

快速、精確地使用影像分析來測量水稻瘤野螟 (縱捲葉蟲) 取食葉面積

劉弘一¹ 黃守宏^{2,*} 蔣國司^{3,**}

摘要

劉弘一、黃守宏、蔣國司。2017。快速、精確地使用影像分析來測量水稻瘤野螟 (縱捲葉蟲) 取食葉面積。台灣農業研究 66(4):307–317。

瘤野螟 [Rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée)] 是水稻主要害蟲之一，其幼蟲取食水稻葉片致使減少葉片的光合作用，進而造成水稻極大的產量損失。傳統對於瘤野螟幼蟲取食葉片面積採用方格紙描繪測量，此人工方法需耗費相對多的時間及人力，本研究證實利用影像分析 (ASSESS 2.0) 來進行瘤野螟取食葉面積的測量，其結果與黃金標準 (人工描繪測量) 顯示具有極高的一致性 (ρ_c 高於 0.983)，而且經變方分析驗證此兩測量方法並無顯著差異；此外，影像分析可以減少 29% 以上的測量時間，故推薦影像分析可作為瘤野螟取食稻葉面積測量的工具。

關鍵詞：水稻、瘤野螟、取食面積、測量、影像分析。

前言

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是世界上最重要的糧食作物之一，超過 95 個國家種植及生產水稻，而且全球有一半以上人口以稻米作為每日所需熱量的主要來源 [Counce *et al.* 2000; International Rice Research Institute (IRRI) 2002; Coats 2003]。瘤野螟 [Rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée)] 是水稻主要害蟲之一，尤其當高產水稻品種被廣泛種植，以及密植與增施氮肥等耕作方式改變後日益嚴重 (Dale 1994; Nathan *et al.* 2004, 2005)。瘤野螟幼蟲會刮食水稻葉片的葉肉組織，影響光合作用的進行，因此造成產量降低。Padmavathi *et al.* (2013) 的研究更詳細說明了瘤野螟幼蟲對於水稻劍葉取食，造成葉綠素損失、減少光合作用及相對含水量，是造

成水稻產量損失的主要原因。在台灣之研究指出，若無防治或防治不當，可以影響稻穀產量達 18–24% (Yen 1981)；而在印度的坦米爾納德邦之研究，顯示瘤野螟是可以造成 11.18% 的產量損失 (Shanmugam *et al.* 2006)。

在其他相關研究，例如評估瘤野螟危害所造成的水稻產量損失影響，或是對瘤野螟抗性品種改良之檢定評估，多需透過調查取食面積而作進一步分析及研究 (Selvaraju *et al.* 2007; IRRI 2013; Padmavathi *et al.* 2013; Manikandan *et al.* 2016)，因此調查方法能否夠精確、快速測量瘤野螟取食葉面積將是一個重要課題。以往，對於瘤野螟取食葉面積測量多是利用在方格紙上描繪被取食區域，再利用人工計數方格數後估計面積 (Bautista *et al.* 1984; Cheng 1987; Dangar 2008; Mohapatra *et al.* 2009)，這樣的測量方法也同時被運用於

投稿日期：2016 年 12 月 7 日；接受日期：2017 年 3 月 14 日。

* 通訊作者：shhuang@dns.caes.gov.tw

** 通訊作者：kucst@dragon.nchu.edu.tw

¹ 國立中興大學農藝學系研究生。台灣 台中市。

² 農委會農業試驗所嘉義農業試驗分所植物保護系副研究員。台灣 嘉義市。

³ 國立中興大學農藝學系副教授。台灣 台中市。

棉鈴蟲 (*Helicoverpa armigera* Hübner) (Selvapandiyan *et al.* 1998) 及其他昆蟲 (Lowman & Heatwole 1992) 之危害測量上。在植物病害測量上，影像分析 (image analysis; IA) 早已被論證可以可靠且正確的估計植物病害面積 (Lindow & Webb 1983; Martin & Rybicki 1998)。而近年，影像分析軟體 ASSESS 2.0: image analysis software for plant disease quantification (American Phytopathological Society, St. Paul, MN) 則相對廣泛被運用在植物病害面積測量上 (Bock *et al.* 2008, 2009a, 2009b, 2009c; Xie *et al.* 2012; Yadav *et al.* 2013)，其中 Bock *et al.* (2008, 2009c) 論證使用 ASSESS 2.0 分析之結果較具準確度 (accuracy) 及精密度 (precision)，並將影像分析結果視為真實病害嚴重程度以進行後續之分析，其餘報告則多承襲這個結論，直接採用影像分析結果為真實病害嚴重程度。目前亦有利用 ASSESS 2.0 運用於蟲害面積測量上之研究 (Mirik *et al.* 2006; Perović *et al.* 2008; Prior & Hellmann 2010)，但前述在蟲害上的研究皆直接採用 ASSESS 2.0 作為測量危害面積之工具，但並未對其測量結果的精密度及準確度做進一步的探討，因此本研究以實際的數據來驗證影像分析方法之精密度及準確度。

從之前研究可知，以方格紙描繪及測量植物葉片受損面積，在蟲害研究上已廣泛被使用 (Bautista *et al.* 1984; Lowman & Heatwole 1992; Selvapandiyan *et al.* 1998; Dangar 2008; Mohapatra *et al.* 2009)，其測量結果有相當的代表性，然而這樣的方法可能相對較為費時及耗費人力。鑑於前述，ASSESS 2.0 軟體既然多被推薦運用於植物病害測量上，且亦有少數蟲害取食葉面積的測量亦使用此軟體，因此本研究首次將 ASSESS 2.0 運用於瘤野螟取食水稻葉面積測量之探究，評估測量瘤野螟取食葉面積的精密度及準確度，並比較人工方式 (方格紙描繪及測量) 與影像分析之耗時差異。

材料及方法

測量的水稻葉片

本研究分別使用梗稻品種「台農 67 號」

(‘TNG67’) 以及秈稻品種「台中在來 1 號」(‘TN1’) 植株提供瘤野螟 1 至 5 齡幼蟲取食，供試水稻的肥料供應乃依據作物施肥手冊 (http://www.afa.gov.tw/publish_tree.aspx?catid=70)，取樣之葉片為水稻分蘗期 (30 DAT; 移植後 30 d)，被取食葉片取下後攤平於白色紙張上，並以玻璃片壓置後，旁邊置放 1 元硬幣作為尺度參考 (圖 1)，於翻拍架下拍照。其中，除了 ‘TN1’ 供五齡幼蟲取食僅 4 重複外，其餘皆為 5 重複。

取食面積之測量

各被取食葉片影像經編號後，於每一次評估以隨機方式重新排序供人工方式 (manual approach; MA) 及影像分析分別判讀取食面積，其評估方法的程序說明如圖 2，每次評估間隔 1 wk 以上，藉以排除評估者的記憶效應。

人工方式以方格紙進行測量時，分別描繪及計數「1 元硬幣直徑之方格數」及「取食區域之方格數」，並以 1 元硬幣直徑所佔方格數推算被取食葉面積，此外同時也記錄每一個影像測量所耗費的時間 (單純測量耗時)，即自開始描繪方格至計數取食區域所佔方格數之秒數，其中亦包含 1 元硬幣直徑的測量。由於人工方式測量無須額外程序，故單純測量耗時亦為完整測量程序耗時 (圖 2)。

在進行樣本葉片影像分析前，先利用免費的繪圖軟體 PhotoCap 4.0 (<http://www.photocap.com.tw>) 將各個影像進行去背處理，以



圖 1. 瘤野螟取食水稻葉片之影像。

Fig. 1. The image of damaged leaf caused by rice leaf folder.

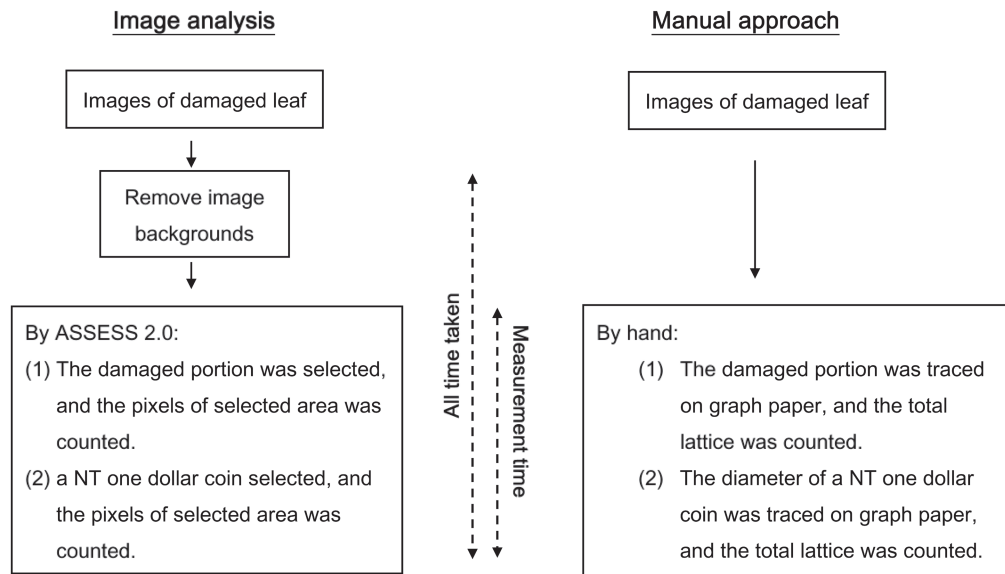


圖 2. 不同評估方法的程序說明。

Fig. 2. Procedures of different assessment methods.

便使 ASSESS 2.0 可以輕易辨識照片中物件 (1 元硬幣或葉片) 區域, 再依照隨機順序逐一利用 ASSESS 2.0 將樣本葉片影像開啟, 並透過其 HIS (Hue-Saturation-Intensity color model) 或 RGB (Red-Green-Blue color model) 功能產生像素的色調、飽和度、強度或顏色分布直方圖, 並調整設定最佳門檻值用以圈選被取食部分及 1 元硬幣區域, 單一目標圈選完成後即可計算該區域之像素 (pixel), 隨後再由 1 元硬幣及被取食葉片部分之像素比例推算被取食葉面積。此外, 試驗進行時亦記錄每片葉片每次進行去背及影像分析所耗費之時間, 去背及影像分析總耗時即為完整測量程序耗時, 而影像分析耗時為單純測量耗時 (圖 2)。

統計分析

為了檢測測量方法的優劣, 本試驗研究採用 Lin (1989) 提出的一致性相關係數 (Lin's concordance correlation coefficient; LCC) 作為衡量標準, 其與傳統利用迴歸分析的結果相比較, 顯示對於試驗結果之準確度及一致性 (agreement), 提供一個無偏且可量化的檢測方法 (Bock *et al.* 2010)。其中, 所謂的一致性是指測量結果之間的接近程度, 因此它是一個同

時包含準確度及精密度的用詞 (Lin 2008)。

用來衡量兩個方法或是兩次評估一致性的 LCC (ρ_c) 可被表示為:

$$\rho_c = r \times C_b \quad (1)$$

r 是兩數對相關係數, 用來測量精密度, 對於重複測量數對之相關係數, 亦用做測量方法內可靠性 (intra-rater reliability) 或稱為再現性 (reproducibility); 而 C_b 是偏差校正係數, 用來度量最佳配適線與 45 度角直線的差異, 因此被用來評估準確度。 ρ_c 用於評估觀測值數對落於 45 度角直線 (斜率為 1、截距為 0) 的程度, ρ_c 值會介於 -1 至 1 之間, 當 ρ_c 為 1 時表示兩變數具完美的一致性, ρ_c 為 0 時則表示完全缺乏一致性, 而 ρ_c 小於 0 呈現出兩變數趨勢相反, C_b 又可被表示為:

$$C_b = 2/(v + 1/v + u^2) \quad (2)$$

這裡 $v = \sigma_x/\sigma_y$, 以及 $u = (\mu_x - \mu_y)/(\sigma_x \times \sigma_y)^{1/2}$, 而 μ_x 和 μ_y 分別為 x 和 y 的平均, σ_x 及 σ_y 分別是 x 和 y 的標準差 (standard deviation)。v 被稱為尺度偏差 (scale bias) 或是斜率偏移, 其

值為 1 時表示 x 和 y 之變異數完全相同；而 u 被稱為位置偏差 (location bias)，當其值為 0 時表示 x 和 y 之平均值完全相同。

對於不同方法測量取食面積之耗時差異，本研究藉由簡單線性迴歸來分析耗費時間與取食面積大小之關係。研究中並利用變方分析，進一步瞭解不同因子 (測量方法、水稻品種及瘤野螟齡期) 對測量結果及耗時的效應，模式表示為：

$$y_{ijk} = \mu + m_i + v_j + a_k + \varepsilon_{ijk} \quad (3)$$

這裡 y_{ijk} 表示某一片葉片測量到的取食面積或耗費的時間， m_i 為測量方法的效應 ($i = 1, 2$)， v_j 為水稻品種效應 ($j = 1, 2$)， a_k 為瘤野螟齡期效應 ($k = 1-5$)，而 ε_{ijk} 是服從獨立且具有相同分布 (independent and identically distributed; i.i.d.) 的試驗誤差。進一步利用最小顯著差異檢定法 (least significant difference test; LSD)，針對測量方法、水稻品種及瘤野螟齡期因子進行檢定，來探討對於取食面積或耗費時間的差異；本研究中相關統計分析利用 SAS V9.4 版及 R 統計軟體 3.2.3 版進行。

結果

表 1 呈現測量結果之初步敘述統計，就取食面積而言，測量之最大、最小值在人工方式 (0.02–21.89 cm²) 與影像分析 (0.03–22.01 cm²) 間差異不大，但平均值及標準差則顯示影像分析皆有稍大的現象。就測量所耗費的時間而言，人工方式顯示需要耗費較長的時間，最大需要 1,106 s；而各葉片測量所費的時間之標準差，人工方式亦較影像分析高約 3–9 倍。以兩次測量之平均耗時進行比較，顯示在完整測量程序耗時比較下，人工方式每葉平均需增加 62.5 s；而單純測量耗時比較下，則需增加 144 s。由於在完整測量程序情況下，因為影像分析額外考慮了進行去背處理所需耗費時間，故使得兩個測量方法在完整測量程序上耗時有較小的差異。整體平均而言，兩方法所測量之取食面積上差異不大 (僅相差約 0.31 cm²)，而耗費時間上則顯示影像分析相對於人工方式約可省時 29–67% (表 1)。

將人工方式測量取食面積的兩次結果，繪製成散布圖並計算 LCC 相關之統計量 (圖 3)，顯示散布點皆非常貼近 45 度角之直線，而 r 、 C_b 及 ρ_c 分別為 0.997、0.996 及 0.999，

表 1. 影像分析及人工方法對 49 片水稻葉片進行兩次取食面積、耗時量測量結果之平均、最大、最小值及標準差。

Table 1. The minimum, maximum, mean and standard deviation of estimates of damaged leaf area, all time taken and measurement time taken for 49 rice leaves measured by image analysis and manual approach on two separate occasions.

Item	Measurement method	Min.	Max.	Mean	Std Dev
Damaged leaf area (cm ²)	Manual approach #1	0.02	19.48	3.20	4.70
	Manual approach #2	0.02	21.89	3.22	4.86
	Image analysis #1	0.03	22.01	3.50	5.19
	Image analysis #2	0.03	21.61	3.53	5.33
All time taken (s)	Manual approach #1	40	1,106	212	193
	Manual approach #2	34	984	215	193
	Image analysis #1	50	307	153	56
	Image analysis #2	64	333	149	61
Measurement time taken (s)	Manual approach #1	40	1,106	212	193
	Manual approach #2	34	984	215	193
	Image analysis #1	35	151	71	21
	Image analysis #2	25	188	68	30

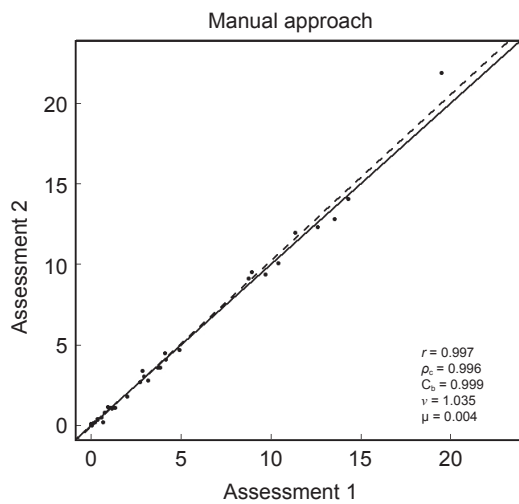


圖 3. 以 LCC 度量人工方法兩次評估的方法內可靠性。實體直線表示 45° 角之一致線，而虛線為兩次評估一致性的配適線。

Fig. 3. Intra-rater reliabilities of two separate assessment dates by manual approach were measured using Lin's concordance correlation (LCC). The concordance line is indicated by the solid line, and the dashed line shows the actual relationship between the two assessments.

表示人工方式測量結果具有非常高的方法內可靠性，且兩次測量結果亦具高度準確度及一致性。由於人工方式進行測量瘤野螟取食葉面積是此蟲害測量的常用方法，加上本研究調查結果人工方式測量具有高度的方法內可靠性，故可以合理將人工方式測量結果視為黃金標準(或真實值) (Lin 1989; Bock *et al.* 2010)，並以此為標準，進而評估影像分析運用於瘤野螟取食面積測量之可行性。

在影像分析的取食面積測量結果，我們也進行類似的可靠性分析(圖 4)，兩次測量結果亦具相當高的一致性($\rho_c = 0.991$)，所以影像分析測量結果也具有高度的方法內可靠性。

將人工方式測量結果視為黃金標準，進一步透過計算 LCC 相關統計量，評估影像分析測量對於黃金標準之一致性。圖 5 分別呈現兩次測量的方法間一致性的比較，影像分析測量結果對於黃金標準顯示具極高的準確度(C_b 分別為 0.993、0.994)及精密度(r 分別為 0.992、0.989)，整體一致性亦相當高(ρ_c 分別

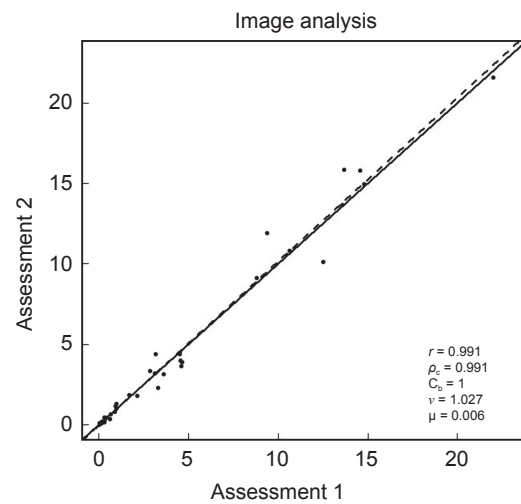


圖 4. 以 LCC 度量影像分析兩次評估的方法內可靠性。實體直線表示 45° 角之一致線，而虛線為兩次評估一致性的配適線。

Fig. 4. Intra-rater reliabilities of two separate assessment dates by image analysis were measured using Lin's concordance correlation (LCC). The concordance line is indicated by the solid line, and the dashed line shows the actual relationship between the two assessments.

為 0.986、0.983)，因此可以斷定影像分析測量結果與黃金標準幾乎沒有差異。

為了進一步探究兩個測量方法耗時與瘤野螟取食葉面積(黃金標準)的關係，前述數據皆採用兩次評估的平均值進行分析，圖 6 及圖 7 分別顯示完整測量程序耗時、單純測量耗時相對差異 $[(MA - IA)/IA \times 100\%]$ 對取食面積的關係，以及所配適的簡單迴歸關係式。觀察圖 6 及圖 7 的散布點可發現取食葉面積超過 3 cm^2 後，所有的散布點皆落於縱軸大於 0 的位置，意味此時人工方式測量耗時皆大於影像分析，且呈現隨取食葉面積增加而增加之趨勢。由配適關係式亦可看出人工方式測量較為耗時的關係，完整測量程序與單純測量所估之斜率估值分別為 14.71 (圖 6) 及 52.28 (圖 7)，所以可以斷定在測量較大範圍的取食面積時，影像分析占有時間上之優勢；另外，是否考慮影像去背所耗費的時間，將影響約 3.5 倍影像分析在時間效率上的優勢。

為探究測量方法 (method)、水稻品種 (va-

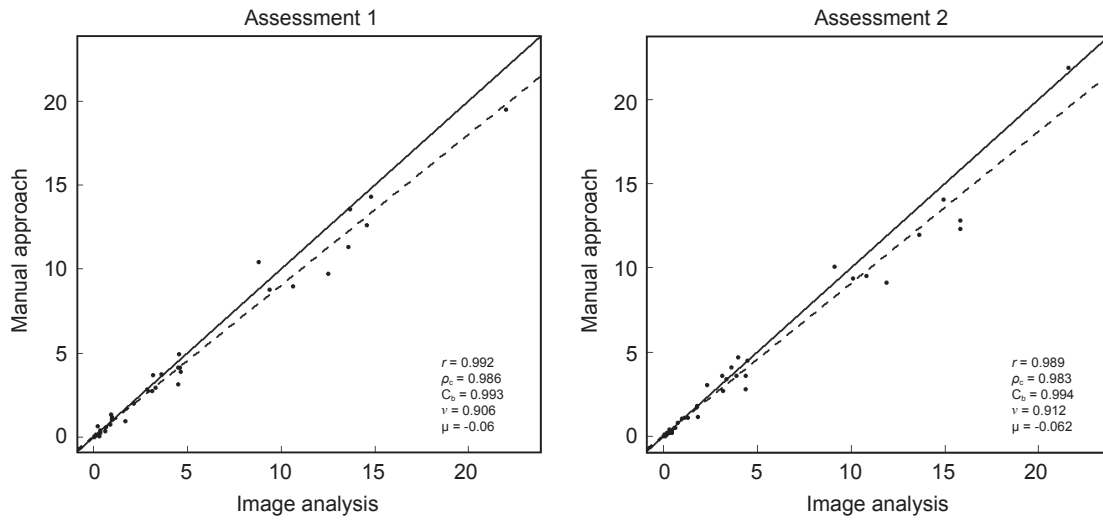


圖 5. 以人工方法為標準，測量兩次影像分析個別準確度及精密度。實體直線表示 45° 角之一致線，而虛線為兩次影像分析評估之一致線。

Fig. 5. The accuracy and precision of damaged leaf area measurements on two separate assessment dates were evaluated by image analysis when measurements of manual approach were regarded as true values. The concordance line is indicated by the solid line, and the dashed line shows the actual relationship between the two assessment methods.

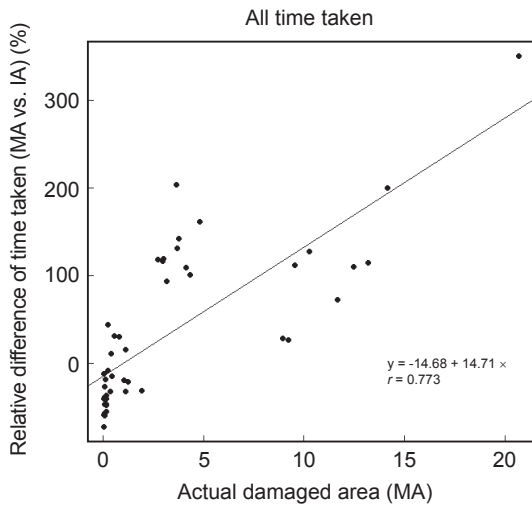


圖 6. 人工測量與影像分析在完整測量程序耗時的關係圖。實體直線表示最佳配適線。

Fig. 6. Relationship between manual approach and image analysis for all time taken during measurement processing. The solid line is the best fitting line.

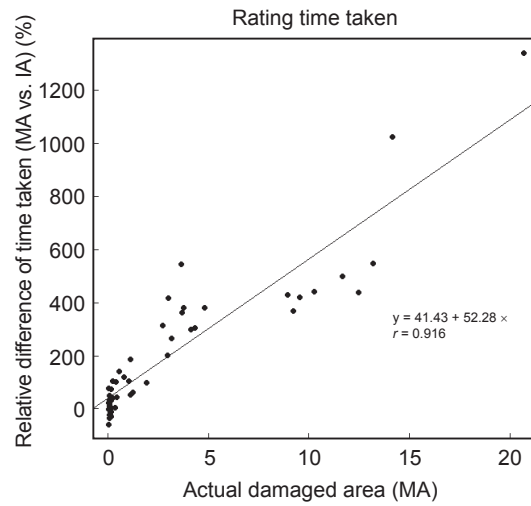


圖 7. 人工測量與影像分析在單純測量耗時的關係圖。實體直線表示最佳配適線。

Fig. 7. Relationship between manual approach and image analysis for measurement time taken for damaged leaf area. The solid line is the best fitting line.

riety) 及瘤野螟齡期 (instar) 等因子，對取食面積測量結果及耗時的效應之影響，各變方分析結果一併呈現於表 2。在取食面積的測量部分，測量方法間並無顯著差異，而水稻品種、

瘤野螟齡期則分別呈現顯著差異 ($P < 0.05$) 及極顯著差異 ($P < 0.01$)。而在測量所耗費的時間上，無論是完整測量程序或是單純測量，人工方式與影像分析則具有極顯著差異，此外，

表 2. 取食面積、完整測量程序耗時及單純測量耗時之變方分析結果。

Table 2. Variance analysis for damaged leaf area, all time taken and measurement time taken.

Source	DF	Mean Square		
		Damaged leaf area	All time taken	Measurement time taken
Variety	1	12.9*	4,396.4	1,960.0
Instar	4	1,081.6**	462,126.2**	333,734.1**
Method	1	4.6	191,468.8**	1,011,317.6**
Error	189	2.6	10,908.0	12,225.5

** denote significances at 5% and 1% levels, respectively.

瘤野螟齡期也是具有極顯著差異。因此，基於變方分析的結果，顯示人工方式與影像分析對取食面積的測量並無統計上的差異性，而耗時多寡則具有差異。

進一步由 LSD 檢定各因子對取食面積測量結果及耗時的差異。就測量方法而言，影像分析的平均取食面積雖然稍微高於人工方式的測量結果，但差異未達 LSD 差異臨界值 ($\alpha = 0.05$)，顯示兩個測量方法在取食面積測量並無統計差異 (表 3)；而在耗時的效應上，人工方式在完整測量程序耗時、單純測量耗時之平均值分別較影像分析高出 41.5% (多 62.5 s) 及 206.3% (多 143.7 s) (表 3)。就水稻品種而言，‘TNG67’的平均被取食面積高出 31.1% (較‘TN1’多 0.9 cm²) (表 4)；而在耗時的效應上

則無顯著差異。此外，就瘤野螟齡期而言，在取食面積、完整測量程序或單純測量耗時皆有一些差異 (表 5)，主要隨蟲齡增加而增加取食面積，因此測量耗時也是隨之增加；幼蟲在稈稻‘TNG 67’及秈稻‘TN 1’水稻品種的平均取食面積分別為 19.01 及 16.29 cm² (表 6)；4–5 齡幼蟲的取食面積分別佔總取食量的 92.16% 及 94.90%。

討論

隨著近年來高產水稻品種的選育及化學肥料大量施用，促使瘤野螟嚴重發生並大量取食水稻葉片組織，危害水稻產量至鉅 (Sogawa *et al.* 2003)，諸多研究也訂立適當經濟危害基準

表 3. 不同測量方法對於取食面積、完整測量程序耗時及單純測量耗時之 LSD 檢定結果。

Table 3. Least significant difference test for damaged leaf area, all time taken and measurement time taken of different measurement methods.

Method	Damaged leaf area	All time taken	Measurement time taken
Manual approach	3.2 A ^z	213.3 a	213.3 a
Image analysis	3.5 A	150.8 b	69.6 b
LSD ($\alpha = 0.05$)	0.5	29.4	31.2

^z Means within each column by the different letters are significantly different.

表 4. 不同水稻品種對於取食面積、完整測量程序耗時及單純測量耗時之 LSD 檢定結果。

Table 4. Least significant difference test for damaged leaf area, all time taken and measurement time taken of different rice varieties.

Variety	Damaged leaf area	All time taken	Measurement time taken
TN1	2.9 B ^z	183.2 a	141.8 a
TNG67	3.8 A	180.9 a	141.2 a
LSD ($\alpha = 0.05$)	0.5	29.4	31.2

^z Means within each column by the different letters are significantly different.

表 5. 不同瘤野螟齡期對於取食面積、完整測量程序耗時及單純測量耗時之 LSD 檢定結果。

Table 5. Least significant difference test for damaged leaf area, all time taken and measurement time taken of different instars.

Instar	Damaged leaf area	All time taken	Measurement time taken
5	12.9 A ^z	357.3 a	282.0 a
4	3.7 B	232.7 b	199.2 b
3	0.9 C	141.7 c	104.4 c
2	0.2 D	107.0 cd	70.3 c
1	0.1 D	89.1 d	65.5 c
LSD ($\alpha = 0.05$)	0.7	46.6	49.3

^z Means within each column by the different letters are significantly different.

表 6. 不同瘤野螟齡期對稈稻 'TNG 67' 及秈稻 'TN 1' 水稻品種的平均取食面積。

Table 6. Means of damaged leaf area of different instars for 'TNG67' and 'TN1'.

Instar	Damaged leaf area (cm ²)	
	TN1	TNG67
1	0.06	0.05
2	0.16	0.21
3	0.61	1.23
4	3.57	3.83
5	11.89	13.69
Total	16.29	19.01

提供採取防治措施之參考，且其經濟危害研究之基準也多以取食面積為基礎 (Bautista *et al.* 1984; Cheng 1987)。往昔研究判定瘤野螟幼蟲取食危害面積，多以方格紙 (Cheng 1987) 或將被害葉片經標示後再經葉面積儀進行判讀 (Heong 1990)，操作程序相對耗時費力，且依據其研究之結果，瘤野螟在稈稻 ('TNG 67', 30 DAT) 上之平均取食面積為 21.4 cm² (17.0–26.9 cm²)，與本研究 ('TNG 67', 30 DAT) 之結果相近 (19.01 cm²) (表 6)；而秈稻 ('MR-84', 40 DAT) 上之取食面積 (24.3 cm²) 則與本研究 ('TN1', 30 DAT) 之結果 (16.29 cm²) (表 6) 有些差距，此結果可能是受到水稻品種、水稻生育期、栽培管理 (肥料施用量) 及測量方法等因素之影響 (Cheng 1987; Heong 1990)。

傳統以方格紙描繪瘤野螟幼蟲取食葉片處，進而計數葉片受損面積，本研究指出需耗費相對多的時間及人力，而以 ASSESS 2.0 軟體進行影像分析方法，可以減少 29% 以上的

測量時間 (表 3)，此外影像分析測量的結果精密度及準確度與傳統人工方式一致，因此以 ASSESS 2.0 軟體進行影像分析，相當值得推薦做為瘤野螟取食稻葉面積測量的工具。ASSESS 2.0 雖然已被運用於進行蟲害葉面積測量，然而研究皆直接運用測量結果於進一步的分析討論中，並未對測量結果的精密度及準確度做進一步討論 (Mirik *et al.* 2006; Perović *et al.* 2008; Prior & Hellmann 2010)。本研究利用 ASSESS 2.0 來進行瘤野螟取食葉面積的測量，並論證此方法具有相當高的精密度及準確度，此將提供後續運用相當充足的證據，此外相信同樣也能提供給其它蟲害研究做為參考。

人工方式測量在方法內可靠性相當的高，而影像分析的方法內可靠性亦有極佳的表現，這也顯示具有豐富經驗或訓練有素的昆蟲學家，透過方格紙描繪測量取食面積，結果將會具有相當高的再現性，而透過影像分析將可以大大輔助測量的穩定性，例如本研究的影像分

析操作人員，其僅具基本瘤野螟取食葉片區域辨識認知，並無豐富相關判讀經驗，亦能透過 ASSESS 2.0 軟體進行影像分析，獲得高度可靠性之取食面積測量結果，這將也是影像分析另一項被推薦的優點。

影像分析方法可以提高測量的時間效率，分析中額外區別出影像去背的時間耗費，主要是在凸顯去背處理將是進一步可以改進時間效率的主要因素；而提高去背處理的時間效率上，除了考慮藉由更為自動化的影像處理軟體的協助外，在取得受危害葉片影像時，考慮背景顏色的單一性及可區別性，也是可以考慮的方向。係因為一般影像編輯軟體，主要以顏色為基準，可自動選取欲去除之背景區域，若背景顏色與受危害葉片顏色相似，或因拍照環境光線影響，使背景顏色不易區別，則需進一步透過手動選取欲去除之背景，因此將大為增加去背的時間耗費；而且當無法獲得最佳化的去背影像，無論如何多精密度及準確度的測量方法，都將無法獲得正確的測量結果，而此也正是此試驗進行拍攝時，將被害葉片置於白色紙張上之原因。

瘤野螟啃食水稻葉片表皮組織，留下白色薄膜，形成可供人工及影像判讀分析之基礎，惟在水稻葉片表面造成白色葉片組織之情況，不僅僅只有瘤野螟，其他蟲害(如鐵甲蟲、負泥蟲)、病害(白葉枯病)，甚至物理傷害等，均可能造成影像分析之誤判，分析前宜仔細辨認、去除雜訊，是影像分析上需要加強及注意之處。

誌謝

本試驗進行期間承蒙蕭繡琴、楊雪鳳及賴錦雲等小姐的協助，使試驗得以順利完成，在此一併誌謝。

引用文獻

- Bautista, R. C., E. A. Heinrichs, and R. S. Rejesus. 1984. Economic injury levels for the rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae): Insect infestation and artificial leaf removal. *Environ. Entomol.* 13:439–443.
- Bock, C. H., A. Z. Cook, P. E. Parker, and T. R. Gottwald. 2009a. Automated image analysis of the severity of foliar citrus canker symptoms. *Plant Dis.* 93:660–665.
- Bock, C. H., T. R. Gottwald, P. E. Parker, A. Z. Cook, F. Ferrandino, S. Parnell, and F. van den Bosch. 2009b. The Horsfall-Barratt scale and severity estimates of citrus canker. *Eur. J. Plant Pathol.* 125:23–38.
- Bock, C. H., P. E. Parker, A. Z. Cook, T. Riley, and T. R. Gottwald. 2009c. Comparison of assessment of citrus canker foliar symptoms by experienced and inexperienced raters. *Plant Dis.* 93:412–424.
- Bock, C. H., P. E. Parker, A. Z. Cook, and T. R. Gottwald. 2008. Visual rating and the use of image analysis for assessing different symptoms of citrus canker on grapefruit leaves. *Plant Dis.* 92:530–541.
- Bock, C. H., G. H. Poole, P. E. Parker, and T. R. Gottwald. 2010. Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. *Crit. Rev. Plant Sci.* 29:59–107.
- Cheng, C. H. 1987. Investigation on bionomics of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) in the south of Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 29:135–146. (in Chinese with English abstract)
- Coats, B. 2003. Global rice production. p.247–270. *in: Rice: Origin, History, Technology and Production.* (Smith, C. W. and R. H. Dilday, eds.) John Wiley & Sons, Hoboken, NJ. 643 pp.
- Counce, P. A., T. C. Keisling, and A. J. Mitchell. 2000. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. *Crop Sci.* 40:436–443.
- Dale, D. 1994. Insect pests of the rice plant-Their biology and ecology. p.363–485. *in: Biology and Management of Rice Insects.* (Heinrichs, E. A., ed.) Wiley Eastern, New Delhi, India. 794 pp.
- Dangar, T. K. 2008. Infectivity and ecology of *Pseudomonas* spp. from natural epizootics in the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in India. *Biocont. Sci. Technol.* 18:241–253.
- Heong, K. L. 1990. Feeding rates of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae), on different plant stages. *J. Agric. Entomol.* 7:81–90.
- International Rice Research Institute. 2002. *Rice Almanac: Source Book for the Most Important Economic Activity on Earth.* 3rd ed. CABI Publishing. Oxon, UK. 253 pp.
- International Rice Research Institute. 2013. *Standard Evaluation System for Rice (SES).* 5th ed. International Rice Research Institute. Manila, Philippines. 55 pp.

- Lin, L. 2008. Overview of agreement statistics for medical devices. *J. Biopharm. Stat.* 18:126–144.
- Lin, L. I. 1989. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 45:255–268.
- Lindow, S. E. and R. R. Webb. 1983. Quantification of foliar plant disease symptoms by microcomputer-digitized video image analysis. *Phytopathology* 73:520–524.
- Lowman, M. D. and H. Heatwole. 1992. Spatial and temporal variability in defoliation of Australian eucalypts. *Ecology* 73:129–142.
- Manikandan, R., N. Balakrishnan, D. Sudhakar, and V. Udayasuriyan. 2016. Transgenic rice plants expressing synthetic *cry2AX1* gene exhibits resistance to rice leaffolder (*Cnaphalocrosis medinalis*). *3 Biotech.* 6:10.
- Martin, D. P. and E. P. Rybicki. 1998. Microcomputer-based quantification maize streak virus symptoms in *Zea mays*. *Phytopathology* 88:422–427.
- Mirik, M., G. J. Michels, S. Kassymzhanova-Mirik, N. C. Elliott, and R. Bowling. 2006. Hyperspectral spectrometry as a means to differentiate uninfested and infested winter wheat by greenbug (Hemiptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 99:1682–1690.
- Mohapatra, P., N. Ponnurasan, and P. Narayanasamy. 2009. Tribal pest control practices of Tamil Nadu for sustainable agriculture. *Indian J. Tradit. Knowl-edg.* 8:208–224.
- Nathan, S. S., P. G. Chung, and K. Murugan. 2004. Effect of botanical insecticides and bacterial toxins on the gut enzyme of the rice leaf folder *Cnaphalocrosis medinalis*. *Phytoparasitica* 32:433–443.
- Nathan, S. S., K. Kalaivani, K. Murugan, and P. G. Chung. 2005. Efficacy of neem limonoids on *Cnaphalocrosis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae) the rice leaffolder. *Crop Prot.* 24:760–763.
- Padmavathi, C., G. Katti, A. P. Padmakumari, S. R. Voleti, and L. V. Subba Rao. 2013. The effect of leaffolder *Cnaphalocrosis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae) injury on the plant physiology and yield loss in rice. *J. Appl. Entomol.* 137:249–256.
- Perović, D. J., M. L. Johnson, B. Scholz, and M. P. Zalucki. 2008. The mortality of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) neonate larvae in relation to drop-off and soil surface temperature: the dangers of bungy jumping. *Aust. J. Entomol.* 47:289–296.
- Prior, K. M. and J. J. Hellmann. 2010. Impact of an invasive oak gall wasp on a native butterfly: A test of plant-mediated competition. *Ecology* 91:3284–3293.
- Selvapandiyar, A., V. S. Reddy, P. A. Kumar, K. K. Tewari, and R. K. Bhatnagar. 1998. Transformation of *Nicotiana tabacum* with a native *cryIIa5* gene confers complete protection against *Heliothis armigera*. *Mol. Breed.* 4:473–478.
- Selvaraju, K., P. Shanmugasundaram, S. Mohankumar, M. Asaithambi, and R. Balasaraswathi. 2007. Detection of quantitative trait locus for leaffolder [*Cnaphalocrosis medinalis* (Guenée)] resistance in rice on linkage group 1 based on damage score and flag leaf width. *Euphytica* 157:35–43.
- Shanmugam, T. R., R. Sendhil, and V. Thirumalvalavan. 2006. Quantification and prioritization of constraints causing yield loss in rice (*Oryza sativa*) in India. *Agricultura Tropica et Subtropica* 39:194–201.
- Sogawa, K., G. J. Liu, and J. H. Shen. 2003. A review on hyper-susceptibility of Chinese hybrid rice to insect pests. *Chinese J. Rice Sci.* 17(S1):23–30.
- Xie, W., K. Yu, K. P. Pauls, and A. Navabi. 2012. Application of image analysis in studies of quantitative disease resistance, exemplified using common bacterial blight-common bean pathosystem. *Phytopathology* 102:434–442.
- Yadav, N. V., S. M. de Vos, C. H. Bock, and B. W. Wood. 2013. Development and validation of standard area diagrams to aid assessment of pecan scab symptoms on fruit. *Plant Pathol.* 62:325–335.
- Yen, F. C. 1981. Studies on the population dynamic and optimal control time of rice leaf roller. *Bull. Tainan Dist. Agri. Improv. Stn.* 15:81–93. (in Chinese)

A Rapid, Accurate, and Precise Image Analysis to Measure the Damaged Leaf Area Infested with Rice Leaf Folder

Hung-I Liu¹, Shou-Huang Huang^{2,*}, and Kuo-Szu Chiang^{3,**}

Abstract

Liu, H. I., S. H. Huang, and K. S. Chiang. 2017. A rapid, accurate, and precise image analysis to measure the damaged leaf area infested with rice leaf folder. *J. Taiwan Agric. Res.* 66(4):307–317.

Rice leaf folder [*Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée)] is one of the major pests of rice. Injury to flag leaf caused by rice leaf folder larva will reduce the efficiency of photosynthesis process, thereby leading to serious yield loss. Traditionally, the damaged leaf area of rice leaf folder has been measured using manual approach. However, the traditional method takes relatively more time and manpower. In this study, the image analysis via ASSESS 2.0 was used to measure the damaged leaf area. The result showed that measurement and analysis of image was highly consistent with that of the manual approach, which is regarded as the gold standard (ρ_c higher than 0.983). Moreover, the variance analysis showed that the two methods had no significant difference. In addition, the image analysis can reduce at least 29% measurement time. Thus, image analysis can be recommended as a tool for the damaged leaf area measurement infested with rice leaf folder.

Key words: Rice, *Oryza sativa* L., Rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée), Measurement, Image analysis.

Received: December 7, 2016; Accepted: March 14, 2017.

* Corresponding author, e-mail: shuang@dns.caes.gov.tw

** Corresponding author, e-mail: kucst@dragon.nchu.edu.tw

¹ Graduate student, Department of Agronomy, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.

² Associate Research Fellow, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.

³ Associate Professor, Department of Agronomy, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.