



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00711

(22) Data de depozit: 10/11/2022

(41) Data publicării cererii:
30/05/2024 BOPI nr. 5/2024

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
BIOTEHNOLOGII ÎN HORTICULTURĂ
ȘTEFĂNEȘTI-ARGEȘ,
ȘOS. BUCUREȘTI-PITEȘTI NR.37,
ȘTEFĂNEȘTI, AG, RO

(72) Inventatori:
• VIZITIU DIANA ELENA, STR.COASTA
CÂMPULUI, NR.155 BIS, ȘTEFĂNEȘTI, AG,
RO;
• ȘANDRIC IONUȚ, BD.1 DECEMBRIE,
NR.74, BL.T4, SC.A, AP.14, OLTENIȚA, CL,
RO;
• SĂRDĂRESCU IONELA- DANIELA,
STR.PALTINULUI, NR.12, BL.A35, SC.C,
ET.4, AP.18, PITEȘTI, AG, RO

(54) MODEL EXPERIMENTAL PENTRU PROGNOZA SPAȚIALĂ
ȘI TEMPORALĂ A PATOGENULUI *UNCINULA NECATOR*

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de obținere a unui model experimental pentru prognoza spațială și temporală a patogenului *Uncinula necator*. Metoda, conform invenției, constă în colectarea imaginilor din plantații viticole prin intermediul unui telefon mobil și al unei drone, colectarea datelor referitoare la factorii climatici prin intermediul unei stații meteo, integrarea datelor într-o bază de date, dezvoltarea unui model experimental pentru estimarea apariției patogenului *U. necator*, model care se bazează pe statistici neliniare și fiind

implementat printr-o aplicație de învățare profundă, obținându-se un program care permite prognoza patogenului *U. necator*, în vederea prevenirii și reducerii efectelor negative pe care acesta le are asupra plantelor de viță-de-vie.

Revendicări: 2



MODEL EXPERIMENTAL PENTRU PROGNOZA SPAȚIALĂ ȘI TEMPORALĂ A PATOGENULUI *UNCINULA NECATOR*

DESCRIEREA INVENȚIEI

Prezenta invenție se referă la un model experimental destinat prognozei spațiale și temporale a patogenului *Uncinula necator*, prin utilizarea programului ArcGIS Pro și a instrumentelor de geoprocesare disponibile și dezvoltate în limbajul de programare Python.

Vița-de-vie poate fi afectată de foarte multe boli produse de diferiți agenți patogeni cum ar fi ciuperci, bacterii și virusuri. Factorii climatici pot favoriza debutul și evoluția acestor patogeni conducând uneori la pierderi economice datorită compromiterii producției de struguri. Deoarece patogenii pot fi combătuți foarte greu după apariția lor pe plantele de viță-de-vie, se impune obținerea de metode de prognoză și avertizare a patogenilor pentru sprijinirea viticulturilor.

Una dintre cele mai frecvente boli ale viței-de-vie este făinarea (Martínez-Bracero et al., 2018) și provine din America de Nord. În Europa, ciuperca a fost observată pentru prima dată în Anglia în anul 1845 (Nakova și colab., 2017), însă nu se cunoaște modul în care patogenul a ajuns aici și în restul lumii (Evans, 1996). Această boală este produsă de ciuperca *Uncinula necator* (Schw.) Burr. sinonim *Erysiphe necator* și infectează plantele familiei *Vitaceae*, incluzând genurile *Vitis*, *Parthenocisus* și *Ampelopsis* (Boesewinkel, 1980).

U. necator este un parazit obligatoriu care este în repaus în afara perioadei de vegetație prin două mecanisme cunoscute de iernare. Ciuperca poate forma cleistoteci rezistente, care conțin ascospori imaturi, produse sexuat sau supraviețuiesc ca hife vegetative în profilurile mugurilor viței-de-vie. Ambele forme de iernare ale patogenului *U. necator* au cerințe diferite pentru formare, iar semnificația epidemiologică a fiecărei forme depinde de condițiile de mediu din regiunea în care se cultivă vița-de-vie.

În perioada de creștere, ciuperca se răspândește prin conidii asexuate (Fessler și Kassemeyer, 1995). Viteza vântului de până la 2,3 m/s declanșează instantaneu dispersarea conidiilor de pe frunze, iar viteza mai mare a vântului va duce la dispersarea mai multor conidii.

Fracțiunea conidiilor dispersate la o viteză dată a vântului crește odată cu vârsta coloniei de la 12 la 24 de zile, în timp ce conidiile dintr-o colonie de 27 de zile nu sunt la fel de ușor de dispersat (Willoquet și colab., 1998a). Dispersia conidiilor apare și la debutul precipitațiilor, din cauza mișcării frunzelor. Alte practici de cultură care provoacă agitarea

frunzelor, cum ar fi tăierea sau stropirile cu presiune ridicată (vântul de până la 30 m/s) aplicate împotriva altor dăunători sau boli pot spori dispersia sporilor și epidemiile de fâinare (Willoquet și Clerjeau, 1998). Umiditatea relativă nu are niciun efect asupra dispersiei conidiilor la diferite viteze ale vântului (Willoquet și colab., 1998b).

Temperaturile de 20-27°C (optim 24-25°C) sunt favorabile pentru germinarea conidiilor și dezvoltarea bolii (Fessler și Kassemeyer, 1995; Willocquet și colab., 1996), deși germinarea poate avea loc între 6 și 33°C (Delp, 1954). Temperaturile de peste 32°C (Fessler și Kassemeyer, 1995) sau 35°C, inhibă germinarea conidiilor și temperaturile peste 40°C distrug conidiile. Germinarea se finalizează în decurs de 30 de ore după inoculare la temperaturi cuprinse între 12 și 30°C (Delp, 1954). Ciuperca se poate adapta la schimbare de temperatură iar ratele de germinare se pot modifica în funcție de temperatură în timpul dezvoltării conidiale. De exemplu, dacă conidiile se dezvoltă la temperaturi scăzute, rata de germinare a acestora la temperaturi scăzute este mai mare decât cea a conidiilor care se dezvoltă la temperaturi ridicate. Dacă conidiile se dezvoltă la temperaturi ridicate, germinarea lor este redusă la temperaturile scăzute. La temperaturi foarte ridicate are loc germinarea, dar cu o rată scăzută (Fessler și Kassemeyer, 1995). În condiții favorabile, coloniile încep să sporuleze după 5 zile. La 22°C și 26°C sporulația se va opri după 35 și respectiv 25 de zile (Chellemi și Marois, 1991a).

U. necator are un potențial extraordinar de reproducere rapidă. Rata netă de reproducere pe conidii individuale este între 2272 și 1300 conidii pe generație la 22°C și respectiv 26°C. Timpii medii de generație variază de la ± 23 zile la 19°C până la ± 14 zile la 30°C (Chellemi și Marois, 1992).

Stadiul conidial al *U. necator* este considerat, un agent patogen xerofitic al plantelor (Gadoury și Pearson, 1990a) și ploaia este considerată, în general, dăunătoare dezvoltării epidemiilor (Gadoury și Pearson, 1990b). Conidiile sunt adaptate pentru a germina în condiții uscate prin higroscopia lor, ceea ce pare că se datorează unei cantități mari de substanțe solubile conținute în vacuole conidiale. Acestea sunt neobișnuit de mari în comparație cu cele din ciupercile saprofite (Blaich și colab., 1989).

Apa liberă din ploaie poate spăla conidiile de pe suprafața plantei, perturbând astfel miceliul. Cu toate acestea, de obicei, creșterea fungică continuă, deoarece ciuperca este ușor impermeabilă și în cea mai mare parte adăpostită în frunzișul viței-de-vie (Emmett și colab., 1992).

Precipitațiile și umezeala frunzelor au o corelație pozitivă semnificativă cu eliberarea ascosporilor în plantație (Redl și colab., 2021).

Dezvoltarea normală a bolii poate apărea pe diferite umidități relative. Conidiile sunt relativ insensibile la deficit de presiune a vaporilor (VPD) la temperaturi sub 25°C (Delp, 1954). Umiditatea pare să aibă un efect mai mare asupra sporulației decât asupra germinării (Pearson și Gadoury, 1992).

Maturitatea frunzelor nu influențează foarte mult germinarea conidiilor și formarea apresorilor. Cu toate acestea, creșterea și sporularea sunt afectate negativ de avansarea maturității frunzelor (Singh și Munshi, 1993). *U. necator* se dezvoltă cel mai bine pe frunze tinere (când sunt pe jumătate extinse) și de obicei nu infectează frunze mai vechi de 2 luni (Doster și Schnathorst, 1985).

Atacurile de făinare (*U. necator*) pot să fie foarte violente mai ales în cazul soiurilor susceptibile. De aceea, această infecție trebuie detectată și controlată în stadii timpurii. Controlul ulterior nu este greu de realizat și costisitor dacă atacul este avansat. Din acest motiv, cultura eficientă a plantelor este posibilă numai cu luarea unor măsuri de prevenire a unor astfel de infecții.

Prin urmare, este esențială protejarea plantațiilor viticole de infecțiile cu patogenul *U. necator* și asigurarea unei producții de struguri de calitate. În acest sens s-au realizat diferite studii. De exemplu, a fost limitat numărul de tratamente împotriva agentului patogen *U. necator* cu ajutorul Strategiilor de Sprijinire a Deciziilor (DSS) la Cabernet Sauvignon și Chardonnay, culturi de viță-de-vie menținute în sistem irigat (Valdés-Gómez, 2017).

Modelele de învățare profundă pot ajuta foarte mult la detectarea bolilor plantelor când se utilizează imagini de teledetecție (Mohanty și colab., 2016). Există studii care arată că bolile plantelor pot fi analizate folosind modele de învățare profundă, un astfel de model este cel al lui Barbedo și colab. (2019), care a folosit leziuni și pete individuale pentru a detecta deteriorarea plantelor. Alți cercetători au reușit recunoașterea bolilor plantelor prin clasificarea imaginii frunzelor cu ajutorul rețelelor neuronale profunde (Sladojevic și colab., 2016). Identificarea bolilor frunzelor plantelor se poate realiza cu o acuratețe de 96,46 % folosind o rețea neuronală convoluțională adâncă cu nouă straturi (Geetharamani și Arun Pandian, 2019) dar și cu ajutorul arhitecturii DenseNets (pe baza imaginilor plantelor) chiar dacă trebuie făcute cercetări suplimentare pentru a îmbunătăți timpul de calcul (Too și colab., 2019). Modelarea învățării profunde (deep learning modelling) și viziunea computerizată pot fi utilizate și pentru detectarea și diferențierea manei viței-de-vie și acarienilor utilizând poze cu frunze de viță-de-vie (Gutiérrez și colab., 2021).

Clasificarea și identificarea corectă a tuturor a insectelor ce afectează culturile agricole este o sarcină dificilă pentru fermieri datorită aspectului similar. Această problemă, se poate



rezolva utilizând rețeaua neuronală convoluțională (CNN) cu arhitecturi profunde, care extrage caracteristicile și învață caracteristici complexe de nivel înalt în aplicațiile de clasificare a imaginilor (Thenmozhi, Srinivasulu Reddy, 2019). Totodată, rețeaua neuronală convoluțională (Mask R-CNN) se poate utiliza pentru cuantificarea precisă a inflorescențelor plantelor de viță-de-vie și a florilor (Rahim și colab., 2022).

Scopul acestei invenții este crearea unui model experimental pentru prognoza spațială și temporală a patogenului *Uncinula necator* cu ajutorul imaginilor culese cu aeronave fără pilot și echipate cu camere multispectrale, factorilor climatici și a sistemelor informatice geografice.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este aceea de obținere a unui model experimental pentru prognoza spațială și temporală a patogenului *U. necator*, cu ajutorul imaginilor culese cu aeronave fără pilot și echipate cu camere multispectrale, factorilor climatici, evoluției patogenului *U. necator* și a sistemelor informatice geografice.

Modelul experimental este construit pe Platforma ArcGIS de la Esri. Pe această platformă s-a construit o bază de date GIS (pentru întreprinderi) care a sprijinit toată procesarea datelor GIS. Imaginile de teren (fotografii de prim-plan ale frunzelor) au fost colectate cu telefoanele Samsung A70 (care au o cameră RGB puternică), și cu o aeronava fără pilot, care a preluat imagini RGBI oblice din plantațiile viticole (DJI Phantom 4 MS). Factorii climatici (temperatură, precipitații, umiditatea atmosferică, umiditatea frunzelor, viteza vântului) au fost colectate cu stația meteo iMetos 3.3. Toate aceste date au fost apoi ingerate în baza de date ArcGIS Enterprise, utilizând structura de date mosaic dataset. Folosind limbajul de programare Python și ArcGIS Python API, care implementează modulele FastAI și Pytorch, împreună cu aplicația desktop, ArcGIS Pro, care are instrumente avansate de analiză a imaginilor oblice, bazate pe concepte de imagine orientată, au fost instruite și testate modelele de învățare profundă. Modelele Deep Learning au utilizat atât modelele ResNet preantrenate, care există în `arcgis.learn`, cât și alte framework-uri pentru antrenarea și detectarea de tipare utilizând rețele neuronale convoluționale, precum arhitectura Tensorflow. Tehnologia GPU CUDA de la NVIDIA a fost utilizată pentru a antrena și testa eficient modelele Deep Learning. Totodată, s-a determinat influența factorilor climatici asupra ciclului biologic al patogenului *U. necator*.

Rezultatele modelului geospațial experimental creat prin acest proiect, a fost testat folosind scenarii de caz pentru zone cunoscute (cu ajutorul testelor statistice neparametrice). Pentru fiecare scenariu de caz a fost implementat un plan de testare iar rezultatele au fost comparate cu datele reale. Înainte de validarea rezultatelor au fost realizate teste continue, iar

după fiecare test, un proces de optimizare s-a concentrat în principal pe îmbunătățirea acurateții detectării, eliminarea erorilor și creșterii vitezei de execuție. Astfel, a fost elaborat un program care permite prognoza patogenului *U. necator*, în vederea prevenirii și reducerii efectelor negative pe care acesta le are asupra plantelor de viță-de-vie. Programul obținut poate crea hărți cu distribuția patogenului, indica zonele și perioadele în care patogenul poate apărea în plantația viticolă prezice procentul gradului de deteriorare a părților aeriene ale plantei de către *U. necator*.

Soluția propusă, conform invenției, **înlătură dezavantajele** întreținerii culturilor viticole în sistem convențional, în care trebuie monitorizată în permanență starea plantațiilor viticole de către o persoană, reducându-se astfel costurile cu manopera și deplasările zilnice în teren. Totodată, se realizează o combatere eficientă a patogenului *U. necator* prin aplicarea preventivă a tratamentelor fitosanitare și reducerea numărului tratamentelor curative.

Avantajul acestui model experimental este controlul patogenului *U. necator* cu ajutorul unei platforme care combină teledetecția, măsurătorile pe teren și modelele de învățare profundă de ultimă generație. Programul obținut poate crea hărți cu distribuția patogenului, indica zonele și perioadele în care patogenul poate apărea în plantația viticolă prezice procentul gradului de deteriorare a părților aeriene ale plantei de către *U. necator*.

Se prezintă în continuare un exemplu de aplicare al invenției.

Exemplu

Conform invenției, modelul experimental estimează apariția spațială și temporală a patogenului *U. necator* și a fost obținut conform descrierii de mai sus prin: monitorizarea zilnică a evoluției factorilor climatici, precum și a influenței acestora asupra ciclului biologic al patogenului *U. necator* (utilizând analiza tabelor încrucișate și regresia neliniară); construirea bazei de date GIS cu factorii declanșatori și favorabili pentru dezvoltarea patogenului (folosind ArcGIS pentru Desktop și instrumentele dezvoltate în Python); colectarea datelor pentru învățarea profundă (deep learning) cu telefon și aeronava fără pilot (Samsung Galaxy S10 plus și DJI Phantom 4 RTK MS); dezvoltarea modelului experimental SSD pentru pentru estimarea apariției patogenului *U. necator* (calculare avansate pentru estimări spațiale și temporale ale accesibilității teritoriale realizate cu instrumente GIS specializate programate în Python); modelul se bazează pe statistici neliniare folosind algoritmi precum LSTM, simularea apariției patogenului (prin intermediul platformei de testare); testarea și optimizarea modelului experimental dezvoltat (teste continue urmate de procese de optimizare); validarea rezultatelor obținute.



Referințe

- Barbedo, J.G.A. 2019. An Automatic Method to Detect and Measure Leaf Disease Symptoms Using Digital Image Processing. *Plant Disease*, 98(12), 1709–1716.
- Blaich R., Heintz C., Wind R. 1989. Studies on conidial germination and initial growth of the grapevine powdery mildew *Uncinula necator* on artificial substrates. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30, 415-421.
- Boesewinkel H.J. 1980. The morphology of the imperfect states of powdery mildews (Erysiphaceae). *The botanical Review* 46, 167-224.
- Chellemi D.O. și Marois J.J. 1991a. Sporulation of *Uncinula necator* on grape leaves as influenced by temperature and cultivar. *Phytopathology* 81, 197-201.
- Chellemi D.O., Marois J.J. 1992. Population dynamics of the plant pathogenic fungus *Uncinula necator*. *Can. J. Bot.* 70, 942-946.
- Delp J. 1954. Effect of temperature and humidity on the grape powdery mildew fungus. *Phytopathology* 1954, 44, 615–626.
- Doster M.A., Schnathorst W.C. 1985. Effects of the leaf maturity and cultivar resistance on the development of the powdery mildew fungus on grapevines. *Phytopathology* 75, 318-321.
- Emmett R.W., Buchanan G.A., Magarey P.A. 1992. Grapevine diseases and pest management. *Austr. N. Z. Wine Ind. J.* 7, 149-153.
- Evans K.J. 1996. Characterization of *Uncinula necator*, the grapevine powdery mildew fungus. PHD Thesis, University of Adelaide. 205pp.
- Fessler C., Kassemeyer H.H. 1995. The influence of temperature during the development of conidia on the germination of *Uncinula necator*. *Vitis* 34, 63-64.
- Gadoury D.M., Pearson R.E. 1990a. Germination of ascospores and infection of *Vitis* by *Uncinula necator*. *Phytopathology* 80, 1198-1203.
- Gadoury D.M., Pearson R.C. 1990b. Ascocarp dehiscence and ascospore discharge in *Uncinula necator*. *Phytopathology* 80, 393–401.
- Geetharamani G., Arun Pandian J. 2019. Identification of plant leaf diseases using a nine-layer deep convolutional neural network. *Computers & Electrical Engineering*, 76, 323–338. doi:10.1016/j.compeleceng.2019.04.
- Gutiérrez S., Hernández I., Ceballos S., Barrio I., Díez-Navajas A.M., Tardaguila J. 2021. Deep learning for the differentiation of downy mildew and spider mite in grapevine under field conditions. *Computers and Electronics in Agriculture*, 182, 105991. doi:10.1016/j.compag.2021.105991.
- Martínez-Bracero M., Alcázar P., Velasco-Jiménez M.J., Galán C. 2018. Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain. *Eur. J. Plant Pathol* 153, 1–13 <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1532-6>.
- Mohanty S.P., Hughes D. P., Salathé M. 2016. Using Deep Learning for Image-Based Plant Disease Detection. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Nakova M., Nakov B.K., Tatyantov M. 2017. Grapevine powdery mildew (*Uncinula necator* (Schw.) Burr.) – a permanent issue concerning the health status of grapes census in Bulgaria. *BIO Web of Conferences* 9:01021. DOI: 10.1051/bioconf/20170901021.
- Pearson R.C., Gadoury D.M. 1992. Powdery mildew of grape. Pages 129-146 in: *Plant Diseases International Importance. Vol III. Diseases of Fruit Crops.* J. Kumar, H. S. Chaube, U. S. Singh and A. N. Mukhopadhyay, eds. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Rahim U.F., Utsumi T., Mineno H. 2022. Deep learning-based accurate grapevine inflorescence and flower quantification in unstructured vineyard images acquired using a mobile sensing platform. *Computers and Electronics in Agriculture*, 198, 107088.
- Redl M., Sitavanc L., Spangl B., Steinkellner S. 2021. Potential and actual ascospore release of *Erysiphe necator* chasmothecia in Austria. *Journal of Plant Diseases and Protection* 128, 239248. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00376-0>.



Sladojevic S., Arsenovic M., Anderla A., Culibrk D., Stefanovic D. 2016. Deep neural networks based recognition of plant diseases by leaf image classification. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 1–11.

Singh T., Munshi G.D., 1993. Development of grape powdery mildew fungus as affected by leaf maturity and cultivar resistance. *Plant Dis. Rep.* 8, 121-125.

Thenmozhi K., Srinivasulu Reddy, U. 2019. Crop pest classification based on deep convolutional neural network and transfer learning. *Computers and Electronics in Agriculture*, 164, 104906. doi:10.1016/j.compag.2019.104906.

Too E.C., Yujian L., Njuki S., Yingchun L. 2019. A comparative study of fine-tuning deep learning models for plant disease identification. *Computers and Electronics in Agriculture*, 161, 272–279.

Valdés-Gómez H., Araya-Alman M., Pañitru-De la Fuente C., Verdugo-Vásquez N., Lolas M., Acevedo-Opazo C., Gary C., Calonnec A. 2017. Evaluation of a decision support strategy for the control of powdery mildew, *Erysiphe necator* (Schw.) Burr., in grapevine in the central region of Chile. *Pest Management Science*, 73(9), 1813-1821.

Willoquet L., Clerjeau M. 1998a. An analysis of the effects of environmental factors on conidial dispersal of *Uncinula necator* (grape Powdery Mildew) Vineyards. *Plant Pathol.* 47, 227–233.

Willoquet L., Berud F., Raoux L., Clerjeau M. 1998b. Effects of wind, relative humidity, leaf movement and colony age on dispersal of conidia of *Uncinula necator*, Causal Agent Grape Powdery Mildew. *Plant Pathol.* 47, 234–242.

Willoquet, Clerjeau. 1998. An analysis of the effects of environmental factors on conidial dispersal of *Uncinula necator* (grape Powdery Mildew) Vineyards. *Plant Pathol.* 47, 227–233.

Willoquet L., Colombet D., Rougier M., Fargues J., Clerjeau M. 1996. Effects of Radiation, Especially Ultraviolet B, on Conidial Germination and Mycelial Growth of Grape Powdery Mildew. *Eur. J. Plant Pathol.* 102, 441–449.



REVENDICĂRI

1. Model experimental pentru prognoza spațială și temporală a patogenului *Uncinula necator* **caracterizat prin aceea că**, este construit în platforma ArcGIS Enterprise de la Esri pe baza imaginilor colectate cu telefonul Samsung A70 și cu drona DJI Phantom 4 RTK (care a preluat imagini RGB și multispectrale oblice și nadirale din câmp), a factorilor climatici și a evoluției patogenului *U. necator* din plantațiile viticole.
2. Metoda de obținere a modelului experimental pentru prognoza spațială și temporală a patogenului *U. necator* **caracterizată prin aceea că** s-a utilizat biblioteca Python `arcgis.learn`, împreună cu aplicația desktop, ArcGIS Pro pentru instruirea și testarea modelelor Deep Learning (cu tehnologia GPU CUDA de la NVIDIA). Acestea din urmă au utilizat modelele ResNet preantrenate și cele de rețele neuronale convoluționale și arhitectura Tensorflow.

