

# Einsatzmöglichkeiten der Laser-Induzierten-Fluoreszenz zur Differenzierung der dikotylen und monokotylen Unkrautarten

Iryna I. Tartachnyk

Institut für Pflanzenbau  
Universität Bonn  
Katzenburgweg 5  
D-53115 Bonn  
i.tartachnyk@uni-bonn.de

**Abstract:** Die Möglichkeit einer Differenzierung zwischen dikotylen (*Betula vulgaris*, *Galium aperine*, *Cirsium arvensis*, *Stellaria media*, *Viola arvensis*) und monokotylen (*Triticum aestivum*, *Poa annua*, *Apera spica-venti*, *Alopecurus myosuroides*) Pflanzenarten anhand ihrer LIF-Parameter von der Blattober- und Unterseite wurde geprüft. Diskriminanzanalyse anhand von Fluoreszenzmessungen der Blattoberseite ergab ca. 90% Unterscheidung bei den Keim- und Laubblättern. Bei der Auswertung anhand von gemischten Messwerten beider Blattseiten (50% von jeder Blattseite) sank der Prozentwert von richtig erkannten Pflanzenklassen auf ca. 80% bei den Keimblättern und auf 75% bei den Laubblättern.

## 1 Einleitung

Die Laser-Induzierte-Fluoreszenz (LIF) ist ein Verfahren, mit dem man schnell und berührungslos Informationen über die Photosyntheseaktivität und den Chlorophyllgehalt der Pflanzen gewinnen kann. Mehrere Untersuchungen deuten darauf hin, dass dieses Messverfahren für die Erkennung verschiedener Stressfaktoren an Pflanzen gut geeignet ist [Ce19, TR03]. Die Geräte zur Fluoreszenzmessung von Pflanzenbeständen sind bereits entwickelt worden und sollen für die Bestimmung der N-Versorgung und der teilschlagspezifischen N-Düngung eingesetzt werden [St01].

Eine weitere Herausforderung der Präzisionslandwirtschaft ist eine teilspezifische Unkrautbekämpfung. Bei diesem Verfahren werden die Unkräuter differenziert (entsprechend ihren Konkurrenzkraft und Herbizidempfindlichkeit) behandelt [Ge97]. Die Eignung der Fluoreszenzmessverfahren für eine Diskriminierung zwischen Pflanzenarten ist allerdings noch zu prüfen. In Untersuchungen von Keränen et al. [KAT03] konnten einzelne Unkrautarten mit einem PAM-Fluorometer mit der Sicherheit von 62-95% erkannt werden. Diese und andere Untersuchungen [AN04] zur Differenzierung von Unkrautarten wurden allerdings nur anhand der Fluoreszenzaufnahmen von den Blattoberseiten durchgeführt. Oft weisen die Pflanzen (besonders Dikotyle) dennoch unterschiedliche Fluoreszenzmuster auf ihren Blattober-

und -unterseiten auf [Ce97]. Bei den LIF-Messungen im Feld können die Fluoreszenzsignale sowohl von der Blattober- als auch von der -unterseite stammen. Es ist daher sinnvoll zu wissen, ob die Unkrautarten sich auch anhand gemischter (von Blattober- sowie -unterseiten) Fluoreszenzsignale unterscheiden lassen. Ziel unserer Untersuchung war es, die Fluoreszenzmuster von Blattober- und -unterseiten der Zuckerrüben-, Winterweizen- und Unkrautpflanzen zu vergleichen. Außerdem sollte die Möglichkeit einer Diskriminierung zwischen diesen Arten anhand von **LIF**-Parametern der beiden Blattseiten getrennt und gemischt geprüft werden.

## 2 Material und Methoden

Für den Versuch wurden die Unkrautarten von drei Gruppen, die mit verschiedenen Herbiziden behandelt werden, ausgewählt: 1) Dikotyle: *Galium aperine* (GALAP), *Cirsium arvensis* (CIRAS); 2) Dikotyle: *Stellaria media* (STEMA), *Viola arvensis* (VIOAR); 3) Monokotyle: *Poa annua* (POAAN), *Apera spica-venti* (APESV), *Alopecurus myosuroides* (ALOMY). Diese Unkräuter wurden am 19. März 2004 in Pflanzschalen ausgesät und im Gewächshaus ohne zusätzliche Heizung und Beleuchtung kultiviert. Mit dem Beginn der Keimung, wurden die Pflanzen tagsüber ins Freie zugestellt. Für die Fluoreszenzmessungen wurden die Pflanzschalen mit Unkräutern ins Labor gebracht und Zuckerrüben- (*Betula vulgaris*) und Winterweizenpflanzen (*Triticum aestivum*) vom Ackerschlag entnommen. Pro vorliegende Pflanzenart wurden 10 Blätter abgeschnitten und unmittelbar darauf auf ihre Fluoreszenz hin untersucht. Die erste Messung erfolgte am 16. April 2004 mit den Keimblättern aller Pflanzen außer Winterweizen. Da die Winterweizenpflanzen zu diesem Zeitpunkt weiter entwickelt waren, wurden bei dieser Art die größten Laubblätter genommen. Die zweite Fluoreszenzmessung am 26. April 2004 wurde bei allen Pflanzenarten auf dem größten vollständig entwickelten Laubblatt durchgeführt.

Zur Anregung der Fluoreszenz wurden zwei blaue LED (3mW, 408 nm) eingesetzt. Gleichzeitig wurde ein Strahl von dem He-Ne-Laser (ca. 20mW, 633 nm) mit sehr niedriger Lichtintensität, die keine Fluoreszenzemission anregt, verwendet, um eine Reflexion des Laserstrahls (RL633) von der Blattoberfläche zu bewerten. Die Spektren von Blattober- und Unterseiten wurden mit einem Spektrometer "FieldSpecTM UV/VNIR" von der Messfläche ca. 0,2 cm<sup>2</sup> mit der Integrationszeit von 1 s erfasst. Diese Spektren wurden mit dem OriginLab Programm mit der Bestimmung von Fluoreszenzintensitäten bei 530 nm (F530), 686 nm (F686), 740 nm (F740), sowie der Reflexion des Laserstrahls (RL633) und des Integrals des Spektrums zwischen 640 nm und 900 nm (I) ausgewertet. Zur Differenzierung von untersuchten Unkraut- und Kulturpflanzen wurde eine lineare Diskriminanzanalyse eingesetzt. Die Diskriminanzanalysen erfolgten durch eine Rekombination der normalisierten gemessenen Parameter: a) der Blattoberseite (F530o, F686o, F740o, RL633o, Io; n=10); b) der Blattunterseite (F530u, F686u, F740u, RL633u, Iu; n=10); c) der Blattober- und Unterseiten getrennt (F530o, F686o, F740o, RL633o, Io, F530u, F686u, F740u, RL633u, Iu; n=10) und d) der beiden Blattseiten gemeinschaftlich (F530, F686, F740, RL633, I; n=20 (10 der Blattoberseite + 10 der Blattunterseite)).

### 3 Ergebnisse und Diskussion

Wie erwartet, fielen die Fluoreszenzspektren von Blattober- und Blattunterseiten der dikotylen Arten stark unterschiedlich aus. Dabei zeigten die dikotylen Pflanzen höhere RL633- F685-, Ib-, F685/F740-Werte und zum Teil F740-Werte an der Blattoberseite als an der Blattunterseite (Daten nicht dargestellt). Dies ist auf die bifaciale Blattstruktur der dikotylen Pflanzen zurückzuführen sowie auf die Tatsache, dass das Fluoreszenzsignal von den oben liegenden Zellschichten des Blattes ausgeht. Die Blattunterseiten der dikotylen Pflanzen haben eine geringere Chloroplastendichte. Das führt zu einer niedrigeren Absorption des Lichtes und folglich größeren RL633, niedrigerer Reabsorption der abgestrahlten Fluoreszenz und dadurch höheren Ib sowie zu einem höheren F685/F740-Verhältnis an der Blattunterseite der dikotylen Arten. In den Blattgeweben der monokotylen Pflanzen sind die Chloroplasten homogener verteilt. Deshalb zeigten die beiden Blattseiten der Gräser annähernd gleiche LIF-Muster. Die Ergebnisse der Diskriminanzanalysen (Abb. 1, a-d) weisen darauf hin, dass sich die untersuchten mono- und dikotylen Arten anhand von Messungen bei Keim- und Laubblätter 100% unterscheiden konnten, falls die Möglichkeit besteht, die LIF-Parameter von Blattober- und Unterseiten getrennt zu beachten. Die Diskriminanzanalyse anhand von Blattunterseiteparametern ergab 100% bzw. 95% Trennung entsprechend bei den Keim- und Laubblätter. Anhand von Blattoberseiteparametern konnten für die beiden Blatttypen ca. 90% Pflanzen richtig getrennt werden. Bei der Auswertung mit gemischten Messwerten der beiden Blattseiten sank der Prozentwert von richtig auf mono- und dikotyle differenzieren Pflanzen auf ca. 80% bei den Keimblättern und auf 75% bei den Laubblättern. Unabhängig von den für die Diskriminanzanalyse eingesetzten Parametern, ließen sich dikotyle und monokotyle Arten besser anhand von Fluoreszenzaufnahmen der Keimblätter trennen als von den Laubblättern.

Diese Ergebnisse zeigen ein großes Potenzial der LIF für die Differenzierung von dikotylen und monokotylen Unkrautarten. Bei der Anwendung der LIF in der Praxis müssen dennoch die Unterschiede in den Fluoreszenzmustern von Ober- und Unterseiten der dikotylen Pflanzen berücksichtigt werden.

### Literaturverzeichnis

- [AN04] Aulich, S., Nordmeyer, H.: Möglichkeiten einer Differenzierung von Unkrautarten mittels der Chlorophyllfluoreszenzbildanalyse. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. Sonderheft XIX, 2004; S. 363-369.
- [Ce19] Cerovic, Z.G., Samson, G., Morales, F., Tremblay, N., and Moya, I.: Ultraviolet-induced fluorescence for plant monitoring: present state and prospects. *Agronomy* 19, 1999; S.543-578.
- [Ge1997] Gerhards, R., M. Sökefeld, K. Schulze-Lohne, D.A. Mortensen, W. Kühbauch: Site-specific weed control in winter wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* 178, 1997; S. 219.
- [KAT03] Keränen, M., Aro, E. M., Tyystjärvi, E.: Automatic plant identification with chlorophyll fluorescence fingerprinting. *Precision agriculture*, 4, Kluwer Academic Publishers, 2003; S. 53-67.

- [St01] Sticksel, E., Maidl, F.-X., Schächtl, J., Huber G., and Schulz, J.: Laser-induced Chlorophyll-Fluorescence - a tool for online detecting nitrogen status in crop stands. G. Grenier, S. Blackmore (Eds.): 3ECPA, Montpellier, 2001; S. 959-964.
- [TR03] Tartachnyk, I., Rademacher, I.: Estimation of Nitrogen Deficiency of Sugar beet and Wheat using Parameters of Laser Induced and Pulse Amplitude Modulated Chlorophyll Fluorescence. *Journal of Applied Botany*. 77, 2003; S. 61-67.