

Сравнителна оценка на методи за определяне на листна площ на домати растения (*Solanum lycopersicum* Mill.)

Веселина Василева

ИПАЗР „Никола Пушкарров“, София

E-mail: vasileva.v.h@gmail.com

Резюме

Листната площ е изключително важна морфологична характеристика. От нея може да се получи разнородна информация за онтогенезиса на растенията в зависимост от условията на средата и видовете особености, използването на хранителни вещества и вода, растеж, потенциален добив, конкуренция между тях и т.н.

В настоящата работа е измерена листната площ на съдово отглеждани домати растения в две фази от развитието им с два метода за анализ – гравиметричен и чрез дигитална обработка на изображения със специализиран софтуер Image J. Получените резултати са съпоставени, като е установена значителна корелация между тях ($R^2=0,9986$). Данните показват, че определянето на листна площ на сложни по форма листа, каквито са доматиците, чрез обработка на дигитални изображения посредством софтуер Image J е акуратен метод, с точност над 98%.

Ключови думи: домати, Image J, обработка на изображения, гравиметричен метод, измерване на площта на листата, сложен лист

Evaluation of Gravimetric method and Digital image analysis method for estimating leaf area of tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill.)

Veselina Vasileva

ISSAPP „N. Poushkarov“, Sofia

Corresponding author: vasileva.v.h@gmail.com

Citation: Vasileva, V. (2021). Evaluation of Gravimetric method and Digital image analysis method for estimating leaf area of tomato plants (*Solanum lycopersicum* Mill.) Bulgaria Journal of Soil Science, Agrochemistry and Ecology, 55(3-4), 22-28.

Abstract

Leaf area is an important plant morphological trait. It is essential to understand the plant-soil-water relations, crop growth, potential yield, plant competition, respiration, light reflectance etc.

The methods described in this paper was used to estimate leaf area of pot experiment tomato plant in two development stage (Flowering and Fruit Formation Stage). Digital image analysis software Image J is an alternative for standard Gravimetric method for tomato leaf area measurement. The estimates by using Image J had significant linear relationships with the estimates obtained by using Gravimetric method ($R^2=0.9986$). The Digital image analysis with software Image J can estimate leaf area of tomato plants highly accurate (98%).

Key words: tomato, Image J, image processing, gravimetric method, leaf area measurement, complex leaf

Въведение

Листната площ е една от най-важните морфологични характеристики на растенията. Тя дава информация за конкуренцията между отделни растения, мерките за растителна защита, храненето, взаимодействието: растение-почва-вода, асимилацията на въглерод, водният и енергиен баланс в растенията (Harper, 1977; Ackerly et al., 2002; Blanco & Folegatti, 2005; Lechov et al., 2013). Чрез нея се определя режима на слънчевата радиация и преноса на топлина, а от там и процесите на респирация и фотосинтеза (Guo & Sun, 2001; Jo & Shin, 2020). Според Smart (1974) и Williams (1987) тя е показател за използването на вода и хранителни вещества от растенията, растежа на културите и потенциалния им добив.

Измерването на листна площ на растенията е обект на редица изследвания. Основно се използват няколко метода – измервателни уреди (електронни, лазерни) – от портативни до големи, позиционирани в лабораторни условия (Blanke, 1995; Ebert, 1995; Beverly & van Lersel, 1998; Ogoke et al., 2004; Igathinathane et al., 2006); планиметрични и гравиметрични методи (Sestak et al., 1971; Daughtry, 1990; Jonckheere et al., 2003). Широко използвани в практиката са линейните уравнения и математически модели, разработени за различни култури – царевица (Stewart & Dwyer, 1999), слънчоглед (Rouphael et al., 2007), соя (Stoykov & Mitova, 2007), фасул (Bhatt & Chanda, 2003), захарно цвекло (Tsialtas & Maslaris, 2005; Tsialtas & Maslaris, 2008).

Подобни уравнения са разработени и за редица зеленчуци и плодове – репички (Salerno et al., 2005), чушки (De Swart et al., 2004; Cemek et al., 2011), лук (Corcoles et al., 2015), тиквички (Rouphael et al., 2006), патладжан (Rivera et al., 2007; Hinnah et al., 2014), домати (Garg & Mandahar, 1972), краставица (Robbins & Pharr, 1987; Blanco & Folegatti, 2003), броколи (Stoppani et al., 2003; Olfati et al., 2010), зеле (Olfati et al., 2010), диня (Rouphael et al., 2010), ягода (Mandal et al., 2002; Demirsoy et al., 2005).

Автори като Bignami & Rossini (1996); Nyakwende et al., (1997); Heuvelink (1998); O'neal et al. (2002), отчитат ограничения и недостатъци в изброените методи и за подходяща тяхна алтернатива се явяват методи, базирани на дигитални изображения и компютърни програми за анализ (Hagerup et al., 1990; Chaohui et al., 2010; Sanjay & Bodhe, 2011; Chaudhary et al., 2012).

Голяма част от растенията се характеризират със сложен (по форма) лист и това допълнително затруднява определянето на листната им площ по класическите методи, именно такъв е и случаят с домати. Листата им са разделно текоперести, листните дялове са по-плитко или дъблоко нарязани по периферията с междинни листчета между тях (Shaban et al., 2014). От друга страна цената на специализираните измервателни уреди за листна площ е висока. Целта на настоящата работа беше да валидира използването на настолен скенер и open-source софтуер Image J за определяне на листна площ на домати чрез съпоставяне на получените

данни с класическия гравиметричен метод.

Материали и методи

При контролирани условия е изведен съдов опит с 10 хибрида и линии домати (детерминантни, устойчиви и високо добивни, подходящи и за ранно полско производство), любезно предоставени от EnzaZaden, Bulgaria. Във фаза 2-4 същински лист домите за засадени в съдове с вместимост 2,5 kg почва - по 4 растения на съд в 12 повторения на сорт. В две фази от развитието на домите (начало на цъфтеж и плододаване) е премахвано по 1 растение на съд за определяне на листната площ.

Сравнени са два деструктивни метода – гравиметричен (Ross & Ross, 1995) и чрез анализ на дигитални изображения със специализиран софтуер Image J (Ferreira & Rasband, 2012). При измерването на листната площ на домите по гравиметричния метод листата са отстранени от растението и копирни върху стандартна бяла хартия (80 gm²). Копието е изрязано и теглото му премерено на електронна везна. Полученото тегло е сравнено с теглото квадрат с размери 10x10 cm от същата хартия (измерено 0,702 g). Листната площ е изчислена по формулата:

$$LA(\text{cm}^2) = 100 * 0,702 (\text{теглото на квадрат } 10 \times 10 \text{ cm}) / X (\text{теглото на хартиеното копие})$$

Image J е софтуер за обработка на изображения с отворен код, които е предназначен за научни многоизмерни изображения. При този метод листата са отстранени от растението и сканирани чрез CanoScan 200 във висока резолюция върху бял лист, с предварително подготвена известна площ (окръжност с диаметър 2 cm) за калибриране на програмата. Изображенията са сегментирани по цвят – фон и доматиен лист, като са запълнени евентуални наранявания по листата, за по-прецизно измерване на площта (снимка 1). Листната площ се изчислява, като за отправна точка се използва площта на известния обект.

Данните са обработени статистически - Multi-factor ANOVA и Duncan Multiple Range Test (DMRT) при 5% ниво на достоверност чрез Statgraphics Centurion.

Резултати и обсъждане

Изчислена е листната площ на 120 домати растения – по 12 от всички, включени в изследването сорта. Данните са осреднени за двете фази на отчитане и са представени в таблица 1. По-високи стойности на листна площ са получени при използването на гравиметричния метод, като това се наблюдава и при двете измервания на всички сортове. При отчитането в началото на фаза „Цъфтеж“ разликите в получената листна площ варират от 0,83-1,97 (0,29-0,76%). При второто отчитане (начало на фаза „Плододаване“) разликите са в малко по-широки граници 1,06-5,82, но отново процентното им отражение е под 1,2% (0,20-1,17%) (таблица 1).

Сравнението на данните, получени чрез двата метода показва, че отчетените разлики са в рамките на статистическата грешка. Листните площи, получени чрез гравиметричния-класически метод и софтуер Image J, попадат в една хомогенна група, т.е. разликите между тях не са значими статистически (таблица 2).

За да се съпоставят двата метода листната площ, измерена в двете фази са обединени и представени графично на фигура 1. Високата корелация и полученият $R^2=0,9986$ водят до заключението, че двата метода за определяне на листна площ са съпоставими и резултатите от анализа на изображенията са акуратни. Подобни данни са описани от Chaudhary et al., (2012). В изследването си те измерват листната площ на 70 листа от различни видове чрез дигитални изображения и съпоставят резултатите с листната площ, определена планиметрично върху милиметрова хартия. Докладват за 99% точност на метода. Pandey & Singh (2011) установяват значителна корелация (R^2 в границите 0,933-0,998) на листна площ измерена чрез SYSTRONICS, Leaf Area Meter-211 и планиметрично. Те изследват площта

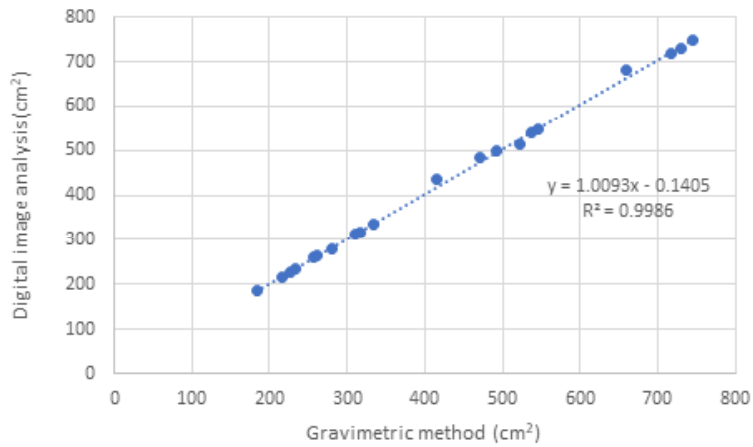


a) RGB image of tomato leaf



b) Segmented image

Снимка 1. Доматен лист в RGB и сегментирано изображение
Image 1. Tomato leaf in RGB and Segmented image



Фиг. 1. Връзка между площта на листата на домати (cm² растение⁻¹), измерена чрез софтуер за цифров анализ на изображението Image J и оценена по гравиметричен метод

Fig. 1. Relationship between tomato leaf area (cm² plant⁻¹) measured by Digital image analysis software Image J and estimated by Gravimetric method

Таблица 1. Площ от листа на домати (cm² растение⁻¹), измерена чрез софтуер за цифров анализ на изображението Image J и гравиметричен метод

Table 1. Tomato leaf area (cm² plant⁻¹) measured by Digital image analysis software Image J and Gravimetric method

Генотип/ Genotypes	Етап на цъфтеж/Flowering Stage				Етап на формиране на плодове/Fruit Formation Stage			
	Гравиметричен метод/ Gravimetric method	Image J	Абсолютни грешки/ Absolute Errors	Грешки/ Errors	Гравиметричен метод/ Gravimetric method	Image J	Абсолютни грешки/ Absolute Errors	Грешки/ Errors
	cm ²	cm ²		%	cm ²	cm ²		%
Bersola F1	318,04	316,49	1,55	0,49	731,03	729,63	1,40	0,19
Atak	259,00	257,03	1,97	0,76	682,61	680,10	2,51	0,37
Sadeen F1	335,05	333,38	1,68	0,50	720,36	716,48	3,87	0,54
E26.33342	262,93	261,85	1,08	0,41	747,42	745,02	2,40	0,32
E27.32927	227,14	226,31	0,83	0,37	539,18	538,12	1,06	0,20
Sheena F1	184,85	183,93	0,92	0,50	498,09	492,26	5,82	1,17
3830	234,58	233,65	0,94	0,40	436,67	435,34	1,33	0,30
3093	215,96	215,07	0,89	0,41	548,21	546,81	1,41	0,26
Miliana-VF	280,42	279,38	1,04	0,37	524,00	522,35	1,64	0,31
Nikolina F1	311,36	310,46	0,90	0,29	484,24	481,61	2,63	0,54

Таблица 2. Сравнение на измерването на площта на листата

Table 2. Comparison of leaf area measurement

	Площ на доматиените листа/Tomato Leaf Area (cm ² plant ⁻¹)			
	Етап на цъфтеж/Flowering Stage		Етап на формиране на плодове /Fruit Formation Stage	
Gravimetric method	262,93	a	591,18	a
Digital image analysis Image J	261,76	a	588,77	a
Average	262,34		589,98	
Std. deviation	106,644		166,207	
Std. error	9,755		15,204	
LSD _{≥95%}	27,179		42,358	

на отделни листа от 33 различни дървесни вида (Ботаническата градина към университет Banaras (BHU), Варанаси Индия). O'neal et al. (2002) сравняват листна площ на соя (*Glycine max* L.), измерена с LI-COR 3000, Leaf area meter и чрез дигитални изображения. Получена е значителна корелация R²=0,99.

Заклучение

Листната площ е обект на редица изследвания,

но най-широко използваните методи за определянето ѝ са трудоемки и отнемат много време, особено ако се измерва листната площ на сложен лист или голям брой листа. Обработката на дигитални изображения в Image J премахва някои от основните ограничения на класическите планиметричен и гравиметричен метод.

Експерименталните резултати показват, че методът е акуратен, като средната точност е над 98%. Това се потвърждава и чрез сравняването на получените резултати с тези, получени от

гравиметричния метод и отчетената значителна корелация ($R^2=0,9986$).

Получените в настоящата работа резултати водят до заключението, че двата изпитвани метода за определяне на листна площ са съпоставими. Определянето на листна площ на сложни по форма листа, каквито са доматените, чрез обработка на дигитални изображения посредством софтуерът Image J е точен метод.

Благодарности авторът изказва специални благодарности за подкрепата и критичните бележки на проф. д-р Иванка Митова и проф. д-р Николай Динев, ИПАЗР „Никола Пушкарров“, София.

Литература

Ackerly, D., Knight, C., Weiss, S., Barton, K., & Starmer, K. (2002). Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia* 130, 449-457.

Beverly, R., & van Lersel, M. (1998) Calibration of a video image analysis system for measurement of stem length, leaf area, and percent ground coverage. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 29, 1071-1081.

Bhatt, M., & Chanda, S. (2003) Prediction of leaf area in *Phaseolus vulgaris* by non-destructive method. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 29(2), 96-100.

Bigami, C., & Rossini, F. (1996). Image analysis estimation of leaf area index and plant size of young hazelnut plants. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 71(1), 113-121.

Blanco, F., & Folegatti, M. (2003) A new method for estimating the leaf area index of cucumber and tomato plants. *Horticultura Brasileira, Brasilia*, 21(4), 666-669.

Blanco, F., & Folegatti, M. (2005). Estimation of leaf area for greenhouse cucumber by linear measurements under salinity and grafting. *Agricultural Science*, 62(4), 305-309.

Blanke, M. (1995). Scanner for leaf area measurement – leaves keep their form. *Garten. Mag.*, 3, 27-28.

Cemek, B., Unlukara, A., & Kurunc, A. (2011). Non-destructive leaf area estimation and validation for green pepper (*Capsicum annuum* L.) grown under different stress conditions. *Photosynthetica*, 49(1), 98-106.

Chaohui L., Ren, H., Zhang, Y., & Shen, Y. (2010) Leaf Area Measurement Based on Image Processing. *Proc of International Conference on Measuring Technology and Mechatronics Automation (ICMTMA) Vol 2*, 580-582.

Changsha City, China.

Chaudhary, P., Godara, S., Cheeran, A., & Chaudhari, A. (2012). Fast and Accurate Method for Leaf Area Measurement. *International Journal of Computer Applications*, 49(9), 22-25.

Corcoles, J., Domínguez, A., Moreno, M., Ortega, J., & de Juan, J. (2015) A non-destructive method for estimating onion leaf area. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 54(1), 17-30.

Daughtry, C. (1990). Direct measurements of canopy structure. *Remote Sensing Reviews*, 5, 45-60.

De Swart, E., Groenwold, R., Kanne, H., Stam, P., Marcelis, L., & Voorrips, R. (2004). Non-destructive estimation of leaf area for different plant ages and accessions of *Capsicum annuum* L. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(5), 764-770.

Demirsoy, H., Demirsoy, L., & Ozturk, A. (2005) Improved model for the non-destructive estimation of strawberry leaf area. *Fruits*, 60(1), 69-73.

Ebert, G. (1995). Leaf area measurement with laser optics. *Erwerbs Obstbau*, 37, 87-188.

Ferreira, T., & Rasband, W. (2012). *Image J User Guide - IJ 1.46*, 2010-2012. imagej.nih.gov/ij/docs/guide/.

Garg, I., & Mandahar, C. (1972). Note on the measurement of leaf area of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant from linear parameters. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 42(10), 958-959.

Guo, D., & Sun Y. (2001) . Estimation of leaf area of stem lettuce (*Lactuca sativa* var *angustana*) from linear measurements. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 71, 483-486.

Hagerup, M., Sondergard, I., Nielsen, J. (1990). Measurements of areas consumed from leaf discs by chewing phytophagous insects: Description of a new method involving image processing. *Entomologia Experimentalis et Applicata.*, 57, 105-113.

Harper, J. (1977). *Population Biology of Plants*. Academic Press, Oxford, UK.

Heuvelink, E. (1998). Evaluation of a dynamic simulation model for tomato crop growth and development. *Annals of Botany*, 83, 413-422.

Hinnah, F., Heldwein, A., Maldaner, I., Loose, L., Lucas, D., & Bortoluzzi, M. (2014). Estimation of eggplant leaf area from leaf dimensions. *Bragantia*, 73(3), 213-218.

Igathinathane, C., Prakash, V., Padma, U., Babu, G., & Womac, A. (2006). Interactive computer software development for leaf area measurement. *Comput. Electron. Agric.*, 51, 1-16.

Jo, W. J., & Shin, J. (2020). Effect of leaf-area management on tomato plant growth in greenhouses. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 61, 981-988.

Jonckheere, I., Fleck, S., Nackaerts, K., Muys, B., Coppin, P., Weiss, M., & Baret, F. (2003). Methods for leaf area index determination. Part I: Theories, techniques and instruments. *Agricultural and Forest Meteorology*,

Lechov, K., Kostadinov K., & Filipov S. (2013). Models for non-destructive measurement of leaf area of Eggplant (*Solanum Melongena* L.). *Scientific papers "Food Science, Engineering and Technology"*, 60, 977-982 (Bg).

Mandal, K., Ghosh, S., & Gayen, P. (2002) A non-destructive way of leaf area estimation in the strawberry. *Ann. Biol.*, 18, 19-24.

Nyakwende, E., Paull, C., & Atherton, J. (1997). Non-destructive determination of leaf area in tomato plants using image processing. *Journal of Horticultural Science*, 72(2), 255-262.

O'neal, M., Landis, D., & Isaacs, R. (2002). An Inexpensive, Accurate Method for Measuring Leaf Area and Defoliation Through Digital Image Analysis. *Journal of Economic Entomology*, 95(6), 1190-1194.

Ogoke, I., Egesi, C., & Obiefuna, J. (2004). A review of some non-destructive linear measurement procedures for leaf area determination in crops. *International Journal of Agriculture and Rural Development*, 4(1), 74-80.

Olfati, J., Peyvast, G., Shabani, H., & Nosrati-Rad, Z. (2010). An estimation of individual leaf area in cabbage and broccoli using non-destructive methods. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 627-632.

Pandey, S., & Singh, H. (2011). A Simple, Cost-Effective Method for Leaf Area. *Journal of Botany*, 2011, 1-6.

Rivera, C., Roupheal, Y., Cardarelli, M., & Colla, G. (2007). A simple and accurate equation for estimating individual leaf area of eggplant from linear measurements. *European Journal of Horticultural Science*, 72(5), 228-230.

Robbins, N., & Pharr, D. (1987). Leaf area prediction models for cucumber from linear measurements. *Horticultural Science*, 22, 1264-1266.

Ross, J., & Ross, V. (1995). Phytometrical characteristics of the willow plantation at Toravere. In: *Short Rotation Willow Coppice for Renewable Energy and Improved Environment : Proceedings of a joint Swedish - Estonian seminar on Energy Forestry and Vegetation filters held in Tartu 24-26 September 1995*, 977-982.

Roupheal, Y., Colla, G., Fanasca, S., & Karam, F. (2007). Leaf area estimation of sunflower leaves from simple linear measurements. *Photosynthetica*, 45(2), 306-308.

Roupheal, Y., Mounaimne, A., Rivera, C., Cardarelli, M., Marucci, A., & Colla, G. (2010). Allometric models for nondestructive leaf area estimation in grafted and ungrafted watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb). *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8(1), 161-165.

Roupheal, Y., Rivera, C., Cardarelli, M., Fanasca, S., & Colla, G. (2006). Leaf area estimation from linear measurements in zucchini plants of different ages. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(2), 238-241.

Salerno, A., Rivera, C., Roupheal Y., Colla, G., Cardarelli, M., Pierandrei, F., Rea, E., & Saccardo, F. (2005). Leaf area estimation of radish from simple linear

measurements. *Advances in Horticultural Science*, 19(4), 213-215.

Sanjay, P., & Bodhe, S. (2011). Betel Leaf Area Measurement Using Image Processing. *International Journal on Computer Science and Engineering (IJCSSE)*, 3, 2656-2660.

Sestak, Z., Catsky, J., & Jarvis, P. (1971). *Plant Photosynthesis Production, Manual of Methods*. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands.

Shaban, N., Bistrichanov, S., Moskova, C., Kadum, E., Mitova, I., Tityanov, M., & Bumov, P. (2014). *Vegetable production (Traditional vegetable crops)*. University of Forestry, Sofia, ISBN 978-954-332-116-2, 18-58 (Bg).

Smart, R. (1974). Photosynthesis by grapevine canopies. *Journal of Applied Ecology*, 11(3), 997-1006.

Stewart, D., & Dwyer, L. (1999). Mathematical characterization of leaf shape and area of maize hybrids. *Crop Science*, 39(2), 422-427.

Stoppani, M., Wolf, R., Francescangeli, N., & Marti, H. (2003). A non-destructive and rapid method for estimating leaf area of broccoli. *Advances in Horticultural Science*, 17(3), 173-175.

Stoykov, H., & Mitova, I. (2007). Leaf area determination of soybean canopy. In: *Plant genetic stocks – the basis of agriculture of today. International Conference*, 13-14 June 2007 (Bg).

Tsialtas, J., & Maslaris, N. (2005). Leaf area estimation in a sugar beet cultivar by linear models. *Photosynthetica*, 43(3), 477-479.

Tsialtas, J., & Maslaris, N. (2008). Leaf area prediction model for sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *Photosynthetica*, 46(2), 291-293.

Williams, L. (1987). Growth of "Thompson Seedless" grapevines: I. Leaf area development and dry weight distribution. *Journal of American Society and Horticultural Science*, 112(2), 325-330.