a numerical range. Semi-automatic digital techniques in the form of smartphone applications (*Leaf Doctor*) or softwares (*ImageJ*) are objective, simple, faster and more reliable techniques for assessing the disease severity. The smartphones application (*Leaf Doctor*) is a more reliable and accessible technique in contrast to the computer software (*ImageJ*), especially in field research, because it provides real-time results of assessing the disease severity. In addition to numerous advantages, there are disadvantages in the application of digital techniques due to the demanding criteria in achieving a high-quality image on a suitable background. Also, introduced digital techniques for quantifying symptoms based on photos are of great importance, especially in leaf diseases, and personal skill and expertise play a significant role in the performance of photo analysis. Despite the strict criteria for obtaining a high-quality image for analysis, digital techniques are a valuable tool in phytopathological studies that needs further refinement and training of users with the aim of increasing the possibility of daily use in phytopathology, as well as in integrated plant production.

**Keywords:** disease severity, *Leaf Doctor*, *ImageJ*, visual analysis, phytopathogens, digital techniques.

LITERATURA

**Abramoff, M., Magalhães, P., and Ram, S.** (2004.). Image Processing with ImageJ. *Biophotonics Int.* 11:36-42.

**Alheeti, A A.** (2016.). Basics of plant disease epidemic. Dar Majdalawi Publication. Amman, Jordan. 356 P.

**Alheeti, A.A.M., Farhan, M. A., Al-Saad, L. A., Theer, R.M.** (2021.). Evaluation of the Performance of *ImageJ*, Leaf Doctor Applications, and Visual Assessments in Measuring Severity of Two Leaf Spot Diseases IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 761012030.

**Al-Hiary, H., Bani-Ahmad, S., Reyalat, M., Braik, M., ALRahamneh, Z.** (2011.). Fast and accurate detection and classification of plant diseases, *Int. J. Comput. Appl.* 17 (1) 31–38.

**Al-Saad, L. A. i Hussain, H. Z.** (2018.). The Basic of Image Processing with ImageJ. Iraqi National Library and Archive. Baghdad.,116.

**Atoum, Y., Afridi, M. J., Liu, X., McGrath, J. M., Hanson, L. E.** (2016.). On developing and enhancing plant-level disease rating systems in real fields. *Pattern Recognition*, 53, 287–299.

**Barbedo, J. G. A.** (2014.). An Automatic Method to Detect and Measure Leaf Disease Symptoms Using Digital Image Processing. *Plant Disease*. 98, 1709–1716.

**Bauer, S., Korc, F., Förstner, W.** (2009.). Investigation into the classification of diseases of sugar beet leaves using multispectral images, in: *European Conference on Precision Agriculture*, vol. 9, 229–238.

**Bock, C. H., Poole, G. H., Parker, P. E., Gottwald T. R.** (2010.). Plant Disease Severity Estimated Visually, by Digital Photography and Image Analysis, and by Hyperspectral Imaging, dostupno na: <https://doi.org/10.1080/07352681003617285> (pristupljeno 20. 05. 2023.)

**Chiang, K. S., Liu, H. I., Chen, Y. L., El Jarroudi, M., Bock, C. H.** (2020.). Quantitative Ordinal Scale Estimates of Plant Disease Severity: Comparing Treatments Using a Proportional Odds Model, 110 (4), dostupno na: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-18-0372-R> (pristupljeno 18. 6. 2023.)

**de Almeida, C.P., Bonfante, G.F.J., de Carvalho Paulino, F., de Deus, B. C., Alves Patrício, F. R., Carbonell, S. A. M.** (2021.). Precise assessment of angular leaf spot severity using the Leaf Doctor app for common beans. *African Journal of Biotechnology*. vol. 20(5), 169-174.

**Franc, G. D.** (2010.). Ecology and epidemiology of *Cercospora beticola*. *Cercospora* leaf spot of sugar beet and related species. American Phytopathological Society Press., 7-19.

**Gaunt, R. E.** (1995) New technologies in disease measurement and yield loss appraisal. *Can. J. Plant Pathol.* 17:185-189.

**Horsfall, J. G. i Barratt, R. W.** (1945.), "An Improved Grading System for Measuring Plant Disease. (Abstract.)", *Phytopathology*, American Phytopathological Society, 35: 655.

**Koike, S.T., du Toit, L.J., Abawi, G.S.** (2010.). *Cercospora* leaf spot of vegetable crops in the Chenopodiaceae. *Cercospora* Leaf spot of Sugar Beet and Related species. American Pathology Society Press., 91-96.

**Kranz, J.** (1988.). Measuring plant disease. *Experimental Techniques in Plant*

Disease Epidemiology. J. Kranz i J. Rotem, eds. Springer – Verlag, New York.

**Kushalappa, A.C.** (2001.). BREMCAST: Development of a system to forecast risk levels of *Downy mildew* on lettuce (*Bremia lactucae*). International Journal of Pest Management. 47, 1-5.

**Kwack, M. S., Kim, E. N., Lee, H., Kim, J.-W., Chun, S.-C., and Kim, K. D.** 2005. Digital image analysis to measure lesion area of cucumber anthracnose by *Colletotrichum orbiculare*. J. Gen. Plant Pathol. 71:418-421

**Lafamme, B., Middleton, M., Lo, T., Desveaux, D., Guttman, D. S.** (2016.). "Image-Based Quantification of Plant Immunity and Disease." Molecular Plant-Microbe Interactions 29:919–924.

**Lamari, L.** (2002.). ASSESS: Image Analysis Software for Plant Disease Quantification. American Phytopathological Society., CD computer program. Library and Archive. Baghdad.,116.

**Lindow, S. E., and Webb, R.** 1983. Quantification of foliar plant disease symptoms by microcomputer-digitized video image analysis. Phytopathology 73:520-52

**Madden, L. V. , Hughes, G., Van den Bosch, F.** (2007.). The Study of Plant Disease Epidemics. American Phytopathological Society (ABS Press)., St. Paul.

**Mutka, A. M i Bart, R. S.** (2015.). "Image-Based Phenotyping of Plant Disease Symptoms." Frontiers in Plant Science 5:1–8.

**Netter, F. W., Schultz, P. M.** (1995.). Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer- aided training programs. Can. J. Plant. Pathol. 17:174-784.

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

**Nutter, F. W., Jr. Gelason, M. L., Jenco, J. H., Christians, N.C.** (1993.). Assessing the accuracy, intra – raret repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. Phytopathology 83:806-812.

**Patil, S. B i Bodhe, S. K.** (2011.). Leaf disease severity measurement using image J processing. Int. J. Eng. Technol. 31: 297-301.

**Patil, S.B., Dr. Shrikant, K., Bodhe, S.K.** (2011.). Leaf disease severity measurement using image processing, - International Journal of Engineering and Technology. Cite see International Journal of Engineering and Technology vol.3 (5) 297-301.

**Pethybridge, S. J. i Nelson, S. C.** (2015.). Leaf Doctor: A New Portable Application for Quantifying Plant Disease Severity. Plant Disease, 99(10), 1310–1316.

**Pethybridge, S.J. i Nelson, S.C.** (2015.). Leaf Doctor: A New Portable Application for Quantifying Plant Disease Severity. *Plant. Dis.* 99, 1310–1316.

**Pride, L., Gary, V., Agehar, S., Pride, L.** (2020.). How to Measure Leaf Disease Damage Using Image Analysis in ImageJ - Univ Florida/IFAS Ext. dostupno na: file:///C:/Users/38595/Downloads/122031-Article%20Text-203800-1-10-20200929%20(2).pdf (pristupljeno 29. 6. 2023).

**Rumpf, T., Mahlein, A.-K., Steiner, U., Oerke, E.-C., Dehne, H.-W., Plümer, L.** (2010.). Early detection and classification of plant diseases with support vector machines based on hyperspectral reflectance, Comput. Electron. Agric. 74 (1) 91–99.

**Sannakki, S.S., Rajpurohit, V.S., Nargund, V.B., Yallur, P.S.** (2011.). Leaf Disease Grading by Machine Vision and Fuzzy Logic. Int. J. Comp. Tech. Appl. 2, 1709–1716.

.....  
**Shah, D. A. and Madden, L. V.** 2004. Nonparametric analysis of ordinal data in designed factorial experiments. *Phytopathology*, 94: 33–43.

**Shen, W., Wu, Y., Chen, Z., Wei, H.** (2008.). Grading method of leaf spot disease based on image processing, in: International Conference on Computer Science and Software Engineering, vol. 6, IEEE, Hubei, China, 491–494.

**Sibiya, M. i Sumbwanyambe, M.** (2019.). An Algorithm for Severity Estimation of Plant Leaf Diseases by the Use of Colour Threshold Image Segmentation and Fuzzy Logic Inference: A Proposed Algorithm to Update a “Leaf Doctor” Application. *AgriEngineering*. 1(2): 205-219, dostupno na: <https://doi.org/10.3390/agriengineering1020015> (pristupljeno 29. 6. 2023.)

**Stump, W.** (2015.). Management of *Cercospora* leaf spot with foliar fungicides programs. *Plant Disease Management.*, Rep.9, FC125.

**Sun, H., Wei, J., Zhang J., Yang, W. A** (2014.). Comparison of Disease Severity Measurements Using Image Analysis and Visual Estimates Using A Category Scale for Genetic Analysis of Resistance to Bacterial Spot in Tomato. *Eur. J. Plant Pathol.* 139, 125–136.

**Vereijssen, J., Schneider, J., Termorshuizen, A., Jeger, M.** (2003.). Comparison of two disease assessment methods for assessing *Cercospora* leaf spot in sugar beet, *Crop Prot.* 22 (1) 201–209.

**Wang, G., Sun, Y., Wang, J.** (2017.). Automatic Image-Based Plant Disease Severity Estimation Using Deep Learning. *Comput. Intell. Neurosci*, 1–8.

**Wijekoon, C. P., Goodwin, P. H., and Hsiang, T.** (2008.). Quantifying fungal infection of plant leaves by digital image analysis using Scion Image software. *J. Microbiol. Methods* 74:94-101. dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.03.008> (pristupljeno 17.6.2023.).

**Pregledni rad**