



#### Artículo Científico

# Agronomía asistida por ImageJ: eficacia del mucílago de cacao contra Rigodium implexum y rendimiento

ImageJ-assisted agronomy: efficacy of cocoa mucilage against Rigodium implexum and yield



Garcia-Gallirgos, Victor Jorge 1



https://orcid.org/0000-0003-4547-6187

victor.garcia2016@uteg.edu.ec



Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo.



Díaz-Sandoya, Eduardo Luis <sup>3</sup>



https://orcid.org/0000-0001-9050-1869



Universidad Estatal de Milagro, Ecuador, Milagro.



Patiño-Uyaguari, Javier Leonardo <sup>5</sup>



https://orcid.org/0000-0001-7636-6197





Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, Quevedo.



Reasco-Tigua, Emily Dayana<sup>2</sup>



https://orcid.org/0009-0000-8666-653X emily.reasco2015@uteq.edu.ec



Investigador Independiente, Ecuador, Quevedo.



Sabando-Avila, Freddy Agustin <sup>4</sup>



https://orcid.org/0000-0002-7011-7904 fsabando@uteq.edu.ec



Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador,



**DOI / URL:** https://doi.org/10.55813/gaea/rcym/v3/n4/97

implexum Resumen: ΕI musgo Rigodium afecta negativamente la productividad del cacao (*Theobroma cacao*). Este estudio evaluó la eficacia del mucílago de cacao como control del musgo y su efecto en el rendimiento, integrando fenotipado digital con ImageJ para cuantificar la cobertura de musgo (%). El ensayo se realizó en Buena Fe (Los Ríos, Ecuador) bajo un Diseño de Bloques Completamente Aleatorizado con cuatro tratamientos, cuatro repeticiones y cinco plantas útiles por parcela: control químico (oxicloruro de cobre) y mucílago al 75%, 50% y 25%. La severidad se midió semanalmente mediante captura estandarizada con escala, calibración mm/píxel, umbralización y medición de área en ImageJ. El tratamiento quimico, 50% y 25% de mucílago mejoraron el número de flores y frutos frente al testigo; mucílago 25% logró el mayor control del musgo a cinco semanas, con reducciones observadas de 0% (semana 1), 40% (2), 50% (3), 63,75% (4) y 77% (5). Los hallazgos respaldan el uso del mucílago como alternativa orgánica y medible para mitigar R. implexum, con efectos favorables sobre variables productivas y potencial de adopción en manejo sostenible del cacao.

**Palabras** clave: bioherbicida. mucílago, fenotipado. severidad.



Autor de correspondencia 1

Check for updates

Received: 30/Sep/2025 Accepted: 15/Oct/2025 Published: 28/Oct/2025

Cita: Garcia-Gallirgos, V. J., Reasco-Tigua, E. D., Díaz-Sandoya, E., Sabando-Avila, F. A., & Patiño-Uyaguari, J. L. (2025). Agronomía asistida por ImageJ: eficacia del mucílago de contra Rigodium implexum rendimiento. Revista Científica Ciencia Método, 3(4), 105. https://doi.org/10.55813/gaea/rcym/v3/n4

Revista Científica Ciencia y Método (RCyM) https://revistacym.com revistacym@editorialgrupo-aea.com info@editoriagrupo-aea.com

© 2025. Este artículo es un documento de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la Licencia Creative Commons. Atribución-NoComercial 4.0 Internacional.



#### Abstract:

Rigodium implexum moss negatively affects the productivity of cacao (*Theobroma cacao*). This study evaluated the effectiveness of cacao mucilage as a moss control and its effect on yield, integrating digital phenotyping with ImageJ to quantify moss coverage (%). The trial was conducted in Buena Fe (Los Ríos, Ecuador) under a completely randomized block design with four treatments, four replicates, and five useful plants per plot: chemical control (copper oxychloride) and mucilage at 75%, 50%, and 25%. Severity was measured weekly using standardized capture with scale, mm/pixel calibration, thresholding, and area measurement in ImageJ. The chemical treatment, 50% and 25% mucilage improved the number of flowers and fruits compared to the control; 25% mucilage achieved the highest moss control at five weeks, with observed reductions of 0% (week 1), 40% (2), 50% (3), 63.75% (4), and 77% (5). The findings support the use of mucilage as an organic and measurable alternative to mitigate *R. implexum*, with favorable effects on production variables and potential for adoption in sustainable cocoa management.

**Keywords:** bioherbicide, mucilage, phenotyping, severity.

#### 1. Introducción

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) mantiene relevancia agroeconómica en el trópico y requiere condiciones térmicas e hídricas estables para sostener crecimiento, floración y cuajado (Arvelo et al., 2017; Alarcón et al., 2012). La literatura especializada describe que variaciones fuera de rangos óptimos reducen el desempeño fisiológico y el rendimiento, y aumentan la vulnerabilidad a problemas bióticos (Arvelo et al., 2017; Alarcón et al., 2012). Asimismo, se documenta que el manejo poscosecha y las condiciones ambientales modulan la composición de la materia prima y, por extensión, el desempeño productivo (Guehi et al., 2010; Cubillos et al, 2019).

En ambientes cálido-húmedos, la colonización del fuste por briofitas epífitas (musgos y hepáticas) se reconoce como factor que altera el microclima del tronco, compite por espacio con cojines florales y se asocia a efectos negativos sobre emisión floral y rendimiento. En cacao se reporta el control exitoso de epífitos no vasculares mediante jugo de pulpa/mucílago fermentado aplicado al tronco, lo que sustenta su pertinencia agronómica como medida de bajo impacto (Acheampong et al., 2013). El mucílago de cacao, subproducto del beneficio con fracciones de azúcares, pectinas y ácidos orgánicos, se describe con potencial como bioinsumo y alternativa de manejo en la interfase madera-epífito (Coloma, Tapia, & Cueva, 2017; Ardhana & Fleet, 2003).

La evaluación objetiva del control de epífitos exige métodos cuantitativos reproducibles (Campuzano-Santana et al., 2025). El análisis por imagen con ImageJ se utiliza de forma amplia para estimar cobertura, área y severidad sobre tejidos

vegetales mediante protocolos de calibración, umbralización y segmentación, lo que reduce la subjetividad y mejora la trazabilidad de datos (Schindelin et al., 2012; Bock et al., 2010; Otsu, 1979). Revisiones y aplicaciones en fenotipado digital confirman la utilidad de estas herramientas para cuantificar rasgos vegetales y síntomas, y respaldan su adopción en estudios de cobertura de briofitas sobre troncos (Mutka & Bart, 2015; Das Choudhury et al., 2019; Barbedo, 2013; Sankaran et al., 2010; Lobet et al., 2011).

El estudio evalúa la eficacia del mucílago de cacao en distintas concentraciones para controlar el musgo *Rigodium implexum* y determina su efecto en variables productivas, con cuantificación digital de la cobertura mediante ImageJ (Coloma et al., 2017; Acheampong et al., 2013; Schneider et al., 2012). Se plantea la hipótesis de que una concentración óptima de mucílago reduce de forma significativa la cobertura del musgo y se asocia a mejoras de rendimiento, sustentada en un protocolo de medición por imagen objetivo y replicable (Mutka & Bart, 2015). Para garantizar precisión y reproducibilidad, la evaluación incorpora métodos cuantitativos que miden la severidad del musgo con ImageJ, software que posibilita la calibración métrica, la umbralización y la segmentación de las imágenes; esta estrategia transforma observaciones visuales en datos comparables, mejora la objetividad del análisis y fortalece la toma de decisiones en el manejo del cacao.

# 2. Materiales y métodos

El estudio se desarrolló en la finca "5 Hermanos", ubicada en el kilómetro 29 de la vía a Santo Domingo, cantón Buena Fe, provincia de Los Ríos, Ecuador (0°46'6" S; 79°27'6" O; 123 m s. n. m.). El área de influencia presenta una temperatura promedio anual de 32 °C, una humedad relativa del 83 % y una precipitación media de 2265 mm. La topografía es irregular, con suelos de textura franca y buena capacidad de retención hídrica.

La investigación fue de tipo experimental y se ejecutó bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con cuatro tratamientos, cuatro repeticiones y cinco unidades experimentales por parcela, para un total de 80 plantas. Los tratamientos fueron los siguientes: T1 (oxicloruro de cobre 37 g + 15 L de agua), T2 (mucílago de cacao al 75 %), T3 (mucílago al 50 %) y T4 (mucílago al 25 %). Las aplicaciones se realizaron directamente sobre la zona leñosa afectada por *Rigodium implexum*, con tres aplicaciones en intervalos de 15 días, dentro de un periodo total de 45 días.

El mucílago se recolectó del proceso de fermentación del cacao y se almacenó durante 15 días para favorecer la acción de bacterias lácticas y compuestos orgánicos activos. El control de malezas se efectuó manualmente durante todo el ensayo.

Las variables evaluadas fueron número de flores, número de frutos, rendimiento (kg ha<sup>-1</sup>) y porcentaje de cobertura de musgo. Esta última se determinó mediante análisis digital con el software ImageJ, a partir de fotografías estandarizadas del tronco de

cada planta. Las imágenes fueron procesadas aplicando calibración métrica, umbralización y medición del área afectada conforme a la escala de control ALAM.

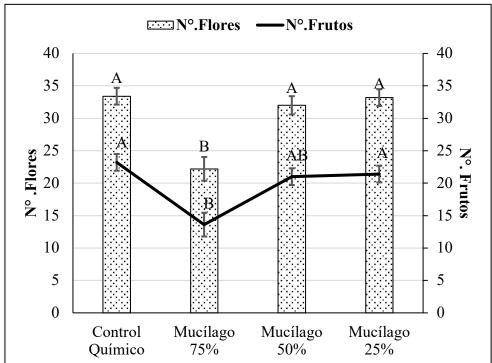
El análisis estadístico de los datos se realizó mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey al 95 % de probabilidad, utilizando el software InfoStat. Además, se efectuó un análisis económico basado en los costos y rendimientos de los tratamientos, calculando el beneficio neto, la relación beneficio/costo y la rentabilidad porcentual.

#### 3. Resultados

### 3.1. Número de flores y frutos

De acuerdo con los resultados obtenidos fue posible evidenciar que existen diferencias significativas entre los tratamientos tanto en la variable número de flores como número de frutos. En generación de flores: La aplicación del fungicida y mucílago al 25% y 50 % mantienen una respuesta homogénea de entre 32 y 33 flores por planta. El incremento de la concentración del mucílago al 75% ocasiona la disminución de las flores en un promedio de 22 por planta. La generación de frutos: La aplicación del fungicida químico y mucílago de cacao al 25% y 50% mantienen una respuesta homogénea de 21 frutos por planta. El incremento de la concentración del mucílago al 75% ocasiona la disminución de los frutos por planta (Figura 1).

Figura 1
Incidencia de mucílago de cacao y fungicida químico sobre los números de flores y frutos

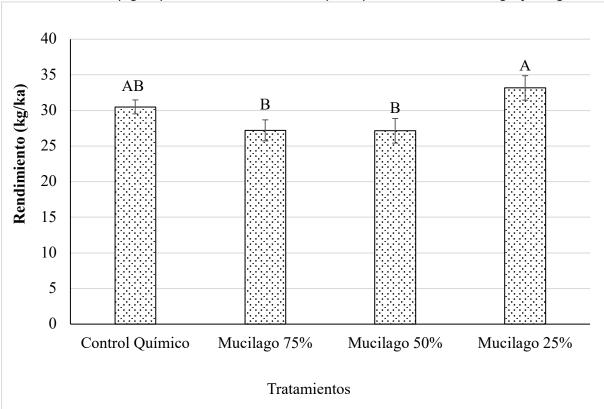


*Nota:* Letras diferentes indican diferencias significativas entre los promedios de cada uno de los tratamientos a p<0.05 (prueba de Tukey). Las barras indican la desviación estándar (Autores, 2025).

### 3.2. Rendimiento (kg/ha)

De acuerdo con los resultados obtenidos fue posible evidenciar que existen diferencias significativas entre los tratamientos. La aplicación de mucílago al 25% obtuvo mayor rendimiento con 33.16 Kg, revelando que este resultado genera interés al control del musgo sin promover afecciones al rendimiento productivo del cacao. En el fungicida se observó un rendimiento de 31 Kg, aceptable para la investigación. Por otro lado, en la aplicación de mucílago al 75% y 50% obtuvieron rendimientos menores significativos de 27.14 Kg y 27.20 Kg respectivamente. (Figura 2).

Figura 2
Rendimiento en (kg/ha) de cosecha de cacao por aplicación de mucílago y fungicida



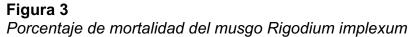
Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre los promedios de cada uno de los tratamientos a p<0.05 (prueba de Tukey). Las barras indican la desviación estándar (Autores, 2025).

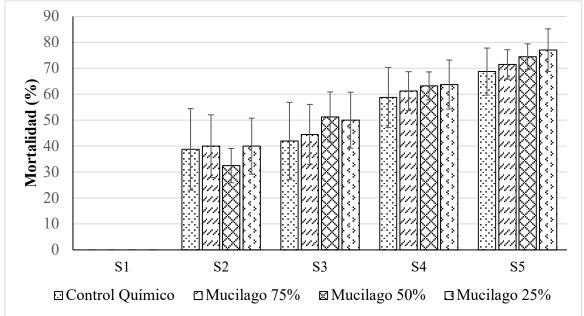
### 3.3. Porcentaje de Mortalidad del Musgo Rigodium implexum

Esta variable se evaluó semanalmente durante cinco semanas, según la escala de índice de musgo evaluada, los tratamientos estudiados no presentaron diferencias significativas entre ellas durante las semanas estudiadas.

- Primera semana: No se evidenció ningún cambio a la reducción de crecimiento del musgo en los tratamientos.
- Segunda semana: La aplicación de mucílago al 25% ejerce una disminución del 40 % al control del musgo, este resultado evidencia una efectividad similar a cuando se aplicó el control químico que ocasiona una reducción del musgo con 38% a 75% de eficiencia.

- Tercera semana: Aplicando mucílago al 50% se observó una efectividad de 54% en la mortalidad del musgo (*Rigodium implexum*), seguido de mucílago al 25% con un 50% de eficiencia en mortalidad del musgo y el de más bajo control fue la aplicación de control químico con 43%.
- Cuarta semana: Aplicando mucílago al 50% y 25% se observó un 63% de muerte eficaz.
- Quinta semana: se observó una cúspide de control, evidenciándose con el porcentaje más alto de control de muerte eficaz, con la aplicación de mucílago al 25% mientras que en el control químico se observó el control más bajo con porcentajes menores durante las cinco semanas que duró la recolección de datos (Figura 3).





Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre los promedios de cada uno de los tratamientos a p<0.05 (prueba de Tukey). Las barras indican la desviación estándar. S1: semana 1, S2: semana 2, S3: Semana tres, S4: semana 4, S5: semana 5 (Autores, 2025).

## 3.4. Análisis Económico

El uso del mucílago al 25% generó un rendimiento de 33.16 Kg/Ha, en donde su costo total fue de \$ 20, obteniendo un beneficio neto de \$ 8.53, con una relación beneficio/costo de \$ 1.43, por lo que al invertir \$ 1 se obtiene de ganancia \$ 0.43, generando así una rentabilidad de \$ 42.63. Mientras que control químico promovió menor ingresos, dado que su rendimiento es de 30.5 Kg y su costo total es de \$ 25, genera una relación B/C de 1.05 con una rentabilidad mínima de \$ 4.95 (Tabla 1).

 Tabla 1

 Análisis económico de la rentabilidad del cultivo de Theobroma cacao

Descripci ón	Rendimie nto (kg/trat)	Rendimie nto ajustado 7,5%	Ingre so bruto (\$)	Costo tratamie nto (\$)	Costo Variab le (\$)	Cost o total (\$)	Benefi cio neto (\$)	Relaci ón B/C (\$)	Rentabili dad (%)
Control Químico	30,5	28,21	26,24	15,71	9,29	25	1,24	1,05	4,95
Mucílago 75%	27,2	25,16	23,4	10,71	9,29	20	3,4	1,17	16,99
Mucílago 50%	27,14	25,1	23,35	10,71	9,29	20	3,35	1,17	16,74
Mucílago 25 %	33,16	30,67	28,53	10,71	9,29	20	8,53	1,43	42,63

Nota: kg/trat: kilogramos por tratamiento (Autores, 2025).

#### 4. Discusión

En este estudio, la aplicación de mucílago de cacao al 75 % mostró un efecto adverso sobre la formación floral y redujo la fructificación; al disminuir la concentración, la floración se recuperó y el desempeño se aproximó al tratamiento químico. Una explicación fisiológica plausible es la acidez elevada del mucílago en concentraciones altas: la pulpa/mucílago de cacao presenta pH bajo (3.1–3.7) y alta acidez titulable, con predominio de ácido cítrico y otros ácidos orgánicos Esta matriz ácida, útil para inhibir organismos indeseables, puede comprometer tejidos reproductivos cuando se aplica demasiado concentrada (Guehi et al., 2010; Ardhana y Fleet 2003), mientras que dosis intermedias tienden a equilibrar eficacia biológica y tolerancia de la planta (Cubillos et al., 2019).

La respuesta positiva observada con 25 % de mucílago (mayor floración y fructificación) contrasta parcialmente con lo reportado por Castillo y Flores (2023) en Guasaganda (Cotopaxi), donde el 100 % de mucílago fermentado fue el más eficaz para controlar *Rigodium implexum* (98,62 %) sin impacto negativo en la floración/fructificación, aunque en ese mismo trabajo el 25 % resultó ser el mejor para floración y el 100 % para fructificación. Este patrón sugiere que el "óptimo" puede variar por variable fenológica y por condiciones de sitio (estado de fermentación, microclima, manejo).

El uso del mucílago o pulpa fermentada como agente de control de epífitas en cacao tiene antecedentes fuera de Ecuador. En Ghana, Acheampong et al. (2013) realizaron ensayos con jugo de pulpa fermentado mismos que lograron demostrar control de musgos, líquenes y hepáticas en troncos y ramas, con mortalidad progresiva según el tiempo y la concentración aplicadas. Estos resultados respaldan el potencial fitosanitario del subproducto cuando se dosifica adecuadamente.

Adicionalmente, el estudio efectuado por Franco et al., (2023) evidenciaron que la aplicación de mucílago + ácido acético como herbicida/orgánico para musgo *R. implexum*; si bien concentraciones altas elevan la eficacia sobre el musgo, también

aumentan el riesgo de afectar estructuras sensibles, por lo que la optimización de la dosis es crítica para preservar floración y cuaje. Este mismo razonamiento coincide con lo observado en el presente estudio: dosis intermedias (25 %) lograron desempeño reproductivo superior sin sacrificar el control.

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que la concentración del mucílago influye directamente en la respuesta fisiológica del cacao y en la efectividad del control del musgo *Rigodium implexum*. La aplicación al 25 % mostró el mejor desempeño reproductivo, con incremento de la floración y fructificación, además de un control sostenido del musgo durante las semanas de evaluación. En contraste, la dosis del 75 % evidenció un efecto fitotóxico sobre los tejidos florales, reflejado en una menor producción de frutos, mientras que concentraciones intermedias mantuvieron una eficacia moderada sin afectar significativamente la fenología del cultivo (Herrera-Sánchez & Gavilánez-Buñay, 2023). Estos resultados confirman que el mucílago de cacao, aplicado en proporciones adecuadas, puede constituir una alternativa orgánica viable para el manejo de musgos en plantaciones de cacao, reduciendo el uso de insumos químicos y aprovechando un subproducto de la agroindustria cacaotera con valor ecológico y económico.

### 5. Conclusiones

El tratamiento con mucílago de cacao al 25 % se destacó como el más eficaz para el control del musgo (*Rigodium implexum*) durante cinco semanas de evaluación. A partir de la segunda semana se registró un 40 % de reducción en la cobertura del musgo, alcanzando valores de 50 % en la tercera, 63,75 % en la cuarta y 77 % en la quinta semana, evidenciando un efecto progresivo y sostenido. Este tratamiento también permitió obtener el mayor número de flores y frutos, así como un incremento notable en el rendimiento del cacao nacional, superando a las concentraciones del 75 % y 50 %, que presentaron menor efectividad. Desde el punto de vista económico, el mucílago al 25 % reportó la mejor relación beneficio/costo, con un gasto total de 20 USD, un beneficio neto de 8,53 USD y una rentabilidad del 42,63 %. Esto representa una relación de 1,43 USD, lo que significa que por cada dólar invertido se obtiene un retorno adicional de 0,43 USD, consolidando su viabilidad técnica y económica.

#### **CONFLICTO DE INTERESES**

"Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses".

## Referencias Bibliográficas

Acheampong, K., Lowor, S. T., Owusu-Ansah, F., & Opoku-Ameyaw, K. (2013). Use of fermented cocoa pulp juice for the control of non-vascular epiphytes on

- cocoa. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 8(3), 191–195. <a href="https://www.arpnjournals.com/jabs/research\_papers/rp\_2013/jabs\_0313\_535">https://www.arpnjournals.com/jabs/research\_papers/rp\_2013/jabs\_0313\_535</a>. pdf
- Alarcón Restrepo, J. J., Arévalo Peñaranda, E., Díaz Jiménez, A. L., Galindo Álvarez, J. R., & Rosero, A. A. (2012). *Manejo fitosanitario del cultivo del cacao (Theobroma cacao L.): Medidas para la temporada invernal.* Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). <a href="https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9789588214993">https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9789588214993</a> A26246133.pdf
- Ardhana, M. M., & Fleet, G. H. (2003). The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology, 86*(1–2), 87–99. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00081-3
- Arvelo Sánchez, M. A., González León, D. A., Maroto Arce, S., Delgado López, T., & Montoya López, P. (2017). *Manual técnico del cultivo de cacao: Prácticas latinoamericanas*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). https://repositorio.iica.int/handle/11324/6181
- Barbedo, J. G. A. (2013). Digital image processing techniques for detecting, quantifying and classifying plant diseases. *SpringerPlus*, 2, 660. https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-660
- 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. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(2), 59–107. https://doi.org/10.1080/07352681003617285
- Campuzano-Santana, K. L., Alarcón-Giraldo, V. D. ., & España-Lema, A. I. . (2025). Evaluación ambiental de sistemas agrícolas y forestales mediante análisis poblacional de nematodos como bioindicadores. *Journal of Economic and Social Science Research*, 5(2), 132-143. <a href="https://doi.org/10.55813/gaea/jessr/v5/n2/193">https://doi.org/10.55813/gaea/jessr/v5/n2/193</a>
- Castillo Balseca, K. A., & Flores Esquivel, E. F. (2023). Mucílago de cacao fermentada para el control de musgo (Rigodiumimplexum) en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.) CCN-51 en la parroquia Guasaganda [Tesis de licenciatura, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio Institucional de la Universidad Técnica de Cotopaxi. http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10093
- Coloma Coloma, T., Alulema Cuesta, M., España Escobar, Y., & Gualliche Serdán, L. (2017). Elaboración de un herbicida natural a partir de la pulpa mucilaginosa del cacao (Theobroma cacao). *Revista DELOS: Desarrollo Local Sostenible*, (29). http://www.eumed.net/rev/delos/29/herbicida-natural-cacao.html
- Cubillos Bojacá, A. F., García Muñoz, M. C., Calvo Salamanca, A. M., Carvajal Rojas, G. H., & Tarazona-Díaz, M. P. (2019). Study of the physical and chemical changes during the maturation of three cocoa clones, EET8, CCN51, and ICS60. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99(13), 5910–5917. <a href="https://doi.org/10.1002/jsfa.9882">https://doi.org/10.1002/jsfa.9882</a>

- Das Choudhury S, Samal A and Awada T (2019) Leveraging Image Analysis for High-Throughput Plant Phenotyping. *Front. Plant Sci.* 10:508. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00508
- Franco-Pesantez, F., Benavides Rogel, O.A., Gavilanes Heredia, X.A., Alvarado Espinoza, T.M., & Zambrano Cabrera, C.A. (2023). Synergy: cocoa mucilage with acetic acid in the control of moss (Rigodium implexum) on criollo cocoa plantations. *Journal of Agricultural Sciences Research* (2764-0973). <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.9733122304087">https://doi.org/10.22533/at.ed.9733122304087</a>
- Guehi, T. S., Zahouli, I. B., Ban-Koffi, L., Fae, M. A., & Nemlin, J. G. (2010). Performance of different drying methods and their effects on the chemical quality attributes of raw cocoa material. *International Journal of Food Science & Technology,* 45(8), 1564–1571. <a href="https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02302.x">https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02302.x</a>
- Herrera-Sánchez, D. J., & Gavilánez-Buñay, T. C. (2023). Estrategias de agricultura regenerativa para mejorar la salud del suelo. *Revista Científica Ciencia Y Método*, 1(2), 15-28. https://doi.org/10.55813/gaea/rcym/v1/n2/12
- Lobet, G., Pagés, L., & Draye, X. (2011). A novel image-analysis toolbox enabling quantitative analysis of root system architecture. *Plant Physiology, 157*(1), 29-39. <a href="https://doi.org/10.1104/pp.111.179895">https://doi.org/10.1104/pp.111.179895</a>
- Mutka, A. M., & Bart, R. S. (2015). Image-based phenotyping of plant disease symptoms. *Frontiers in Plant Science*, *5*, 734. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00734
- Otsu, N. (1979). A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9(1), 62–66. https://doi.org/10.1109/TSMC.1979.4310076
- Sankaran, K., Mishra, A., Ehsani, R., & Davis, C. (2010). A review of advanced techniques for detecting plant diseases. *Computers and Electronics in Agriculture*, 72(1), 1–13. https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.02.007
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, *9*(7), 676–682. https://doi.org/10.1038/nmeth.2019
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <a href="https://doi.org/10.1038/nmeth.2089">https://doi.org/10.1038/nmeth.2089</a>