

Anwendung von optischen Messsystemen zur nicht-destruktiven Erfassung von Wurzeln im Boden - Möglichkeiten und Perspektiven

Maik Veste

Centrum für Energietechnologie Brandenburg e.V., Friedlieb-Runge-Strasse 3, 03046 Cottbus, Germany

Email: maik.veste@me.com

Zusammenfassung: Untersuchungen des Wurzelsystems sind wichtig für das Verständnis der Wasser- und Nährstoffaufnahme durch die Pflanzen in Agrar- und anderen Ökosystemen. Der Zugang zum Wurzelsystem ist aufgrund des Bodens nur eingeschränkt möglich. Deshalb sind verschiedene optische Messsysteme eine Grundvoraussetzung für Langzeitbeobachtung der Feinwurzeldynamik. Minirhizotrone sind für diese Untersuchungen ein ideales Werkzeug. Verschiedene Techniken auf der Basis von VHS- und CCD-Kameras bzw. von Wurzelscanner wurden in den vergangenen Jahrzehnten entwickelt. Allerdings ist die Bildauswertung noch ein limitierender Faktor für eine umfangreiche Anwendung der Technik in der Bodenkunde und den Agrarwissenschaften. Ein automatisches Bilderfassung und -auswertesystem kann hier zukünftig einen deutlichen Vorschnitt für die Anwendung der optischen Messverfahren bringen.

Deskriptoren: Wurzelsysteme, Minirhizotrone, CCD-Kamera, automatische Bilderfassung, automatische Bildauswertung

Abstract: *Investigations of the root system are important for understanding of the processes of plant water and nutrient uptake in agricultural and other ecosystems. The access to the root system is limited due to the soil. Therefore, the use of optical measuring systems is essential for long-term root investigations of the fine root dynamics. Minirhizotrons are a suitable tool for this observations. Various techniques were developed in the recent decades using VHS- and CCD camera systems as well root scanners. However, image analysis is still the limiting factor for an intensive use of this technique in soil and agricultural sciences. An automatic image acquisition and image interpretation will improve the use of the optical measuring systems.*

Keywords: *Root systems, minirhizotron, CCD-camera, automatic image acquisition, automatic image analysis*

1 Einleitung

Das Wurzelsystem ist von großer Bedeutung für die Prozesse des Wasser- und Nährstoffaufnahme in Agrar- und anderen Ökosystemen. So beträgt der Anteil der unterirdischen Biomasse von Getreide rund 30% und der von Wiesen zwischen 20 und 50% (LARCHER 2003). Für die Untersuchungen der Struktur und Funktion des Wurzelsystems wurde eine Vielzahl von Methoden entwickelt (WAISEL *et al.* 202, SMIT *et al.* 2001, MANCUSO 2012). Bei destruktiven Methoden erfolgt die Entnahme des Wurzelsystems als Bodenmonolith oder Bohrkern und einem anschließenden Auswaschen der Wurzeln. Eine weitere Methode ist das Anlegen einer Profilwand, in der die Verteilung des Wurzelsystems erfasst wird. Für die Auswertung des Wurzelsystems werden mittlerweile Flachbrettscanner verwendet (DANNOURA *et al.* 2012). Diese Methoden erlauben aber keine langfristigen Untersuchungen zur Dynamik des Wurzelsystems, da sie das Untersuchungsobjekt stören oder zerstören. Rhizotrone sind hier eine alternative Methode zur nicht destruktiven Beobachtung des Wurzelsystems, bei denen Glasplatten oder Glasfenster in den Boden eingebracht werden (ANDRÉN *et al.* 1996) und so eine langfristige Beobachtung und Vermessung des Wurzelsystems erlauben. Allerdings stellen diese Glasplatten eine große Störung des Bodengefüges dar und Untersuchungen des Wurzelsystems sind nur bedingt aussagekräftig.

2 Minirhizotron-Technik

Im Gegensatz zu der Rhizotrone erlaubt die Minirhizotron-Technik eine nicht-destruktive Wurzelbeobachtungen über einen längeren Zeitraum ohne größere Bodenstörungen. Seit mehr als 20 Jahren sind hierfür verschiedene kommerzielle Systeme für Wurzeluntersuchungen auf dem Markt, die auf Standard-Video-Technik (FERGUSON & SMUCKER 1989), Endoskopen (STEINKE *et al.* 1996, VESTE *et al.* 2005) oder Scannern (HEDENRUD 2009) basieren.

Bei dieser Minirhizotron-Methode werden Glas- oder Plexi-Glasröhren in der Nachbarschaft der Pflanzen in den Boden eingelassen und mittels optischer Systeme beobachtet. Der Durchmesser der verwendeten Röhren variiert zwischen 30 bis 62 mm (**Tabelle 1**). Die Installation der Röhren kann dabei in unterschiedlichen Winkeln erfolgen. Bei den größeren Röhren (Durchmesser >60 mm) erfolgt häufig der Einbau in Winkeln zwischen 30° und 45° (MAJDI & PERSSON 2007, HEDENRUD 2009) oder horizontal (SMIT *et al.* 1994), um eine optimale Beziehung zwischen den Wurzellängen aus den Minirhizotron-Bildern und Wurzelproben zu erhalten und das Wachstum von Wurzeln entlang der Röhren zu vermeiden. Allerdings ist der Einbau von gewinkelten Röhren technisch sehr aufwendig und die Plexi-Glasröhren sind sehr empfindlichen gegenüber Kratzern. Eine geringe Störung des Bodens und des Wurzelsystems sind die von STEINKE *et al.* (1996) und VESTE *et al.* (2005) verwendeten Glasröhren, die leicht mit Hilfe eines Pürkhauer-Bohrstock in einem Winkel von 90° installiert werden (**Bild 1**). Die Glasröhren sind gegenüber mechanischen Beschädigungen weniger empfindlich. Auch konnte ein

Wurzelwachstum entlang der Röhren nur in Einzelfällen beobachtet werden (VESTE *et al* 2005).



Bild 1: Installation der Glasröhren (Durchmesser 30 mm) für Minirhizotron-Untersuchungen mit einem starren Endoskope. Um das Eindringen von Licht in den Boden über die Glasröhren zu vermeiden, ist der obere Teil mit einem schwarzen Klebeband versehen

3 Bilderfassung

Die Bilderfassung erfolgt in der Regel durch eine Video-Kamera, die entweder direkt in die Röhre eingeführt werden (Bartz-System) oder mit einem Endoskop verbunden ist (**Tabelle 1**). Beim Bartz-System erfolgt die Positionierung manuell mit einer starren Stange entlang vorgegebener Markierungen. Für die Wurzelendoskopie werden handelsübliche starre Boroskope mit einer Baulänge von 75 cm verwendet (**Tabelle 1**). Für die Bildaufnahme wird eine externe CCD-Kamera verwendet, die über einen C-Mount Adapter direkt an dem Endoskop verbunden ist (**Bild 2**). Die in diesem Versuch verwendeten Kameratyp ist eine CCD-Kamera Zelos - 415C GV PoE Color (Kappa GmbH, Göttingen, DE), die für die Kamerasteuerung über ein Ethernet-Kabel mit einem Laptop verbunden ist. Die Bildspeicherung erfolgt als Einzelbilder direkt auf dem Computer. Beispiele für Wurzelbilder, die mit einer CCD-Kamera an einem Endoskop aufgenommen wurden, sind in **Bild 3** dargestellt. Der beobachtete Bildausschnitt beträgt nur ca. $0,8 \text{ cm}^2$, so dass entlang der Röhre Einzelbilder in vier Richtungen in einem Abstand von 2,5 cm aufgenommen werden. Die Beleuchtung erfolgt extern mit einer Kaltlichtquelle. Um Spiegelungen der Beleuchtung zu vermeiden, die eine Auswertung der Bild

deutlich erschweren, wird das Endoskop einseitig mit Hilfe einer Führung in der Röhre positioniert.

Tabelle 1: Übersicht über die kommerziell verfügbare Minirhizotron-Technik

| | Miniatur-Video-Kamera | Endoskop-System | In-Situ Root Imager CI-600 |
|---|--|--|---------------------------------|
| Hersteller | BARTZ TECHNOLOGY CORPORATION, Carpinteria, CA, USA | Endoskop: KARL STORZ GmbH & Co. KG, Tuttlingen DE RICHARD WOLF GmbH, Knittlingen, DE | CID BIO-SCIENCE, Camas, WA, USA |
| Kamera | Miniatur-Video-Kamera direkt in der Röhre | CCD-Kamera Zelos, Kappa Göttingen verbunden mit Endoskop | Scanner System |
| Rohrdurchmesser (innen) | 28.5 - 50.8 mm | 28 mm | 64 mm |
| Länge | 200 cm | 75 - 150 cm | 182.9 cm |
| Führung | starr | starr | flexibel |
| Bodenstörung | Hoch | Minimal | Hoch |
| Computergesteuerte Führung | Nein (manuelle Führung) | Nein (manuelle Führung) | Nein (automatisch) |
| Automatisches Wiederauffinden von Aufnahmepunkten | Nein | Nein | Nein |
| Vollautomatische Bildaufnahme | Nein | Nein | Ja |
| Vollautomatische Bilderkennung | Nein | Nein | Nein |
| Bildauswertung | WinRhizo | keine spezielle Auswertesoftware, u.a. RootFly (Freeware) | WinRhizo, RootSnap |
| Zusammenführung zu einem Bild | Nein | Nein | Ja |

Der Root Scanner CI-600 (**Tabelle 1**) ermöglicht eine automatische Bilderfassung von 360°-Bildern mit einer Auflösung von 1200dpi bis zu 188 Millionen Pixeln. Das Gesamtbild hat eine Größe von 21,59 x 19,59 cm. Der Scanner-Kopf hat eine Länge von 34,3 cm und einen Durchmesser von 64 mm. Mit einem neu entwickelten automatischen System (VMS Vollautomatisches Minirhizotron-System, UP GmbH, Ibbenbüren und Cottbus, DE) wird die Kamera durch eine Führung in der Röhre durch Schnittmotoren positioniert und die Bilderfassung kann so voll automatisch erfolgen (VESTE *et al.* 2010). Dies ermöglicht eine schnelle und genau reproduzierbare Bilderfassung. Die

Einzelbilder werden, wie bei dem Scanner-System, automatisch zu einem Gesamtbild zusammengeführt und gespeichert. Zu dem erlaubt das System eine Wiederholung von Einzelbildern, so das einzelne Bildabschnitte automatisch durch den Schnittmotor angesteuert werden. Dies ist u.a. für Untersuchungen der Lebensdauer und der Entwicklung der Mykorrhiza von Vorteil. Der Durchmesser der Röhren beträgt wie bei den Endoskopen 28 mm. Die Baulänge kann variabel an Kundenwünsche angepasst werden.



Bild 2: Anwendung von Minirhizotronen und der Endoskopie-Technik zur Untersuchung der Feinwurzelndynamik von Apfelbäumen am ATB Potsdam-Bornim

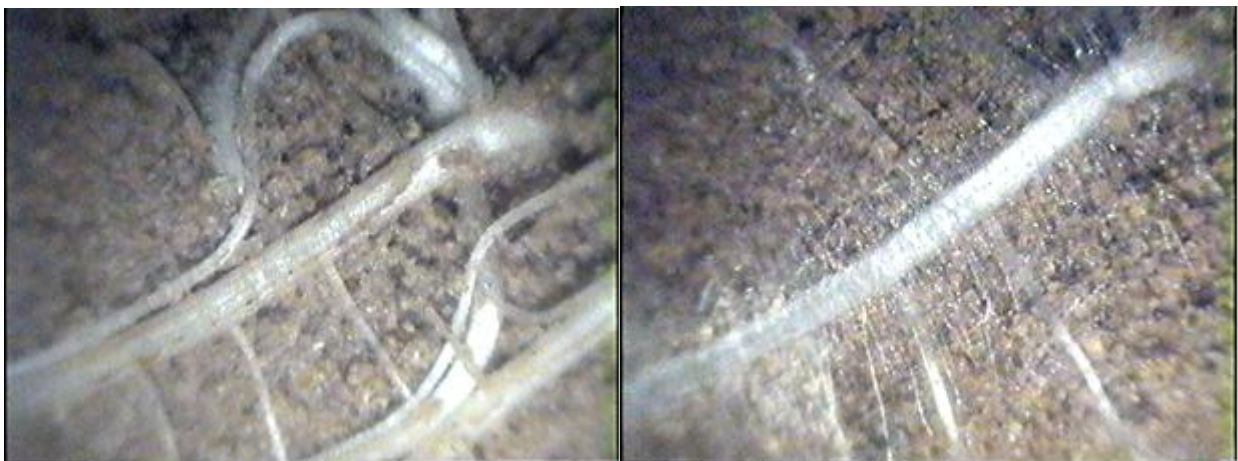


Bild 3: Minirhizotron-Bilder von Tomatenwurzeln aufgenommen mit einem Storz-Endoskop und einer Kappa-Kamera

4 Bildauswertung

Die Minirhizotron-Technik erlaubt somit eine relativ störungsfreie Untersuchung der Entwicklung der Feinwurzeln. Somit kann die saisonale Dynamik der Feinwurzeln, deren Neubildung und Abbau in situ beobachtet werden. Als Parameter werden u.a die Wurzellänge, Durchmesser, Fläche, Färbung und Anzahl von Wurzelspitzen und Verzweigungen erfasst. Für Untersuchungen der Lebensdauer und der Bildung der Mykorrhiza können einzelne Wurzelabschnitten wieder angesteuert werden. **Bild 4** zeigt als Beispiel die saisonale Wurzeldynamik von Tomaten in Abhängigkeit von der Salzbelastung des Bewässerungswassers (VESTE *et al.* 2005). In einem 10-tägigen Intervall wurden in diesem Beispiel Einzelbilder in 2,5 cm Abständen bis in eine Tiefe von 70 cm mit einem Endoskop aufgenommen. Für die Bestimmung der unterirdischen Biomasse müssen allerdings die Ergebnisse der Minirhizotrone weiterhin mit Biomasse von Bohrkernen oder Ausgrabungen abgeglichen werden, da die Minirhizotrone nur einen Ausschnitt aus dem Boden erfassen. So variieren die Korrelationen zwischen Parametern der Minirhizotron-Untersuchungen und Biomasse-Parametern mit einem r^2 von 0.431 bis 0.76 (SMIT *et al.* 1994, VESTE *et al.* 2005).

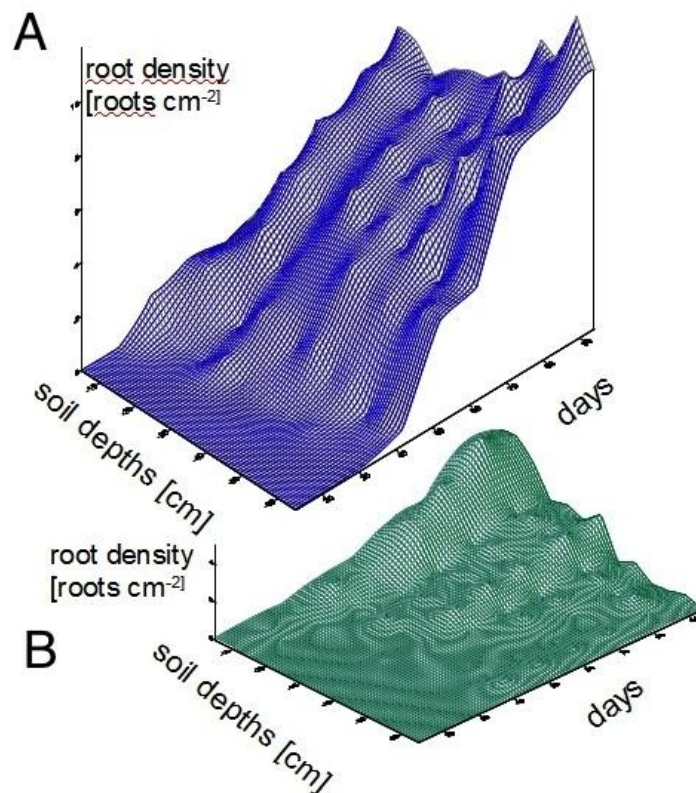


Bild 4: Feinwurzeldynamik von Tomaten in einer Bodentiefen von bis zu 70 cm während einer Wachstumsperiode von 94 Tagen in Abhängigkeit von der Salinität des Bewässerungswasser (A: EC 1 mS m⁻¹, B: EC 1 mS m⁻¹) (VESTE *et al.* 2005)

Für die Bildauswertung von Minirhizotronbildern stehen verschiedene Bildverarbeitungsprogramme zur Verfügung (WinRhizo, RootSnap). Das Programm RootFly eine OpenSource Software, das von BIRCHFIELD & WELLS (2008-2011) an der University of Clemson, USA entwickelt wurde. Diese Programme messen die Wurzellänge, Fläche, Volumen und den Durchmesser und ermöglichen zu dem die Analyse von Zeitreihen für Wachstumsuntersuchungen. Allerdings erfolgt die Identifizierung der Wurzeln durch den Auswerter. Um Vergleiche bezüglich eines beliebigen Parameters durchzuführen, muss dabei der Stichprobenumfang auf die Spannweite der zu untersuchenden Variablen angepasst werden, was allerdings mit einer größeren Bildmenge verbunden ist und somit einer zeit- und personalintensiven Auswertung verbunden ist. Allein bei einem Versuchsansatz mit 56 Minirhizotrone mussten in einem praktischen Versuch mit Endoskopen rund 26.000 Bilder manuell ausgewertet werden (VESTE *et al.* 2005). Dieser hohe zeitliche Einsatz von Personal verhindert allerdings eine entsprechend notwendig umfangreiche Beprobung. Eine bessere Effizienz bei der Bilderfassung und –auswertung ließe sich mit Hilfe von automatischen Verfahren realisieren. So wurden verschiedene Ansätze zur einer automatischen Identifizierung der von Wurzeln entwickelt, um die Auswertung der Bilder zu beschleunigen (RICHNER *et al.* 2001, ZENG *et al.* 2006, VESTE 2010). Farbinformation können nur bei dunklen Hintergründen (**Bild 5**) für die Detektion angewendet werden, haben aber bei sandigen Böden (**Bild 3**) große Probleme mit einer korrekten Identifikation der Wurzeln, so dass das von JANKOWSKI *et al.* (1995) entwickelte Verfahren einen konturorientierter Ansatz verfolgt. Ein optimiertes Verfahren für die automatische Wurzeldetektion, bei dem eine regionen- und konturbasierten Ansatz kombiniert wurde, wurde entwickelt und erfolgreich an Testbildern validiert (ERZ *et al.* 2005). Die relativen Fehler betragen -8,8% bis +7,3% bezogen auf die Wurzeloberfläche. Nur in einem Fall, einer sich zersetzenden Wurzel, wurde die Fläche um 30,8% überschätzt.



Bild 5: Wurzelspitze einer Buche (*Fagus sylvatica* L.) aufgenommen mit einem Storz-Endoskop und einer CCD-Kamera (Kappa CF 11/2)

5 Ausblick

Die Weiterentwicklung der automatischen Erfassung des unterirdischen Wurzelwachstums würde neue Anwendungsbereiche im Langzeit-Monitoring ermöglichen, die bisher aufgrund der bisherigen Technik nur mit Einschränkungen möglich sind.

6 Danksagung

Dank an Werner B. Herppich (ATB Potsdam-Bornim, Institut für Technik im Gartenbau) und Alon Ben-Gal (ARO Gilat Center, Israel) für die Unterstützung bei den Minirhizotron-Versuchen und Gerhard Kast (UP GmbH, Cottbus) und H.-P. Schäfer (Schäfer GmbH Industrielle Mess- u. Videotechnik, Braunschweig) für die Kooperation zur Weiterentwicklung der automatischen Bilderfassung.

Literaturverzeichnis

- ANDRÉN O., ELMQUIST H., HANSSON A.C. (1996):** Recording, processing and analysis of grass root images from rhizotron. *Plant and Soil* 185(2): 259-264
- DANNOURA M., KOMINAMI Y., MAKITA N., OGUMA H. (2008):** The of an optical scanner method for observation of plant root dynamics. *Plant Root* 2: 14-18
- FERGUSON J.C., SMUCKER A.J.M. (1989):** Modifications of the minirhizotron video camera system for measuring spatial and temporal root dynamics
- 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
- HEDENRUD A. (2009):** Fine root dynamics in a drained organic spruce forest in South-Western Sweden. Magisterexam. Institutionen för växt- och miljövetenskaper Göteborgs universitet, Göteborg, Sweden. http://www.ipd.gu.se/digitalAssets/1301/1301928_Anna_Hedenrud.pdf (20. Mai 2012)
- 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
- LARCHER W. (2003):** Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups, 4th ed., Springer, Berlin, 513 pp
- MANCUSO S. (ed.) (2012):** Measuring roots - an updated approach. Springer, Heidelberg, Berlin, New York
- 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
- RICHNER W., LIEDGENS M., BÜRGI H. SOLDATI A., STAMP P. (2000):** Root image analysis and interpretation. In: SMIT A.L., BENGOUGH A.G., VAN NOORDWIJK M., PELERGRIN S., VAN DE GEIJN S.C.(eds.) *Root methods – a Handbook*. Springer Publisher, Stuttgart, Berlin, New York, 305 – 341

- SMIT A.L., GROENWOLD J., VOS J. (1994):** The wageningen Rhizolab - a facility to study soil-root-shoot-atmosphere interactions in crops. II. Methods of root observations. *Plant and Soil* 161: 289-298
- 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 WILLERT D.J., AUSTENFELD F.A. (1996):** Root dynamics in a salt marsh over three consecutive years. *Plant and Soil* 195: 265-269
- VESTE M. (2010):** Anwendung automatischer Verfahren zur Erfassung von Wurzeln in Minirhizotron-Bildern. In: 16. Workshop Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft - Computerized Image Analysis in Agriculture 04.05.2010, Braunschweig, Bornimer Agrartechnische Berichte 73, pp. 72-78
- VESTE M., KÖNIG C., MINNICH M. (2005):** Anwendung der Minirhizotron-Technik zur Untersuchung der Wurzeldynamik von Tomaten bei unterschiedlicher Bewässerung. In: VESTE M., WUCHERER W., HOMEIER J. (Hrsg.): Ökologische Forschung im globalen Kontext, Cuvillier Verlag, Göttingen, pp. 55-69
- VESTE M., MÜLLER W., BOLTE A., SCHÄFER H.-P., KAST G. (2010):** A novel automatic minirhizotron system for root research. *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie* 40, p. 433
- WASEL Y., ESHEL A., KAFKAFI U. (2002):** Plant Roots – The Hidden Half. 3rd edition, M. Dekker, Inc. New York
- ZENG G., BIRCHFIELD S.T., WELLS C.E. (2006):** Detecting and measuring fine roots in minirhizotron images using matched filtering and local entropy thresholding. *Machine Vision and Applications* 17 (4): 265-278

Software

RootFly Version 2.02. <http://www.ces.clemson.edu/~stb/rootfly/>