

Anwendung automatischer Verfahren zur Erfassung von Wurzeln in Minirhizotron-Bildern

Application of automatic methods for the detection of roots in minirhizotron images

Maik Veste

Brandenburgische Technische Universität Cottbus, Zentralanalytisches Labor, Konrad-Wachsmann-Allee 6, 03045 Cottbus, Germany
E-mail: maik.veste@ecology-climate.de

Kurzfassung: Das Wurzelsystem der Pflanzen spielt eine wichtige Rolle für die Kohlenstoffverteilung und für die Aufnahme von Nährstoffen und Wasser. Die Minirhizotron-Technik erlaubt im Gegensatz zu destruktiven Methoden die ungestörte Erfassung der Feinwurzelproduktion, Mortalität und Umsatz. Die Minirhizotron-Technik kann für das Monitoring von Wurzeln über einen bestimmten Zeitraum, der zwischen Tagen und Jahren variiert, eingesetzt werden. Eine manuelle Auswertung der erfassten Bilder ist sehr zeitaufwendig. Ein verbessertes Verfahren für die automatische Wurzeldetektion, die einen regionen- und konturbasierten Ansatz kombiniert wurde, entwickelt. Erste Entwicklungsschritte sind die Erfassung von leicht erkennbaren Teilen der Wurzeln, welche als R-seeds bezeichnet werden.

Deskriptoren: Minirhizotrone, Automatische Bildanalyse, Wurzeldynamik, Wurzelsysteme

Abstract: *The root systems of plants play an important part in the carbon allocation and for the uptake of nutrients and water. The minirhizotron method, in contrast to destructive methods, permit the measurement of the fine root production, mortality and turnover. The minirhizotron technique can be used to monitor the same root(s) over selected time intervals, which can vary from days to years. Manual analysis of the resulting images is very time consuming, however. An improved approach for automatic root detection combining region and contour based techniques was developed. The first step is aimed at detecting easily recognizable parts of the root, which will be called a R-seed.*

Keywords: *Minirhizotron, automatic image analysis, root dynamics, root systems*

1 Einleitung

Die Wurzeln haben für die Pflanze wichtige Funktionen: Sie dienen der Verankerung und zur Aufnahme von Wasser und Nährstoffen aus dem Boden (WAISEL *et al.* 2002). Dabei ist die Durchwurzelung des Bodens, d.h. Die Wurzellängendichte, im Endeffekt entscheidend für die Wasseraufnahme und Nährstoffaufnahme. Aufbau und Tiefe des Wurzelsystems werden im Wesentlichen von den physikalischen und chemischen Bodeneigenschaften beeinflusst, aber auch genetisch gesteuert. Direkte Untersuchungen zur Struktur und Dynamik des Wurzelsystems sind allerdings im Boden erschwert. Vielfältige methodische Ansätze wurden für Wurzeluntersuchungen entwickelt (BÖHM 1979, SMIT *et al.* 2000). Destruktive Methoden, wie das Ausgraben von Wurzeln, erlauben keine langfristigen Untersuchungen der Wurzelndynamik. Mittlerweile hat sich die Minirhizotron-Technik als eine wichtige Methode zur Untersuchung des Wurzelsystems entwickelt (HENDRICK & PREGNITER 1995, SMIT *et al.* 2000, MAJDI *et al.* 2005), bei der durchsichtige Glas- oder Plexiglasröhren in den Boden eingelassen. Dies ermöglicht eine nicht-destruktive Wurzelbeobachtungen über einen längeren Zeitraum, sodass die saisonale Dynamik der Feinwurzelbildung bzw. Abbau, die Lebensdauer der Wurzeln, aber auch qualitative Daten wie die Wurzelfarbe, Verzweigungen und Bildung der Mykorrhiza erfasst werden. Für die Bilderfassung werden verschiedene Systeme verwendet: (a) Miniatur-Videokamera (Bartz-System, UPCHURCH & RITCHIE 1984, MAJDI & ANDERSSON 2005, MAJDI & PERSSON 2007), (b) technische Endoskope verbunden mit einer CCD-Videokamera (STEINKE *et al.* 1996, VESTE *et al.* 2005) und (c) Root-Scanner (DANNOURA *et al.* 2008). Der Durchmesser der verwendeten Röhren variiert zwischen 30 mm für Endoskope und 67 mm für die Videotechnik.

Für die Beobachtung des Wurzelwachstums von Tomaten wurde von VESTE *et al.* (2005) ein Boroskop der Firma Storz und Wolf mit einer Baulänge von 750 mm und einem Blickwinkel von 90° verwendet. Zur Beleuchtung wurde eine Kaltlichtquelle (Storz 81482) genutzt, die durch einen Glasfaser-Lichtleiter mit dem Endoskop verbunden war. Auf dem Endoskop wurde für die Bildaufnahme eine CCD-Kamera (Kappa CF 11/2, Göttingen) montiert und die Bilder auf einem S-VHS-Videorekorder (Panasonic) gespeichert bzw. direkt auf dem Monitor (Sony) noch am Messstandort ausgezählt. **Abbildung 1** zeigt Beispiele von Minirhizotron-Bildern, die mit Hilfe dieses Endoskop und einer CCD-Kamera aufgenommen wurden.



Abbildung 1: Minirhiztron-Bilder von Tomatenwurzeln aufgenommen mit einem Storz-Endoskop

Um Vergleiche bezüglich eines beliebigen Parameters durchzuführen und eine gesicherte statistische Auswertung der Minirhiztron-Bilder zu gewährleisten, muss der Stichprobenumfang auf die Spannweite der zu untersuchenden Variablen angepasst werden. Dazu ist eine hohe Anzahl von Röhren notwendig. Allein bei einem Versuchsansatz zur Untersuchung der Wurzeldynamik von Tomaten in einem Lysimeterexperiment wurden 56 Minirhizotrone verwendet (VESTE *et al.* 2005). Dabei mussten rund 26.000 Bilder manuell ausgewertet werden. Dieser hohe Personaleinsatz bei der Bilderfassung und vor allem bei der Bildauswertung limitiert den routinemäßigen Einsatz der Minirhizotron-Technik für das Wurzelmonitoring in der Agrar- und Forstwirtschaft.

2 Automatische Bildauswertung

Verschiedene Ansätze von interaktiven Programmen oder Ansätze zur automatischen Erkennung von Wurzeln wurden entwickelt (SMUCKER *et al.* 1987, CASARIN *et al.* 1993, ANDRÈN *et al.* 1996, RICHTNER *et al.* 2000). Diese Programme waren für die automatische Detektion von Wurzeln aus den Minirhizotron-Bildern nicht geeignet, da die Systeme stark von der Bildqualität beeinflusst werden und als vollautomatische Systeme verwendet werden. Eine verlässliche automatische Detektion konnte bei ausgewaschenen und gescannten Wurzeln gewährleistet werden (DOWDY *et al.* 1998). Erste Schritte für ein neues Verfahren einer automatischen Detektion von Wurzeln wurde von JANKOWSKI *et al.* (1995). Bisherige Algorithmen verwendeten sehr einfache, zum Teil feste Schwellenwerte. Allerdings sind diese Werte auf Grund der Variabilität des Hintergrundes für die Minirhizotron-Technik nicht verwendbar. Auch eine Detektion der Wurzeln mittels der Farbe war nicht möglich, da die Sandkörner und Wurzeln sehr ähnliche Farben aufwiesen. So wurde bei dem von JANKOSWKI *et al.* (1995) entwickelten Verfahren ein konturorientierter Ansatz verfolgt, der sich von den farb- (HEERAMAN *et al.* 1993) oder regionen-orientierten Ansätzen (SMUCKER *et al.* 1987) deutlich unterscheidet. Ausgang für die Bildverarbeitung waren Bilder, die auf einer S-VHS-Videokassette gespeichert

waren. Mittels eines Videoframegrabbers wurde das Farbbild digitalisiert und in Grauwerte umgewandelt. Das erzeugte digitale Bild hat eine Größe von 768x575 Pixeln mit einer Auflösung von ungefähr 1800 dpi. Das Bild wurde anschließend mit einem 11x11 Median geglättet.

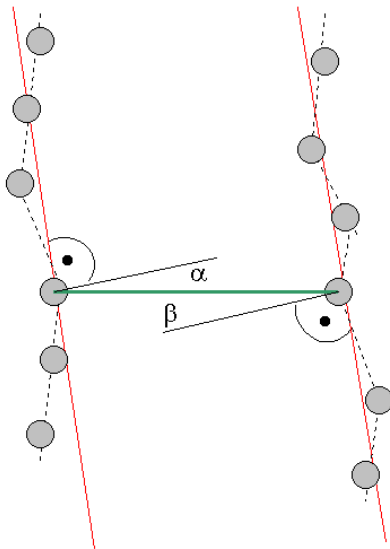


Abbildung 2: Bestimmung der R-seeds und Parallelität (verändert nach JANKOWSKI *et al.* 1995)

Für eine automatische Detektion der Wurzeln wurde ein zweistufiges Verfahren entwickelt: (1.) Die Detektion von R-Seeds (**Abbildung 2,3**) und (2.) deren Expansion (**Abbildung 3**). R-seeds sind definiert als kurze Abschnitte von Wurzeln, die sich mittels Grauwertunterschiede detektieren lassen. Für die Expansion wurden in der ersten Entwicklungsstufe (JANKOWSKI *et al.* 1995) ausschließlich lokale Informationen verwendet. Ein wichtiges Kriterium ist die Parallelität (**Abbildung 2**). Vergleicht man das konturorientierte Verfahren nach JANKOWSKI *et al.* (1995) mit dem regionenbasierten Ansatz nach SMUCKER *et al.* (1987), so ergibt sich ein eindeutiger Vorteil des konturorientierten Ansatzes. Dieser ursprüngliche Algorithmus wurde weiter modifiziert (ERZ & POSCH 2003, ERZ *et al.* 2005, 2006). Eine angeschlossene Komponentenanalyse wird verwendet, um Regionen in jedem der resultierenden Binär-Bildern zu erkennen. Die Regionen werden als R-Seeds gewählt, wenn sie eine bestimmte Form zu erfüllen. Als Kriterien werden Länge, Breite, Breite zu Längenverhältnis sowie die Krümmungen der Grenzen verwendet. Die daraus resultierenden Regionen sind sehr wahrscheinlich Teil einer Wurzel.

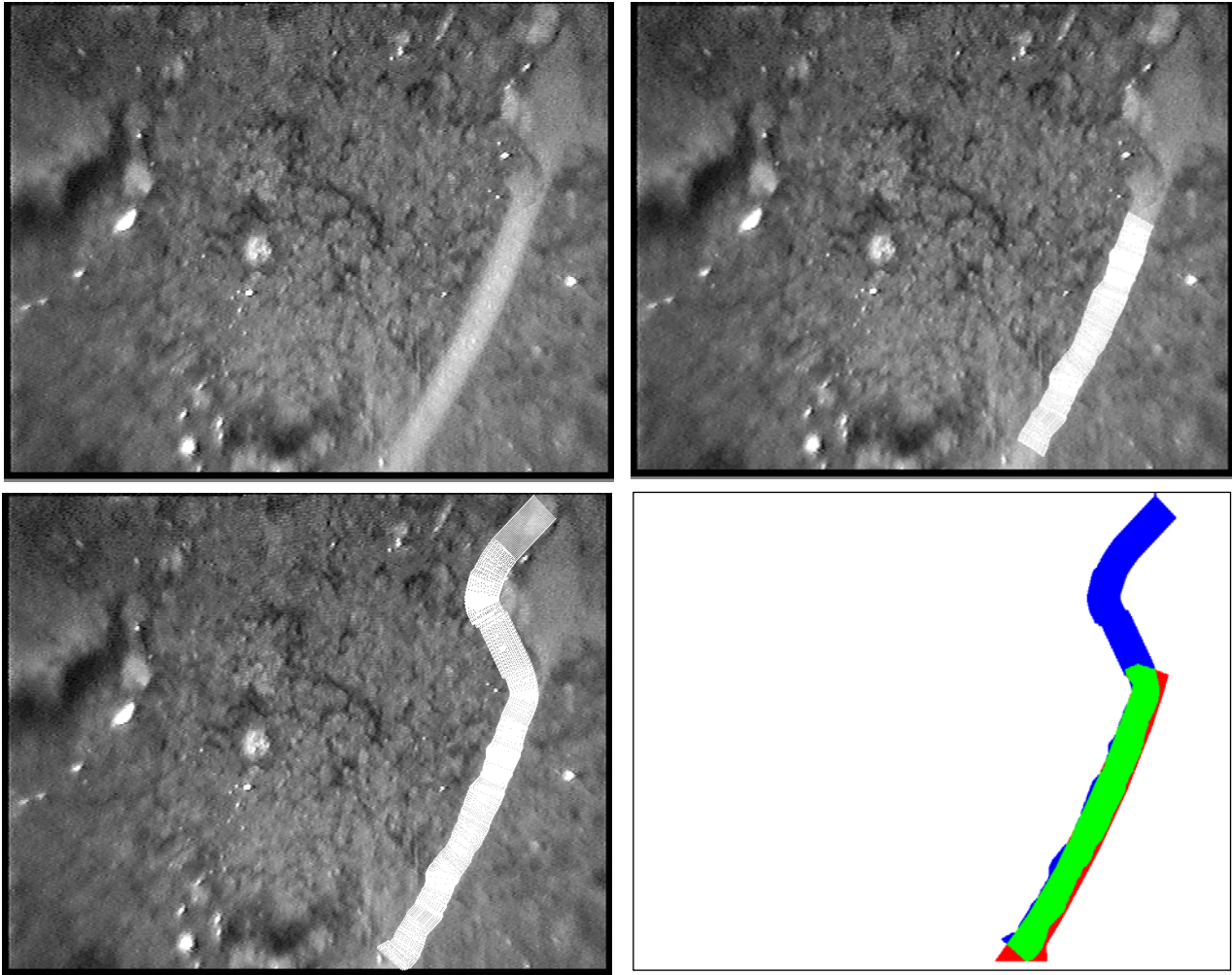


Abbildung 3: Original-Wurzel Bild (A), Detektion von R-seeds (B), Verlängerung der Wurzel (C) und Vergleich von richtig und falsch detektierten Wurzelabschnitten (D) (nach ERZ *et al.* 2006)

Für die Validierung des Programms verwendeten wir mehrere Zeitreihen von Minirhizotronbildern von Tomaten (VESTE *et al.* 2005). Die Wurzeln wurden sowohl automatisch detektiert als auch manuell durch einen Betrachter analysiert und markiert. Die Änderungen der Wurzelanzahl in den Bildern und deren Flächen sind in **Abbildung 4** dargestellt. Der Verlauf der Wurzeloberfläche reflektiert die Wurzeldynamik besser als deren Anzahl. Allerdings bestehen zum Teil noch eine Abweichung zwischen den automatisch erfassten Bereichen und den vorhandenen Wurzeln. Im Allgemeinen liegt der relative Fehler zwischen -8,8% und +7,3%. Nur in einem Fall, einer sich zersetzenden Wurzel, wurde die Fläche um 30,8% überschätzt. Probleme treten insbesondere auf, wenn Wurzeln vorhanden sind, die nicht ausgefüllt werden und beim Auftreten von Abzweigungen. Die Ausleuchtung der Bilder bei der Aufnahme hat sich als ein zentrales Problem bei der automatischen Detektion herausgestellt.

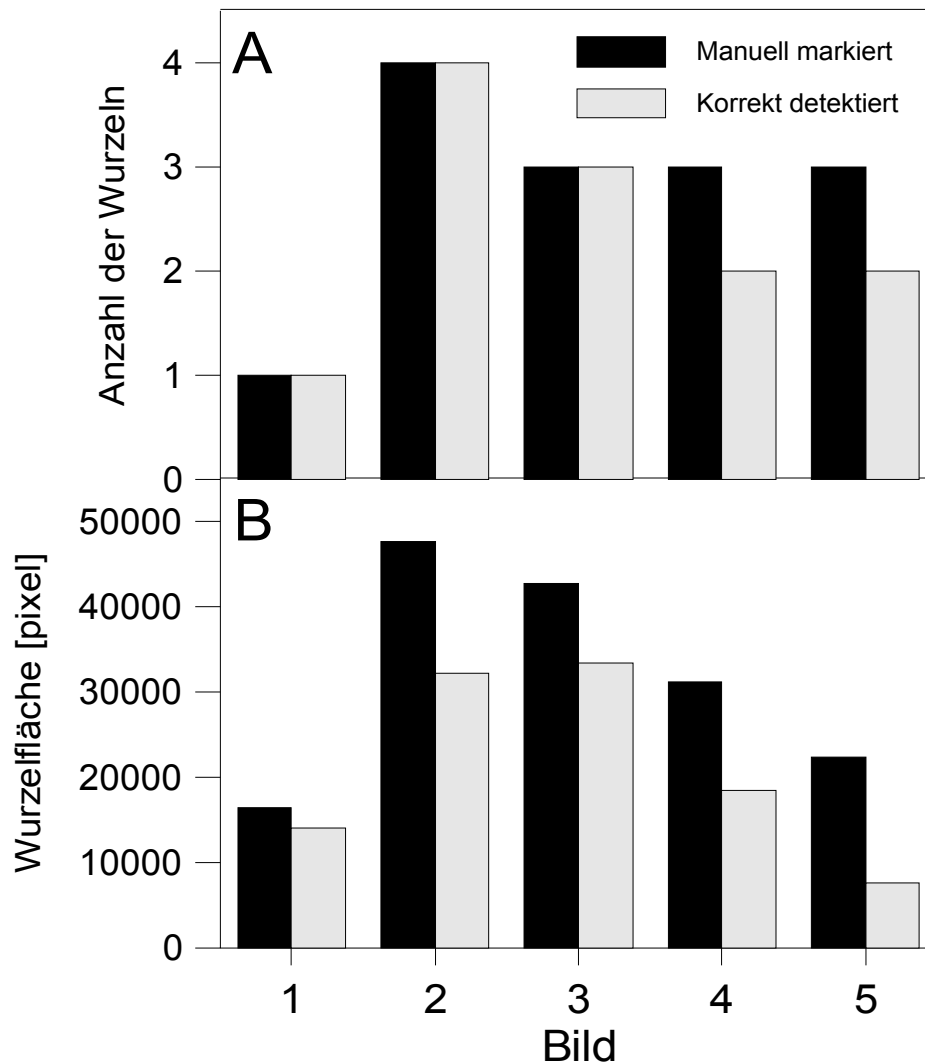


Abbildung 4: (A) Anzahl der manuell markierten und korrekt automatisch detektierten Tomatenwurzeln in einer Zeitreihe (Bild 1-5) und (B) manuell markierten und korrekt automatisch detektierten Wurzelfläche (verändert nach ERZ *et al.* 2005)

4 Ausblick

Bisherige Verfahren zeigen eine deutliche Limitierung bei der automatischen Detektion von Wurzeln. Ein neues Bilderfassung und -auswertesystem ist in der Entwicklung. Dies beinhaltet auch ein vollautomatische Kameraführung und Bilderfassung.

Literatur

ANDRÉN O., ELMQUIST H., HANSSON A.C. (1996): Recording, preprocessing and analysis of grass root images from a rhizotron. *Plant and Soil* 195: 259–269

BÖHM W. (1979): Methods of studying root systems. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York

- CASARIN M., JACQUEY S., FOURE A., GIRADIN P. (1991):** Digital picture processing and applied to the evaluation of plant root dynamics. In: B. McMichael & H. Persson (eds.) *Plant roots and their environment*, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, 570–575
- DANNOURA M., KOMINAMI Y., OGUMA H., HANAZAWA Y. (2008):** The development of an optical scanner method for observation of plant root dynamics. *Plant Root* 2: 14-18
- DOWDY R.H., SMUCKER A.J.M., DOLAN, FERCUSON J.C. (1998):** Automated image analyses for separating plant roots from soil debris elutrated from soil cores. *Plant and Soil* 200: 91-94
- ERZ G., POSCH S., ANLAUF H., BRECKLE S.-W., VESTE M. (2006):** Automatic detections of roots in minirhizotron images. In: Ephrath J., Eshel A., Waisel Y., Silberbush M. (eds.), *COST 38 Meeting Woody Root Processes - Revealing the Hidden half*, 4-8. February 2006, Sede Boqer, Israel. *Book of Abstracts*, 30
- ERZ G., VESTE M., ANLAUF H., BRECKLE S.-W., POSCH S. (2005):** A region and contour based technique for automatic detection of roots of tomatoes in minirhizotron images. *Applied Botany and Food Quality* 79: 83-88
- HENDRICK R.L., PREGNITER K.S. (1996):** Applications of minirhizotron to understand root function in forests and other natural ecosystems. *Plant and Soil* 185: 293 – 304
- JANKOWSKI M., BRECKLE S.-W., SAGERER G., POSCH S., VESTE M. (1995):** Automatische Detektion von Wurzelsystemen in Minirhizotron-Bildern. In: Sagerer G., Posch S., Kummert F. (Hrsg.): *Mustererkennung 1995 in „Informatik aktuell“*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 176-185
- MAJDI H., ANDERSSON P. (2005):** Fine Root Production and Turnover in a Norway Spruce Stand in Northern Sweden: Effects of Nitrogen and Water Manipulation. *Ecosystems* 8: 191-199
- MAJDI H., PERSSON H. (2007):** A study on fine-root dynamics in response to nutrient applications in a Norway spruce stand using the minirhizotron technique. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 158: 429-433
- MAJDI H., PREGITZER K., MORÉN A.-S., NYLUND J.-E., ÅGREN G.I. (2005):** Measuring Fine Root Turnover in Forest Ecosystems. *Plant and Soil* 276: 1-8
- RICHNER W., LIEGGENS M., BÜRGI H., SOLDATI A., STAMP P. (2000):** Root image analysis and interpretation. In: Smit et al. (eds.) *Root methods – a Handbook*. Springer Publisher, Stuttgart, Berlin, New York, 305 – 341
- SMUCKER A.J.M., FERGUSON J.C., DEBRUYN W.P., BELFORD R.K., RITCHIE J.T. (1987):** Image analysis of video-recorded plant root systems, In: Taylor, H.M. (ed.) *Minirhizotron observation tubes: methods and applications for measuring rhizosphere dynamics*. Ed. H M Taylor, ASA Special publications no. 50, Madison, WI, 67 – 80
- SMIT A.L., BENGOUGH A.G., VAN NOORDWIJK M., PELERGRIN S., VAN DE GEIJN S.C. (eds.) (2000):** *Root methods – a Handbook*. Springer Publisher, Stuttgart, Berlin, New York
- STEINKE W., VON WILLER, D.J., AUSTENFELD F.A. (1996):** Root dynamics in a salt marsh over three consecutive years. *Plant and Soil* 195: 265-269
- UPCHURCH D.R., RITCHIE J.T. (1984):** Battery-operated color video recording system in minirhizotrons. *Agron. J.* 75: 1009-1015
- VESTE M., KÖNIG C., MINNICH M. (2005):** Anwendung der Minirhizotron-Technik zur Untersuchung der Wurzeldynamik von Tomaten bei unterschiedlicher Bewässerung. Veste M., Wucherer W., Homeier J. (Hrsg.): *Ökologische Forschung im globalen Kontext*, Cuvillier Verlag, Göttingen, pp. 55-69
- WASEL Y., ESHEL A., KAFKAFI U. (2002):** *Plant Roots – The Hidden Half*. 3rd edition, M. Dekker, Inc. New York