



Klimaat sturen op de inhoud van het blad

Anja Dieleman¹, Gerrit Polder¹, Esther Meinen¹, Jeroen van Arkel² en Kees Weerheim¹

Rapport WPR-770

¹ Wageningen University & Research, Business Unit Glastuinbouw,
² Wageningen University & Research, Business Unit Bioscience

Referaat

Voor telers is het van belang te weten hoeveel reserves hun gewas heeft. Dat kan nu alleen gemeten worden door bladeren of vruchten in te sturen naar een laboratorium en te wachten op de analyse. In dit project is gekeken of het mogelijk is met hyperspectraal camera's direct gehalten aan suikers en zetmeel, droge stof, chlorofyl en nutriënten in het gewas te meten. De resultaten zijn veelbelovend: met hyperspectraal camera's zijn gehalten aan suikers in bladeren en vruchten, chlorofyl en droge stof percentage en de bladdikte goed te bepalen. Dit maakt het mogelijk om op basis van deze camerabeelden klimaat te sturen of teeltstrategie aan te passen.

Abstract

Growers would like to know the status of their crop to determine climate strategy and crop management practices. Chemical composition of the crop can now only be determined by sampling leaves or fruits, send this to a laboratory and wait for the analysis. In this project, we aimed to use hyperspectral imaging to determine the contents of sugars and starch, dry matter percentage, chlorophyll and nutrient composition in the crop. The results are promising. Hyperspectral cameras are very well capable to estimate the concentrations of sugars in leaves and fruits, chlorophyll content, dry matter percentage and specific leaf area. This allows the growers to adjust their climate settings or crop management based on these hyperspectral images.

Rapportgegevens

Rapport WPR-770

Projectnummer: 3742240500

DOI nummer: 10.18174/461263

Thema: Energie & Klimaat

Disclaimer

© 2018 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk T 0317 48 56 06, www.wur.nl/plant-research.

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

Stichting Wageningen Research. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Stichting Wageningen Research.

Stichting Wageningen Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Adresgegevens

Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 48 56 06

Inhoud

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
	1.1 Probleemstelling	7
	1.2 Hyperspectrale beeldverwerking	7
	1.3 Verwacht resultaat	8
	1.4 Aanpak	9
2	Materiaal en methoden	11
	2.1 Teelt en aanleg van behandelingen	11
	2.2 Monstername en hyperspectraalmetingen	12
	2.2.1 Hyperspectraal metingen	14
	2.2.2 Metingen van chlorofyl en carotenoïden in bladeren	15
	2.2.3 Suiker- en zetmeelgehaltenes van bladeren	15
	2.2.4 Nutriëntgehaltenes van de bladeren	15
	2.2.5 Gehaltes aan suikers en zuren in de vruchten	15
3	Resultaten	17
	3.1 Stand van het gewas	17
	3.2 Inhoudsstoffen	17
	3.2.1 Suiker en zetmeel	18
	3.2.2 Nutriënten	20
	3.3 Correlatie hyperspectraal metingen en inhoudsstoffen	21
	3.3.1 Droge stof gehalte	23
	3.3.2 Suikers en zetmeel	25
	3.3.3 Chlorofyl en carotenoïden	28
	3.3.4 Nutriënten	30
	3.3.5 Vruchtkwaliteit	31
	3.3.6 Overige plantkarakteristieken	33
4	Discussie en aanbevelingen	35
	4.1 Aanleiding	35
	4.2 Resultaten en discussie	35
	4.2.1 Bladeren	35
	4.2.2 Vruchten	36
	4.3 Aanbevelingen	36
	Literatuur	37
	Bijlage 1 Correlaties tussen hyperspectraal beelden en metingen	39
	Bijlage 2 PLS regressie	41

Samenvatting

Een van de principes van een energiezuinige glastuinbouw is dat het (schaarse) licht optimaal wordt omgezet in assimilaten, bij voorkeur in het oogstbare product. Het bladpakket heeft de functie licht te onderscheppen, assimilaten aan te maken via de fotosynthese en deze daarna te exporteren naar het oogstbare product. In het ideale geval zouden bladeren daarna zoveel mogelijk "leeggetrokken" moeten worden door de plant, zodat de assimilaten en nutriënten op een andere plaats in de plant gebruikt kunnen worden. De enige manier waarop dit tot nu toe te bepalen is, is door bladmonsters te nemen en deze door een laboratorium te laten analyseren. Er is duidelijk behoefte om momentaan in de kas de status van het gewas te monitoren en om deze informatie te gebruiken bij het sturen van het kasklimaat (CO₂ doseren, belichting aan of uit) of nemen van teeltmaatregelen (blaadjes weghalen, snoeien). In dit project is gewerkt aan een meetmethode of dit te realiseren op basis van hyperspectrale camera's. Hyperspectrale camera's combineren de kracht van digitale beeldverwerking met deze van spectroscopie en bieden zo nieuwe mogelijkheden voor het meten van uitwendige en inwendige kwaliteit van een product.

Voor dit onderzoek werd gebruik gemaakt van een bestaande tomatenteelt met 5 rassen. Er zijn behandelingen aangelegd aangelegd (trossnoei, blad verwijderen om assimilatenaanmaak te verlagen, blad laten hangen aan andere planten om bladvergeling/veroudering te krijgen) om er voor te zorgen dat de suikergehaltes en droge stof percentages in vruchten en bladeren verschillen, en om verschillen te maken in nutriëntengehaltes in de bladeren (bladeren laten hangen aan de planten, watergift met (zeer) lage nutriëntengehaltes). Vervolgens werden aan deze bladeren en vruchten metingen gedaan met twee hyperspectraal camera's, een VNIR, die meet in het golflengtegebied van 400 tot 1000 nanometer en een NIR camera die het gebied van 900 tot 1700 nm bestrijkt. De bladeren en vruchten werden vervolgens gebruikt voor destructieve metingen van suikers, zetmeel, nutriënten, percentage droge stof en chlorofylgehalte in verschillende laboratoria. Voor iedere vrucht of blad werden de spectrale beelden en de labmetingen gecombineerd. Met behulp van een regressieanalyse werd bepaald in hoeverre de beelden een goede correlatie opleveren met de verschillende inhoudsstoffen.

Uit de resultaten blijkt dat de hyperspectraal beelden goed correleren met de gehalten aan suikers in het blad. Daarnaast zijn er goede correlaties met het droge stof gehalte en de gehalten aan pigmenten (chlorofyl en carotenoïden) in het blad. Er was een redelijke correlatie tussen de beelden en gehalten aan zetmeel, totaal stikstof en calcium. De gehalten aan een aantal andere nutriënten bleek niet tot nauwelijks voorspelbaar met de hyperspectraal camera's. Verder bleken gehalten aan suikers en zuren in de vruchten, bepalen voor de smaak van tomaten, goed voorspelbaar met de hyperspectraal camera. Al deze resultaten laten zien dat hyperspectraal camera's zeer bruikbaar kunnen zijn in de glastuinbouw om de status van het gewas en kwaliteit van vruchten te bepalen tijdens de teelt, zonder het gewas te beschadigen.

In dit project zijn behandelingen aangelegd om grote verschillen in bladkwaliteit te creëren, die goed te voorspellen waren met de hyperspectrale beelden. De volgende stap zou zijn om na te gaan of de hyperspectraal camera's ook in een reguliere teelt gebruikt kunnen worden om de gehalten aan inhoudsstoffen te bepalen, zodanig dat een teler die informatie zou kunnen gebruiken om op te kunnen sturen. Dat betekent dat er bij vervolgonderzoek in een teelt regelmatig gemeten en bemonsterd zou moeten worden, op momenten dat telers een keuze zouden willen maken om wel of niet blad te plukken, te scherpen of andere instellingen aan te passen.

1 Inleiding

1.1 Probleemstelling

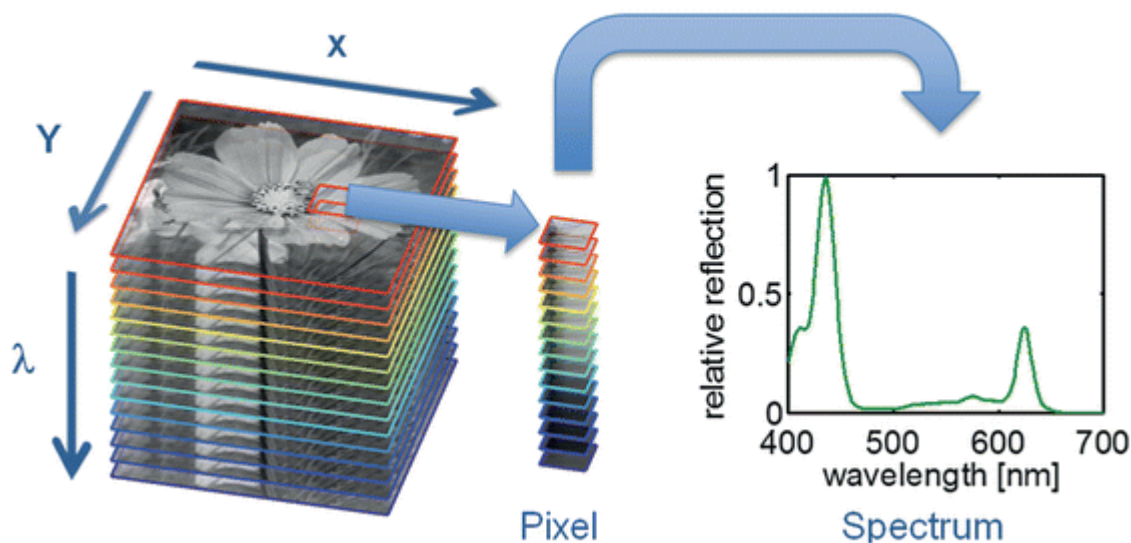
Een van de belangrijke principes van Het Nieuwe Telen is dat het schaarse licht optimaal wordt omgezet in assimilaten, in het bijzonder in oogstbaar product. Om dat mogelijk te maken moet de verdeling van assimilaten zo veel mogelijk gestuurd worden in de richting van de vruchten (tomaten, komkommers e.d.) of bloemen (rozen, gerbera's, etc.). Het bladpakket vervult hierin een beetje een dubbelrol. Aan de ene kant is het bladpakket van groot belang voor het onderscheppen van licht en voor het proces van fotosynthese dat in de bladeren plaatsvindt. In de bladeren worden (tijdelijk) de assimilaten opgeslagen voordat deze (grotendeels) naar de oogstbare producten worden getransporteerd. Aan de andere kant zouden de telers het liefst zien dat op moment dat blad geplukt wordt het bladpakket zoveel mogelijk 'leeggetrokken' is door de plant, zodat de assimilaten en nutriënten op een andere plaats in de plant gebruikt kunnen worden. De enige manier waarop dit tot nu toe te bepalen is, is door bladmonsters te nemen en deze door een extern laboratorium te laten analyseren.

Bij telers is duidelijk de behoefte aanwezig om momentaan in de kas de status van het gewas te monitoren, om die informatie te kunnen gebruiken bij het sturen van het kasklimaat (CO₂ doseren, belichting aan of uit) of teeltmaatregelen (blaadjes weghalen, snoeien). In dit project wordt gewerkt aan een meetmethode of dit te realiseren op basis van hyperspectrale camera's.

1.2 Hyperspectrale beeldverwerking

Hyperspectrale camera's combineren de kracht van digitale beeldverwerking met deze van spectroscopie en bieden zo nieuwe mogelijkheden voor het meten van uitwendige en inwendige kwaliteit van een product. Voor elke pixel in een beeld dat gemeten is met een hyperspectraal camera registreert de camera verschillende waarden die overeen komen met de reflectie, emissie of transmissie bij een bepaalde golflengte (Van der Heijden en Polder, 2015). Omdat er per pixel een spectrum aanwezig is (Figuur 1), kan er met hyperspectrale beeldverwerking niet alleen de standaard karakteristieken van een voorwerp gemeten worden zoals vorm en kleur, maar het biedt de mogelijkheid om plantkarakteristieken zoals droge stof gehalte, stikstof of suikergehaltes (Schut *et al.* 2006) of gehalten aan lycopene of chlorofyl (Polder *et al.* 2004) te meten.

Hyperspectral image



Figuur 1 Een hyperspectraal beeld bestaat uit een 2D plaatje met een derde spectrale as die de golflengtes van een deel van het elektromagnetische spectrum weergeeft, bij voorbeeld het zichtbare gedeelte (400–700 nm) of het infrarode gedeelte (700–2.300 nm). Elke pixel in het beeld bevat dus informatie over het waargenomen spectrum. Deze spectrale dimensie kan gebruikt worden om verschillende karakteristieken uit te bepalen, zoals gehalten aan bepaalde inhoudsstoffen (Van der Heijden en Polder, 2015).

Een aantal nadelen van hyperspectrale beelden zijn dat er veel licht nodig is voor een goede opname, dat het tijd kost om een beeld te maken dat over de volle breedte van het spectrum is doorgemeten, dat elke meting een groot gegevensbestand oplevert, en dat er veel reken capaciteit nodig is om deze gegevensbestanden te verwerken. In plaats van werken met het volledige spectrum kan er ook gebruik gemaakt worden van een selectie van golflengtes. Er zijn (multispectrale) camera's op de markt die 3 tot 9 golflengtebanden doormeten. Idealiter zou er met een hyperspectrale camera gewerkt kunnen worden in het onderzoek waarin bepaald wordt welke golflengtebanden belangrijk zijn, en kan vervolgens in de praktijk een multispectrale camera gebruikt worden om snel beelden te kunnen maken en verwerken om momentaan de status van het gewas te kunnen bepalen (Van der Heijden en Polder, 2015).

Hyperspectrale beeldverwerking is in het verleden gebruikt voor het bepalen van rijpheid stadia (Polder *et al.*, 2002) en het meten van inhoudsstoffen (verdeling van chlorofyl en carotenoïden; Polder *et al.*, 2004) in tomatenvruchten. Het chlorofyl zorgt voor de groene kleur van de vruchten, de carotenoïden voor de rode kleur. Uit dat onderzoek bleek dat er een goede relatie gevonden werd tussen de hyperspectraal beelden en het gehalte aan lycopene, de meest voorkomende vorm van carotenoïden in tomaat. Hyperspectral en multispectral imaging van bladeren is toegepast voor het detecteren van virusziekten en Botrytis (Polder *et al.*, 2013, 2014). In recente literatuur zijn toepassingen te vinden voor het meten van inhoudsstoffen in bladeren (pigmenten, watergehalte), met als doel detectie van ziekte of droogte stress (Rapaport *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2016). In dit project zal hyperspectral imaging toegepast worden voor het meten van inhoudsstoffen (suikers, chlorofyl, nutriënten) met als uiteindelijk de bedoeling de bladeren zo efficiënt mogelijk te benutten.

1.3 Verwacht resultaat

Het resultaat van de hyperspectrale beeldanalyse is een model dat aangeeft welke golflengtes een goede correlatie hebben met de verschillende inhoudsstoffen. Deze golflengtes kunnen vervolgens worden geïmplementeerd in een multispectrale camera die in het Nieuwe Telen kan worden ingezet als tool om te bepalen wanneer teeltmaatregelen (bijvoorbeeld bladplukken) genomen moeten worden.

1.4 Aanpak

Er is voor dit project gebruik gemaakt van een bestaande tomatenteelt (5 rassen) van het project Carbon LED. In mei 2017 werden behandelingen aangelegd (trossnoei, blad verwijderen om assimilatieaanmaak te verlagen, blad laten hangen aan andere planten om bladvergelting/veroudering te krijgen) om er voor te zorgen dat de suikergehaltes en droge stof percentages in vruchten en bladeren verschillen, en om verschillen te maken in nutriëntengehaltes in de bladeren (bladeren laten hangen aan de planten, watergift met (zeer) lage nutriëntengehaltes). Vervolgens werden twee tot vier weken later aan deze bladeren en vruchten metingen gedaan met twee hyperspectraal camera's, een VNIR die meet in het golflengtegebied van 400 tot 1000 nanometer en een NIR camera die het gebied van 900 tot 1700 nm bestrijkt. De bladeren en vruchten werden vervolgens gebruikt voor destructieve metingen van suikers, zetmeel, nutriënten, percentage droge stof en chlorofylgehalte in verschillende laboratoria. Voor iedere vrucht of blad werden de spectrale beelden en de labmetingen gecombineerd. Met behulp van een regressieanalyse werd bepaald in hoeverre de beelden een goede correlatie opleverden met de verschillende inhoudsstoffen. Op basis van deze analyses kon bepaald worden of de hyperspectraal camera een goede momentane niet-destructieve meting kan doen van de bladkwaliteit of de vruchtkwaliteit.

2 Materiaal en methoden

2.1 Teelt en aanleg van behandelingen

In dit project is gebruik gemaakt van een afdeling van 144 m² in een bestaande kasproef (Carbon-LED) waarin vijf tomatenrassen werden geteeld, met de volgende karakteristieken:

Locatie en afdelingen	Wageningen University & Research, business unit Glastuinbouw in Bleiswijk Afdeling 6.04 Afmeting afdeling: 144 m ² (lengte 15 m, breedte 9.6 m)
Genotypen	Foundation, Extension, NUN1 09204, NUN2 09149, Competition
Zaaidatum	9 september 2016
Plantdatum	19 oktober 2016
Stengeldichtheid	Competition: 2 stengels per plant, 3.5 stengels/m ² ; andere genotypen: 1 stengel per plant, 2.5 stengels/m ² (op moment van planten). In week 49 3.1 stengels/m ² (extra stengel aangehouden bij 1 van de 4 stengels)
Trossnoei	Competition: 14 vruchten/tros NUN2 09149: 10 vruchten/tros NUN1 09204: 9 vruchten/tros Extension: 7 vruchten/tros Foundation: 6 vruchten/tros
Hoogte substraat en gewasdraad	Hoogte van substraat: 50 cm boven de grond Hoogte van de gewasdraad: 4.35 m boven de grond
Substraat	Steenwol (Grotop Expert Grodan)
Glas	Helder glas
Transmissie afdeling	49%
Verwarming	Buis rail (51 mm) en groeibuis (35 mm)
CO ₂ dosering	125 kg [ha h] ⁻¹

Het Carbon-LED experiment was eind april 2017 afgelopen en vanaf dat moment is het gewas gebruikt om behandelingen te starten voor het project 'klimaat sturen inhoud blad'. Er werden 5 Nunhems rassen geteeld: Foundation en Extension (grove trostomaat), NUN1 09204 en NUN2 09149 (cocktail tomaat) en Competition (cherry tomaat). Door de verschillende rassen en verschillende vruchtgroottes zullen de rassen onderling al verschillen in de te onderzoeken parameters, zoals suikergehalte.

De 5 rassen stonden ieder in een aparte dubbele proefrij met in totaal 54 planten. In elke dubbele proefrij werden 9 behandelingen aangelegd om zoveel mogelijk variatie te krijgen in de te onderzoeken parameters in blad en vruchten. In de twee randrijen stond Extension en werd de EC van de voedingsoplossing aangepast, zodat er uiteindelijk 11 behandelingen zijn aangelegd (Tabel 1).

Tabel 1

Gewashandelingen gedurende 2 (watergift minderen), 3 (trossen laten hangen), tot 4 weken, met een wekelijkse frequentie, voordat de analyse plaats vond.

Behandeling	Actie	Opmerking
1	Referentie teelt	Normale teelthandelingen
2	Geen bladplukken	
3	2 van 3 bladeren plukken	
4	Tros snoei: 2 vruchten/tros	
5	Alle trossen er af	
6	Watergift minderen	Druppelaars verwijderd in etappes*
7	Trossen laten hangen	
8	Planten verduisteren	Afgeschermd met wit gaatjes plastic
9	Toppen	Kop uit plant
10	EC verlagen (EC 1)	
11	EC verhogen (EC 6-8)	Setpoint EC 8; realisatie EC 7±1

*8 dagen voor monsternamen zijn 1 of 2 van de 3 druppelaars verwijderd uit de mat bij maten met 2 of 3 stengels respectievelijk; Vervolgens is watergehalte gemonitord en is 4 dagen voor monsternamen nog een druppelaar verwijderd bij de maten met 3 stengels.

2.2 Monsternamen en hyperspectraalmetingen

Gedurende 3 dagen (30, 31 mei en 1 juni 2017) zijn er in totaal 412 bladmonsters en 200 vruchten geoogst om relaties vast te stellen tussen hyperspectraal beelden en de te onderzoeken parameters. Deelbladeren (zonder bladsteel) of vruchten (zonder kroontje) werden in de kas van de plant gehaald en het versgewicht werd direct gemeten. Blad werd op verschillende hoogtes in het gewas bemonsterd: in de top (jong, volgroeid blad bij de bloeiende tros; ongeveer het 6^e tot 7^e blad geteld vanaf de top), midden uit het gewas en laag in het gewas (2^e tot 3^e blad van onderen in de referentie teelt). Bij de behandeling 'geen blad plukken' werd nog ouder blad bemonsterd (1 van de onderste 3; dit blad zou in een regulier teelt al geplukt zijn geweest). Bij de getopte planten werd het bovenste blad geoogst. Vruchten werden uit het midden van de tros geoogst. Vervolgens werd het blad of de vrucht donker en gekoeld naar de hyperspectraal camera's gebracht die in een donkere ruimte waren opgesteld. Er werd eerst gemeten met een VIS/NIR camera en vervolgens met een NIR camera (zie 2.2.1 en foto's 1 - 3).

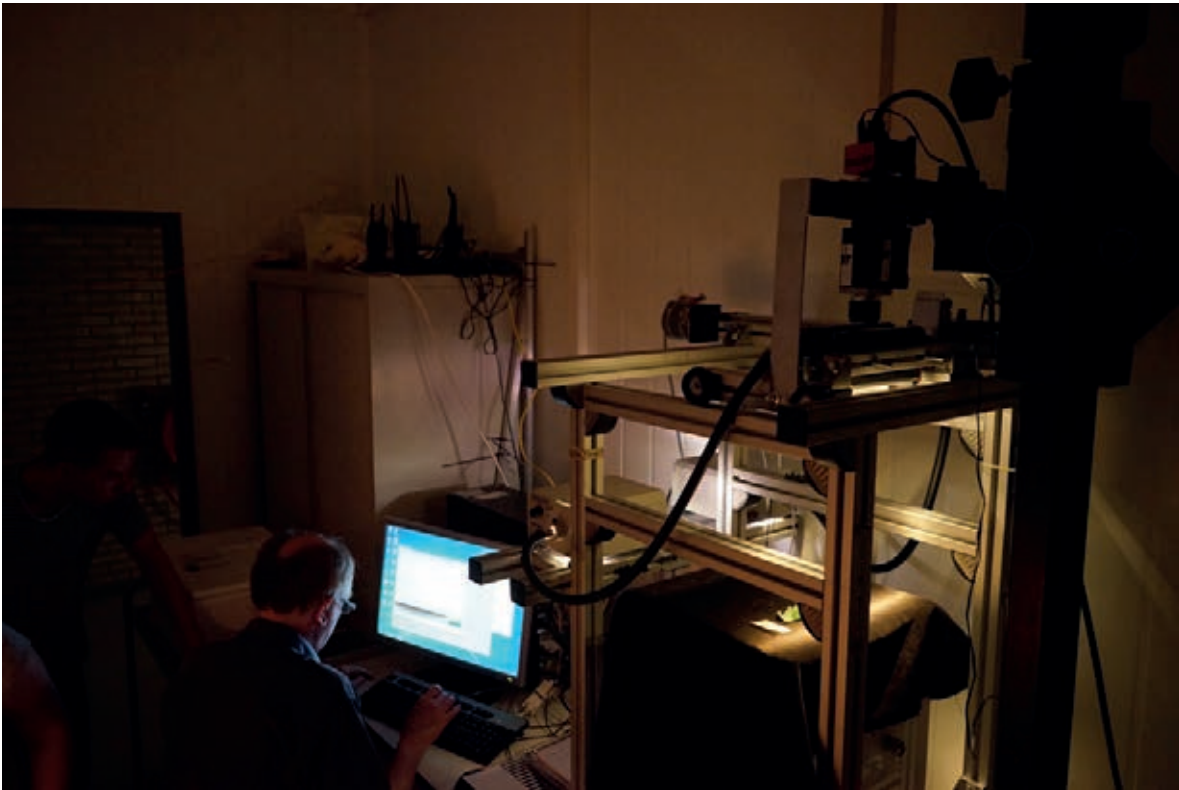


Foto 1 Metingen aan bladeren met de VIS/NIR camera.

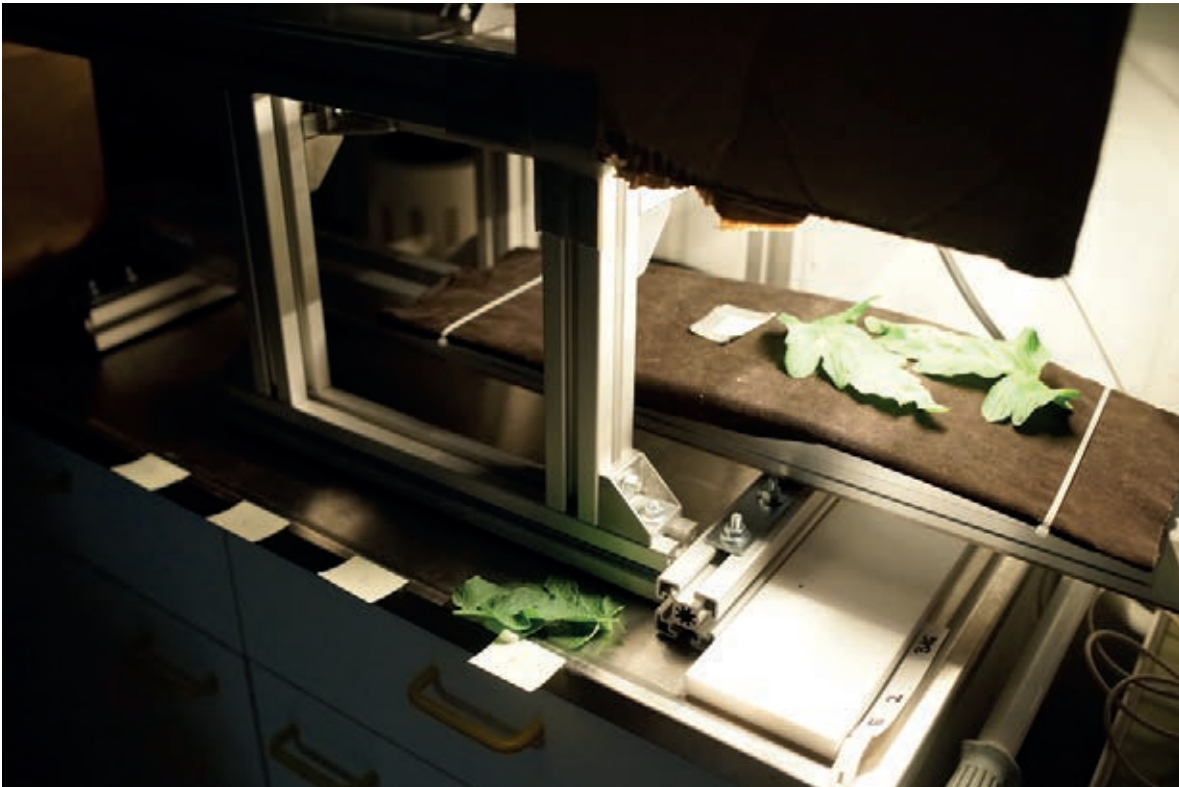


Foto 2 Metingen aan bladeren met de VIS/NIR camera (detail).

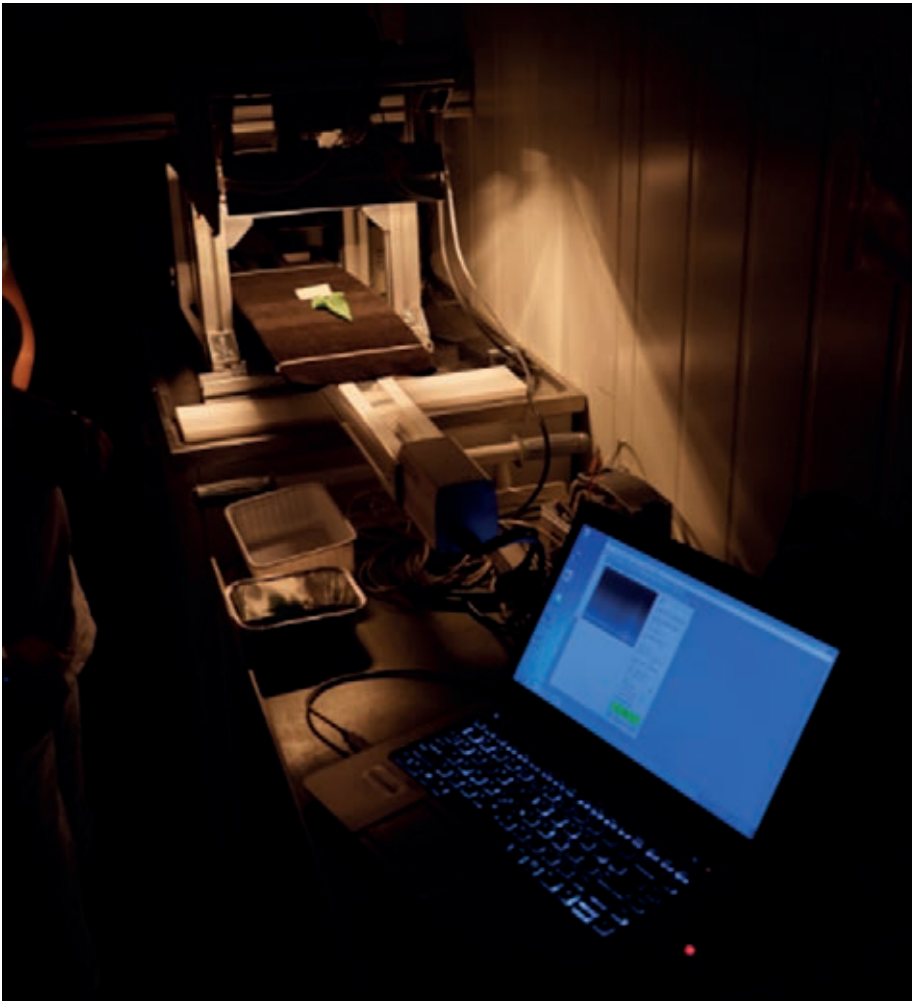


Foto 3 Metingen aan bladeren met de NIR camera.

Voor de chlorofylmeting werden eerst bladponsjes gestoken (zie 2.2.2) en werden hyperspectraalbeelden gemaakt van de 3 ponsjes. Het gewasmonster werd direct na de meting verder verwerkt: bevroren in vloeibare stikstof (chlorofyl en suiker/zetmeel bepaling), gedroogd in de stoof bij 105°C (drogestof percentage en nutriënten), of de vruchten werden naar het smaaklab gebracht voor kwaliteitsmetingen (zie 2.2.5). Er is snel gewerkt om de tijd tussen het nemen van het monster en de analyse zo kort mogelijk te houden; voor de bladmonsters was dit ongeveer 15 minuten (tijd tussen blad knippen en blad in stikstof). Bij de vruchten werden de hyperspectraal beelden binnen circa 15 minuten gemaakt nadat de vruchten geogst waren.

Voor alle monsters geldt dat de hyperspectraal metingen en de analyses altijd aan hetzelfde materiaal is gedaan. Dus als er meerdere bladeren nodig waren of meerdere vruchten voor de analyse, dan zijn ook de hyperspectraal metingen van al deze bladeren en vruchten gemaakt.

2.2.1 Hyperspectraal metingen

Er zijn twee hyperspectraal camera's gebruikt, een Specim V10e in de range 400-1000 nm (VIS-NIR) in 192 spectrale banden en een Specim N17e in de range van 1000-1700 nm (NIR) in 255 spectrale banden. Hyperspectrale lijnen zijn gescand met een interval van 0.5 nm. De lens en object afstand zijn zodanig gekozen dat de uiteindelijke pixelgrootte ongeveer 0.5 x 0.5 mm was. De beeldgrootte van de NIR beelden is 320 x 400 pixels x 255 banden. De beeldgrootte van de VIS/NIR beelden is 656 x 260 pixels x 192 banden. Voor VIS/NIR is als lichtbron gebruik gemaakt van twee 150 W halogeen lampen die met lightfibres en een staaflens als lijn worden geprojecteerd op het meetobject. De lichtbron voor de NIR camera is een 1000 W halogeen lamp op de helft van de spanning. Door de lagere spanning worden het vermogen en de warmteontwikkeling gereduceerd, terwijl het spectrum verschuift van zichtbaar naar infra rood.

Bij de VIS/NIR opstelling is de scan uitgevoerd door de camera en lichtbron te bewegen met een lineaire computergestuurde stappenmotor. Bij de NIR opstelling wordt het object (blad/vrucht) zelf onder de camera bewogen met een lineaire computergestuurde stappentafel.

De opnames zijn gemaakt in een donkere kamer, zodat er geen invloed is van omgevingslicht. De hyperspectraal beelden zijn van de bovenzijde van het blad gemaakt en de vruchten zijn altijd met de bovenzijde (verwijderde steelaanzet) naar onderen gelegd.

2.2.2 Metingen van chlorofyl en carotenoïden in bladeren

Eén dag voor de hyperspectraal metingen en de monsternamen voor de chlorofylmetingen zijn niet-destructieve metingen gedaan met een Dualex Scientific+ polyfenol en chlorofyl meter (FORCE-A, Orsay Cedex, France) aan de deelblaadjes die de volgende dag werden gebruikt voor chlorofyl- en carotenoïdenmetingen. Aan elk van de 100 deelbladeren werden 4 metingen gedaan en deze 4 data werden gemiddeld. De Dualex meet absorptie van UV-A (375 nm) en transmissie van rood licht (670 nm) en 2 golflengtes in het nabij infrarood (710 en 860 nm) en berekent vervolgens 4 indexen voor chlorofyl, flavonol, anthocyaan en stikstof status (NBI 'Nitrogen Balance Index' gebaseerd op de ratio tussen chlorofyl en flavonol).

Net voordat de hyperspectraal beelden werden gemaakt, werden 3 bladponsjes met een diameter van 1 cm uit het middelste deelblaadje van het tomatenblad genomen. Deze werden op een plaatje met zwarte ondergrond gelegd en er werden hyperspectraalbeelden gemaakt van de 3 ponsjes (samen). Vervolgens werden de ponsjes direct ingevroren in vloeibare stikstof en bewaard bij -80°C . Voor de chlorofyl- en carotenoïden analyse werden de bevroren ponsjes geëxtraheerd in 3 ml N,N-dimethylformamide (DMF) gedurende 8 dagen bij -20°C . Vervolgens werd 0.5 ml extract en 0.5 ml DMF gepipetteerd in een UV micro cuvet en absorptiespectra werden gemeten met een Cary 4000 spectrofotometer (Varian Instruments, Walnut Creek, Ca, USA). Absorptiemetingen bij 663.8, 646.8 en 480.0 nm werden gecorrigeerd met de absorptiemeting bij 750 nm. Chlorofyl a, b, carotenoïden (in $\mu\text{g ml}^{-1}$) werden berekend volgens de formules van Wellburn (1994).

2.2.3 Suiker- en zetmeelgehaltenes van bladeren

De gehaltenes aan glucose, fructose, sucrose (oplosbare suikers) en zetmeel zijn bepaald in alle bladmonsters. Het ingevroren bladmateriaal is gemalen in vloeibare stikstof tot een fijn homogeen poeder. Een ethanolextractie is gedaan om de oplosbare suikers te scheiden van het zetmeel. Vervolgens zijn de oplosbare suikers opgezuiverd en is de concentratie bepaald op een Dionex™ ICS-5000+ (Dionex/Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Het zetmeel is gegelatiniseerd met HCl bij 60°C en vervolgens afgebroken tot glucose eenheden m.b.v. het enzym amyloglucosidase. Vervolgens werd de hoeveelheid glucose bepaald op de Dionex™ ICS-5000+. Het resultaat is een waarde voor het gewicht van de glucose die was gebonden in zetmeel.

2.2.4 Nutriëntengehaltenes van de bladeren

Deelbladeren voor nutriënten analyse werden gedroogd bij 105°C en vervolgens werden de elementen (K, Na, Ca, Mg, N totaal, P totaal, Fe, Mn, Zn, B, Mo en Cu) bepaald door Groen Agro Control in Delfgauw. Aan 500 mg (opnieuw) gedroogd plantmateriaal werd 5 ml salpeterzuur toegevoegd en 2.5 ml waterstofperoxide. Na verhitting en afkoeling werden de monsters aangevuld met water en geanalyseerd met ICP-OES (Inductively coupled plasma - optical emission spectrometry).

2.2.5 Gehaltenes aan suikers en zuren in de vruchten

Brixmetingen geven het gehalte aan vaste stoffen in de vrucht weer. Aangezien dit voornamelijk suikers zijn, is de Brixwaarde ($^{\circ}\text{Brix}$) een indicator voor het suikergehalte van de vruchten. De metingen van $^{\circ}\text{Brix}$ en zuurgehalte van de vruchten zijn binnen 24 uur na het oogsten van de vruchten uitgevoerd. In die periode werden de vruchten bij kamertemperatuur bewaard.

°Brix is gemeten aan 1, 2 of 5 vruchten per monster afhankelijk van de grootte van de vrucht, nadat de vruchten in een blender waren gemalen. Eén rijpe vrucht was voldoende voor de rassen Foundation en Extension (grove tomaat) om °Brix te meten. Er werden 2 vruchten gebruikt van deze 2 rassen als er aan een onrijpe vrucht werd gemeten en er werden eveneens 2 rijpe vruchten gebruikt bij beide cocktail tomaten. Er waren 5 vruchten nodig als er heel jonge vruchten werden bemonsterd van alle rassen en bij de cherrytomaat Competition waren ook 5 vruchten nodig als ze rijp waren.

°Brix werd per monster twee keer gemeten met een refractometer (Mettler Toledo Refracto 30PX). Het zuurgehalte ($\text{mmol H}_3\text{O}^+/\text{100g}$ versgewicht) is bepaald door middel van titratie (Mettler Toledo T50).

3 Resultaten

3.1 Stand van het gewas

Het gewas in de Carbon LED kas stond goed in balans gedurende de periode tussen het aanleggen van de behandelingen (zie Tabel 1) tot de hyperspectraalmetingen en bepalingen van de inhoudsstoffen. Vanaf twee weken na het aanleggen van de behandelingen waren de effecten zichtbaar. De planten in de behandeling met een hoge EC strekten minder, de bloeiende tros zat hoger in het gewas en het blad was kleiner en dunner. Ook bleef de vruchtontwikkeling achter en werd neusrot waargenomen. De planten die waren geteeld met een lage EC werden dunner en de nieuw gevormde bladeren waren kleiner.

Op moment van de metingen hadden de planten zonder trossen dikke stengels en dik, stug en kort blad. Het jongste blad van planten waar de kop uit was gehaald, was groot, dik en stug. Planten die minder water hadden gekregen, begonnen in de kop slap te hangen. Opvallend is dat er in geen van de behandelingen bladvergeling werd geconstateerd. In tegenstelling tot wat verwacht werd, leidde vier weken telen met een EC van 1 of het langer aanhouden van bladeren (geen bladplukken onderin) niet tot vergeling van het blad.

Planten in de behandeling waarbij licht werd weggenomen door gedeeltelijke afdekking met wit gaatjesplastic hadden kleiner en dunner blad in het bovenste deel van het gewas. In de behandeling waarbij de trossen niet werden geoogst, trad in tegenstelling tot de grovere tomatenrassen bij de cocktail- en cherryrassen scheuring van de vruchten en vruchtval op. De trossen waren dan ook tot 4 weken ouder dan dat ze normaal geoogst zouden worden.

3.2 Inhoudsstoffen

Om de potentie van hyperspectrale beeldanalyse voor het meten van inhoudsstoffen te onderzoeken, is het noodzakelijk dat de gehalten aan inhoudsstoffen in de bladeren en vruchten in een zo breed mogelijke range aanwezig zijn. In dit experiment zijn 5 verschillende tomatenrassen gebruikt met verschillende vruchtgroottes die daarmee al zullen verschillen in parameters als °Brix en droge stofgehalte van de vruchten. Verder zijn er behandelingen aangelegd om zoveel mogelijk variatie te induceren in de andere inhoudsstoffen.

In onderstaande Tabel is de range aangegeven van de individuele meetwaarden van alle inhoudsstoffen en andere planteigenschappen die gemeten zijn.

Tabel 2

De range van meetwaarden van de verschillende inhoudsstoffen en planteigenschappen gemeten aan bladeren en vruchten van vijf tomatenrassen die verschillende teeltmaatregelen hebben ondergaan.

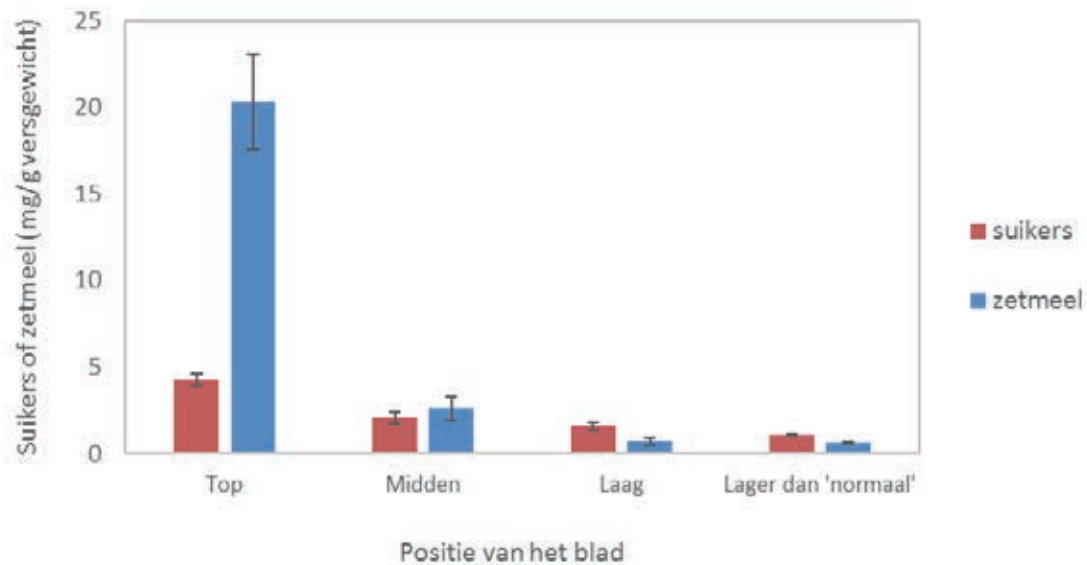
Orgaan	Parameter	Dimensie	Min waarde	Max waarde
Blad	Droge stofgehalte	Fractie (0-1)	0.08	0.20
	Specific leaf area	m ⁻² g	0.007	0.037
	Chlorofyl a+b (extractie)	g m ⁻²	0.16	0.70
	Carotenoïden	g m ⁻²	0.026	0.106
	Chlorofyl (Dualex)	Geen (index)	11	41
	Flavonolen (Dualex)	Geen (index)	0.17	0.61
	Anthocyanen (Dualex)	Geen (index)	0.02	0.23
	Stikstof status NBI (Dualex)*	Geen (index)	25	202
	Suikers	mg g versgewicht ⁻¹	0.6	13.3
	Zetmeel	mg g versgewicht ⁻¹	0.2	54.9
	K	mmol kg drooggewicht ⁻¹	673	1712
	Na	mmol kg drooggewicht ⁻¹	10	24
	Ca	mmol kg drooggewicht ⁻¹	332	1827
	Mg	mmol kg drooggewicht ⁻¹	99	337
	N-totaal	mmol kg drooggewicht ⁻¹	2235	4183
	P-totaal	mmol kg drooggewicht ⁻¹	67	294
	Fe	mmol kg drooggewicht ⁻¹	1.0	4.5
	Mn	mmol kg drooggewicht ⁻¹	1.2	9.2
	Zn	mmol kg drooggewicht ⁻¹	0.09	0.46
	B	mmol kg drooggewicht ⁻¹	1.1	5.2
Mo	mmol kg drooggewicht ⁻¹	18	132	
Cu	mmol kg drooggewicht ⁻¹	14	141	
Vrucht	°Brix		2.6	9.7
	zuur	mmol H ₃ O ⁺ 100 g ⁻¹	4.2	11.2
	Droge stofgehalte	Fractie (0-1)	0.035	0.096

*NBI gemeten met de Dualex staat voor 'Nitrogen Balance Index' en geeft informatie over de stikstof status.

Het vaststellen van de effecten van de aangelegde behandelingen (teeltmaatregelen) op de inhoudsstoffen was geen doel van dit onderzoek: de behandelingen werden aangelegd om een brede range van data te bewerkstelligen. De gegevens zijn echter wel beoordeeld en de opvallende behandelingseffecten worden hier gepresenteerd.

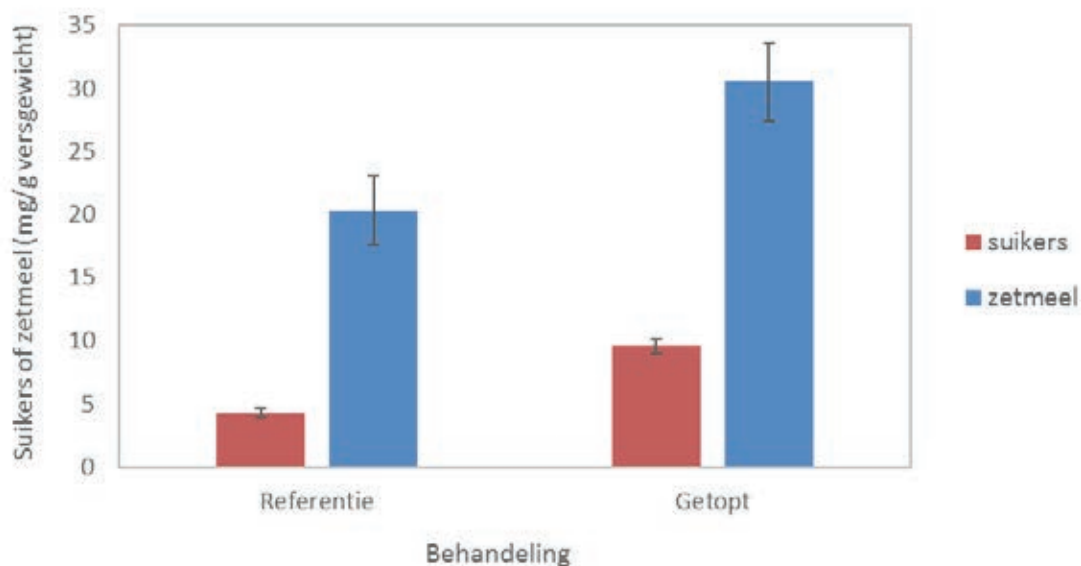
3.2.1 Suiker en zetmeel

Suikergehaltes zijn gemiddeld hoger in de top van het gewas (4.2 mg/g versgewicht) dan in het midden of laag in het gewas (resp. 2.1 en 1.6 mg/g versgewicht) en het laagst in oud blad dat in een reguliere teelt al geplukt zou zijn (1.1 mg/g versgewicht). Voor zetmeelgehalten zijn de verschillen nog veel groter, waarbij blad in de top het hoogste gehalte aan zetmeel bevat (20 mg/g versgewicht) (Figuur 2).

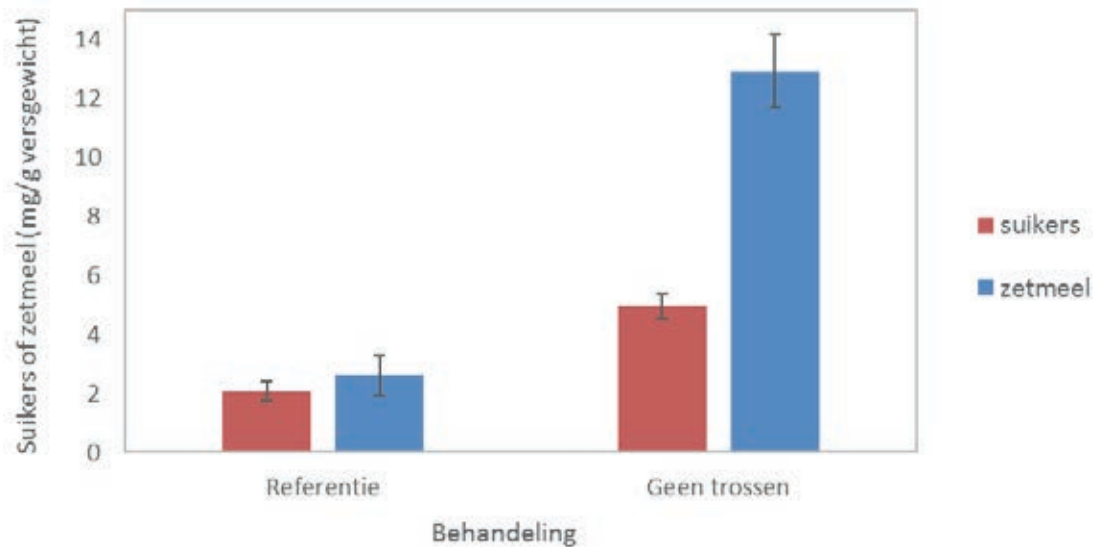


Figuur 2 Gemiddelde suiker- en zetmeelgehalten in tomatenblad (mg/g versgewicht) op verschillende hoogtes in het gewas. Data zijn gemiddeldes van 5 genotypen (n=20). Blad aangeduid met 'lager dan normaal' zou in een reguliere tomatenteelt al geplukt zijn.

Om het suiker- en zetmeelgehalte in het blad te verhogen zijn behandelingen uitgevoerd waarbij de kop uit planten is gehaald ('toppen') en waarbij alle vruchten van de plant zijn verwijderd. In getopte planten is het suikergehalte inderdaad ruim 2 keer hoger en het zetmeelgehalte is 1.5 keer hoger dan in niet-getopte planten (Figuur 3). Verwijdering van alle trossen leidt tot een suikergehalte dat 2.4 keer hoger is dan wanneer de trossen niet verwijderd zijn (Figuur 4).



Figuur 3 Gemiddelde suiker- en zetmeelgehalten in tomatenblad (mg/g versgewicht) in de top van het gewas in een reguliere teelt (referentie; blad bij bloeiende tros) en in een getopt gewas (bovenste blad 4 weken na toppen). Data zijn gemiddeldes van 5 genotypen (n=20 en n=15 voor respectievelijk de referentie (niet getopte planten) en voor getopte planten).

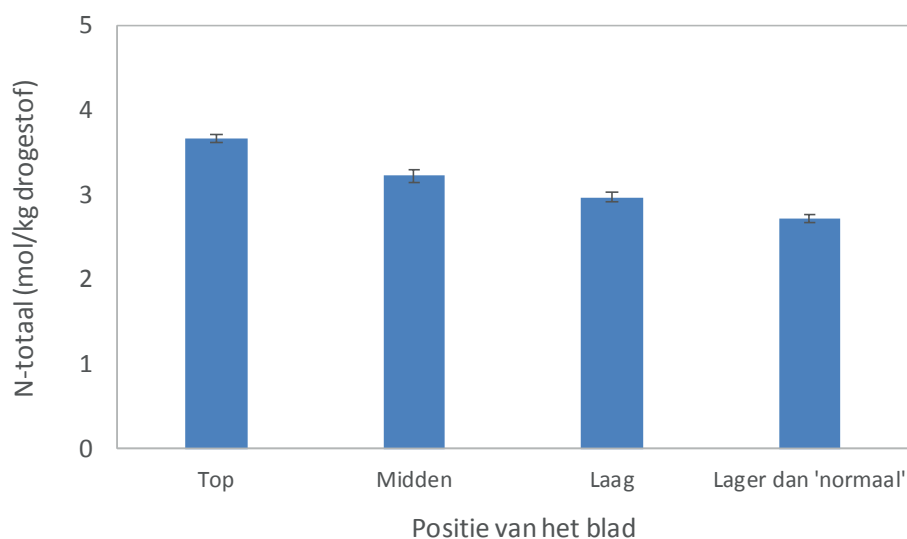


Figuur 4 Gemiddelde suiker- en zetmeelgehalten in tomatenblad (mg/g versgewicht) midden in het gewas (hoogte). Data zijn gemiddeldes van 5 genotypen (n=20) voor planten waarvan alle trossen verwijderd waren (geen trossen) en de referentie (geen trossen verwijderd).

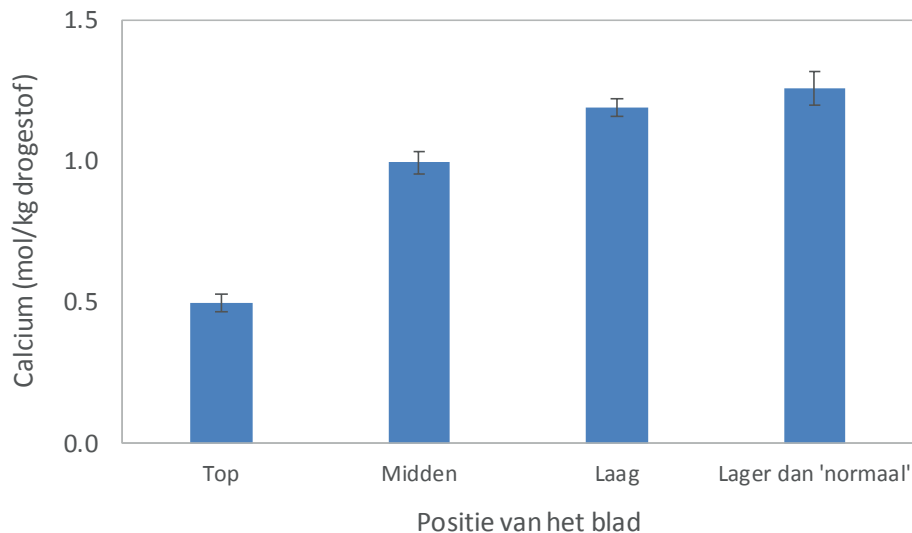
3.2.2 Nutriënten

Het stikstofgehalte in het blad is het hoogst in de jongste bladeren (top van het gewas) en neemt af naarmate het blad ouder wordt (Figuur 5). Dit is volgens verwachting; stikstof is een mobiel element en wordt getransporteerd naar de jonge delen van het gewas.

Bij calcium is juist het gehalte in de bladeren bovenin het gewas het laagst en neemt toe naarmate het blad ouder wordt (Figuur 6). Calcium wordt opgenomen door de wortels en via het xyleem getransporteerd. Calcium is een immobiel element en kan niet vanuit het oudste blad naar andere delen van de plant getransporteerd worden.



Figuur 5 Gemiddeld totaal stikstofgehalte in tomatenblad (mol/kg droge stof) op verschillende hoogtes in het gewas. Data zijn gemiddeldes van 5 genotypen (n=10 en n=15 voor lager blad dan 'normaal'). Blad aangeduid met 'lager dan normaal' zou in een reguliere tomatenteelt al geplukt zijn.



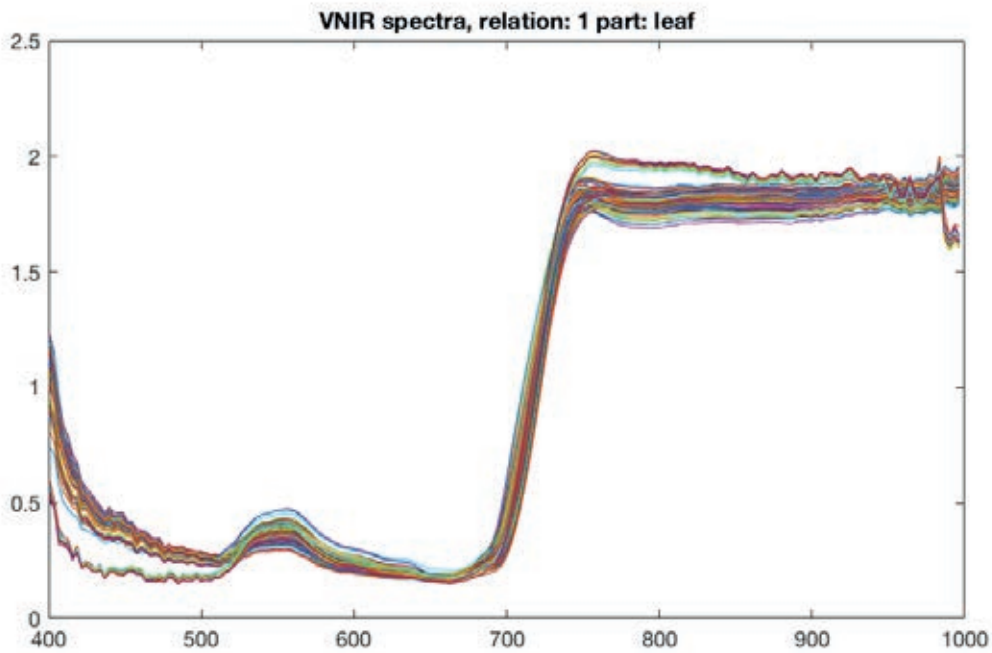
Figuur 6 Gemiddeld calciumgehalte in tomatenblad (mol/kg droge stof) op verschillende hoogtes in het gewas. Data zijn gemiddeldes van 5 genotypen ($n=10$ en $n=15$ voor lager blad dan 'normaal'). Blad aangeduid met 'lager dan normaal' zou in een reguliere tomatenteelt al geplukt zijn.

3.3 Correlatie hyperspectraal metingen en inhoudsstoffen

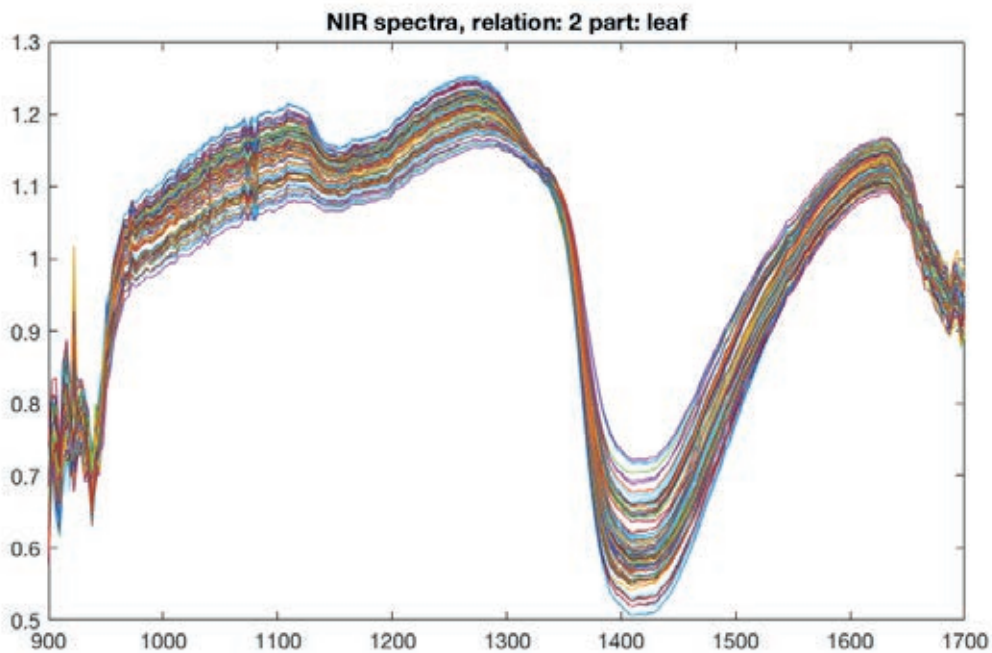
Voor het bepalen van de correlatie tussen de hyperspectrale beelden en de inhoudsstoffen zijn als eerste stap in de analyse de bladeren en vruchten gesegmenteerd van de achtergrond (Figuur 7). Dat betekent dat in de beelden gedefinieerd wordt wat blad of vrucht is en wat de achtergrond. Vervolgens is per gesegmenteerd object het gemiddelde spectrum bepaald (Figuren 8 en 9). Van elk gesegmenteerd blad is ook de oppervlakte in m^2 bepaald. Deze oppervlakte is gebruikt voor het bepalen van de 'specific leaf area' door de totale oppervlakte te delen door het gemeten drooggewicht.



Figuur 7 Gesegmenteerd beeld van een blad, binnen het witte gedeelte is het gemiddelde reflectiespectrum bepaald.



Figuur 8 Gemiddelde VIS-NIR (400-1000nm) spectra van bladeren.



Figuur 9 Gemiddelde NIR (900-1700nm) spectra van bladeren.

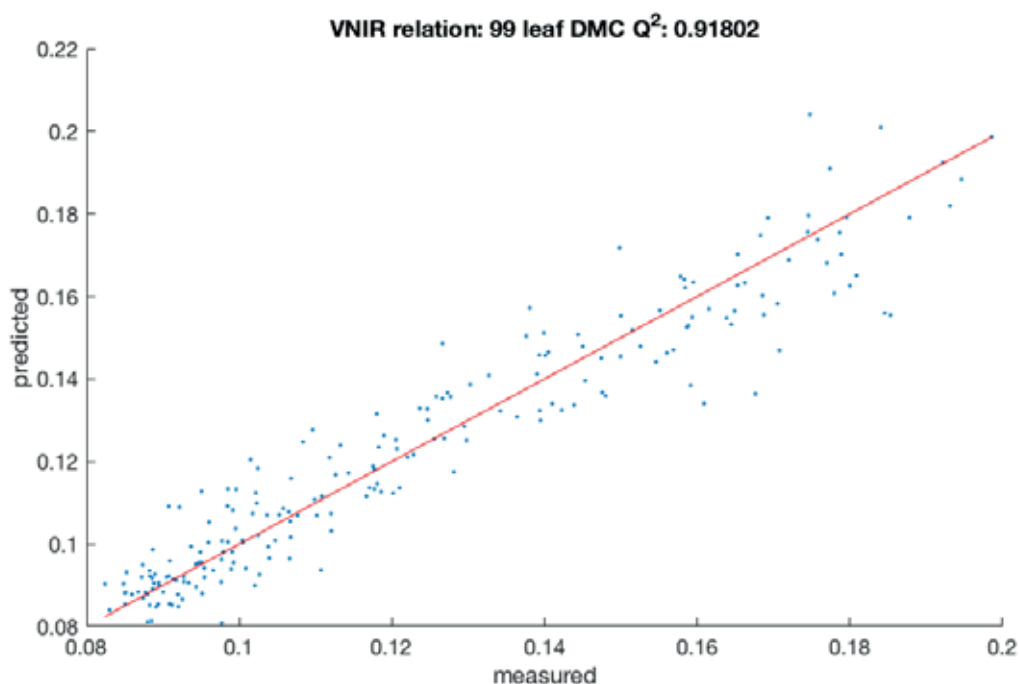
Vervolgens is van al deze spectra een "partial least square" (PLS) regressie uitgevoerd met als X variabele de gemiddelde spectra. De spectra zijn eerst gereduceerd door het weghalen van punten in het begin en eind met veel ruis en vervolgens nog een reductie met een factor 5 door iedere opeenvolgende 5 punten te middelen. Uiteindelijk blijft voor VIS-NIR een vector over van 37 en voor NIR van 38 punten. Als Y-variabele is de log getransformeerde gewaskarakteristiek gebruikt. Er is gebruik gemaakt van 'leave one out' kruisvalidatie.

De Tabel in bijlage II geeft de resultaten van de "partial least square" (PLS) regressie voor alle gewaskarakteristieken. In de kolommen staan de volgende parameters:

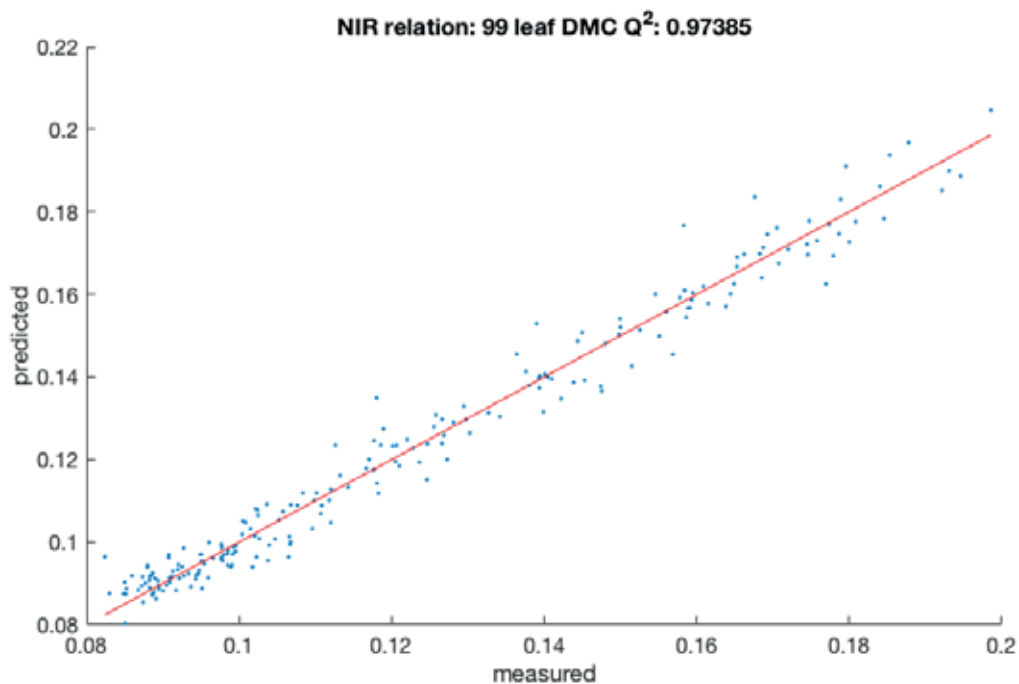
Samples_VNIR	Aantal samples VIS-NIR spectra
Q2_VNIR	Q2, is R2 op validatie dataset
ERR_VNIR	Root mean square error
LV_VNIR	Aantal latente variabelen, geeft idee van complexiteit van model
NaNs_VNIR	Aantal foute hyperspectraal beelden die niet zijn meegenomen in de analyse
Samples_NIR	Aantal samples NIR spectra
Q2_NIR	Q2, is R2 op validatie dataset
ERR_NIR	Root mean square error
LV_NIR	Aantal latente variabelen, geeft idee van complexiteit van model
NaNs_NIR	Aantal foute hyperspectraal beelden die niet zijn meegenomen in de analyse

3.3.1 Droge stof gehalte

Een gewaskenmerk dat zeer goed te bepalen is met hyperspectraal beelden is het droge stof gehalte van bladeren en vruchten. In Figuur 10 zijn de regressie voor het droge stof gehalte (DMC) met VIS-NIR hyperspectraal beelden en Figuur 11 met NIR hyperspectraal beelden.



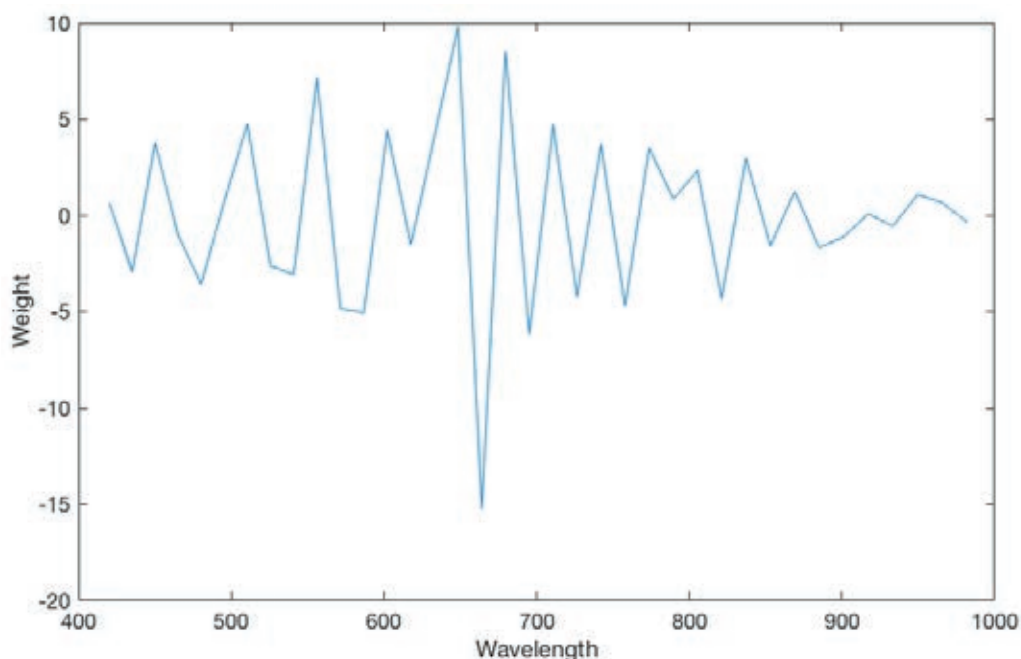
Figuur 10 Resultaat van de PLS regressie voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met het droge stof gehalte van het blad (DMC, range van 8 tot 20%). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).



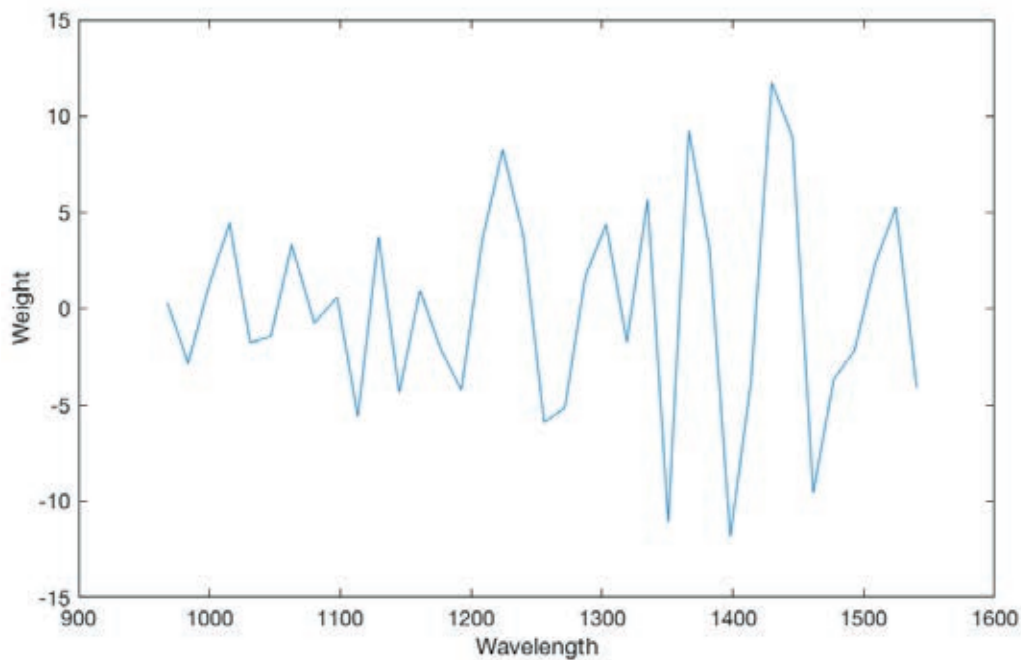
Figuur 11 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het droge stof gehalte van het blad (DMC, range van 8 tot 20%). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

De droge stof percentages in de bladeren varieerden tussen de 8 en 20%. Bladeren in de top van het gewas hadden het hoogste droge stof percentage, bladeren onderin het gewas het laagste droge stof percentage. Wanneer dit goed zou correleren met het suiker- en zetmeelgehalte in het blad, zou dit een goede indicator kunnen zijn voor het moment van bladplukken.

De analyses geven ook de gewichten van de verschillende golflengtes als resultaat. Figuren 12 en 13 laten deze zien voor het droge stof gehalte (DMC) voor VIS-NIR en NIR respectievelijk. Uit deze Figuren kan geconcludeerd worden dat de meeste golflengtes een bijdrage hebben aan het model, met bij VIS-NIR de meeste nadruk op het gebied 500-800 nm en bij NIR 1200-1500 nm.



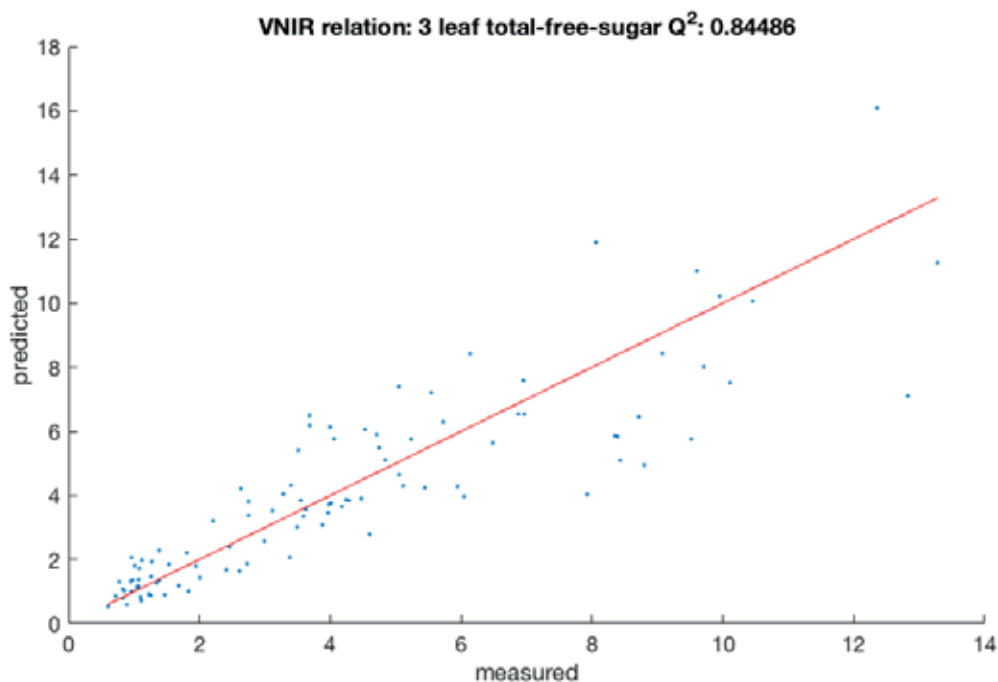
Figuur 12 Gewichten PLS regressie resultaat voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met droge stof gehalte (DMC).



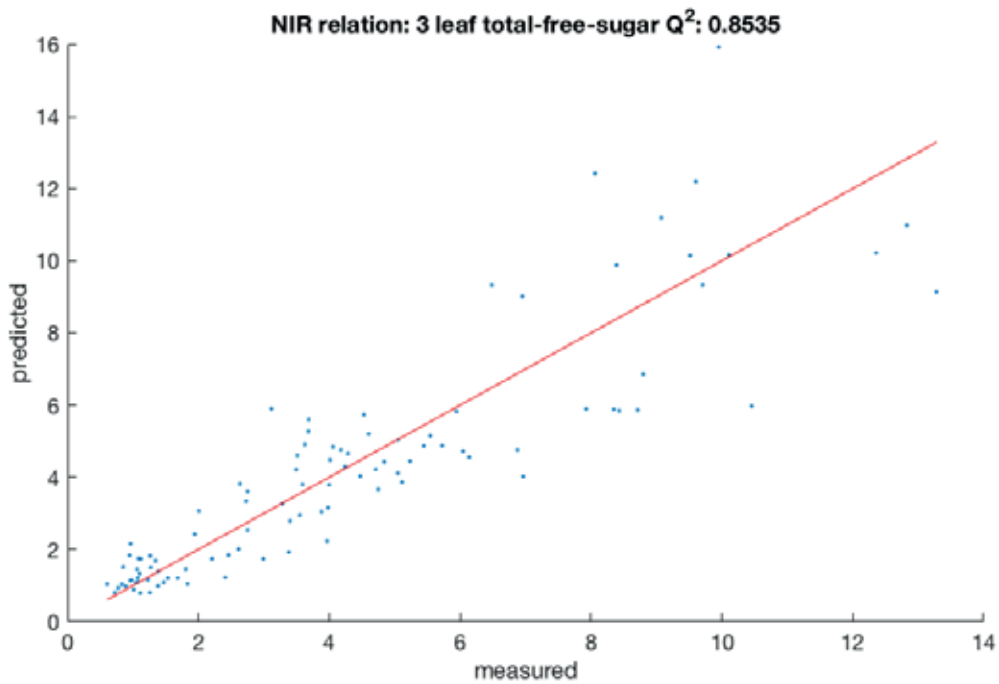
Figuur 13 Gewichten PLS regressie resultaat voor NIR hyperspectraal beelden met droge stof gehalte (DMC).

3.3.2 Suikers en zetmeel

De belangrijkste vraag in dit project was in hoeverre er met behulp van hyperspectral imaging een voorspelling gedaan zou kunnen worden van de gehalten aan suiker en zetmeel in bladeren. Uit de bemonstering van bladeren en de analyses van suikers en zetmeel in het laboratorium blijkt dat deze gehalten sterk afnemen naarmate het blad ouder wordt. Uit de correlaties van de hyperspectraal beelden met deze analyses blijkt dat het gehalte aan suikers goed te voorspellen is met zowel VIS-NIR als NIR hyperspectraal beelden (Figuren 14 en 15).



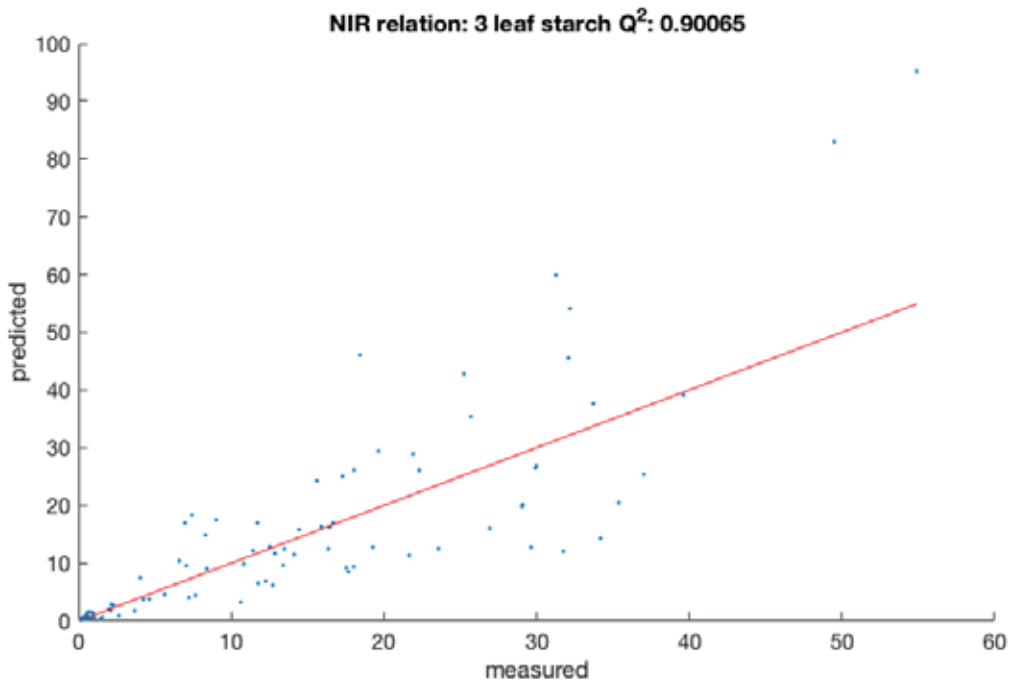
Figuur 14 Resultaat van de PLS regressie voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met het gehalte aan suikers in het blad (in mg per g versgewicht). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).



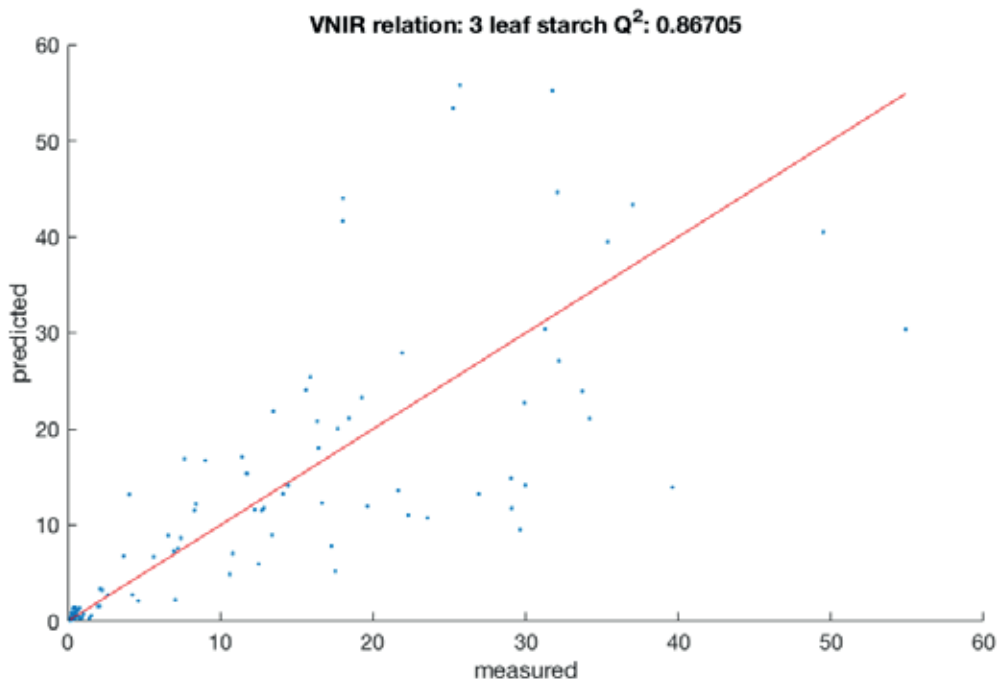
Figuur 15 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het gehalte aan suikers in het blad (in mg per g versgewicht). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

Met name bij de lagere suikergehaltes in de bladeren (midden of lager in het gewas) geven de hyperspectraal beelden een goede correlatie met de gemeten waarden. Bij suikergehaltes van 8 mg/g versgewicht zijn de afwijkingen tussen de voorspelde waarde van de hyperspectraalmeting en de gemeten waarde groter.

De correlatie tussen gemeten en voorspelde waarden voor zetmeel is minder goed dan voor de suikers (Figuren 16 en 17). De correlatie is hoog (Q² waarde), maar dit wordt grotendeels veroorzaakt doordat er veel punten vlak bij de nul liggen. Bij hogere zetmeelwaardes is de afwijking tussen de voorspelde waarde (hyperspectraal) en gemeten waarde (laboratorium) redelijk groot.



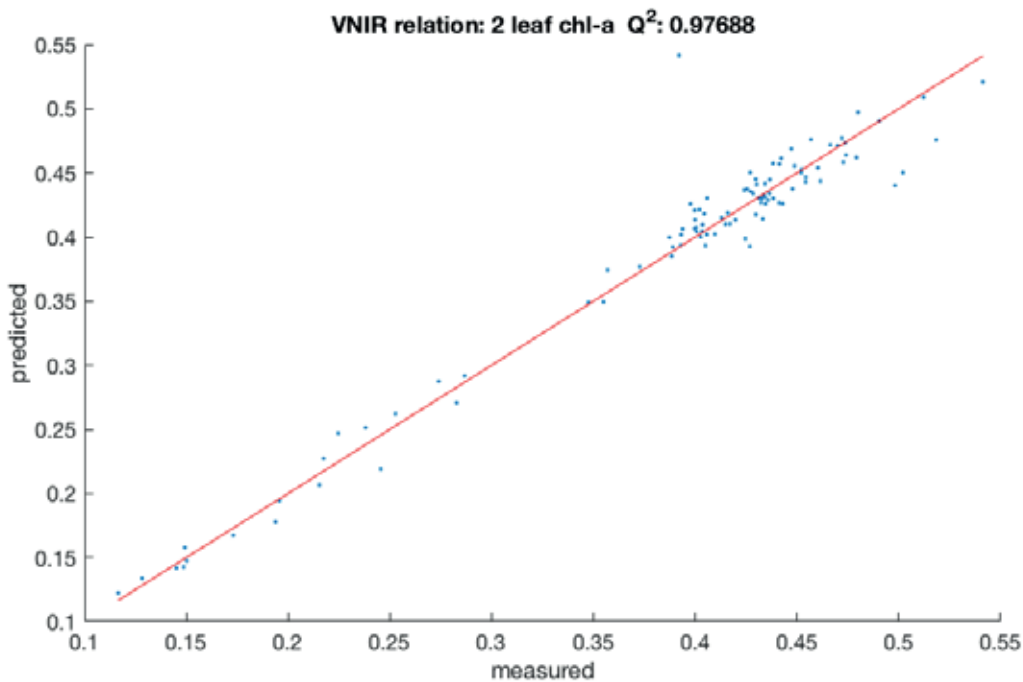
Figuur 16 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het gehalte aan zetmeel in het blad (in mg per g versgewicht). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).



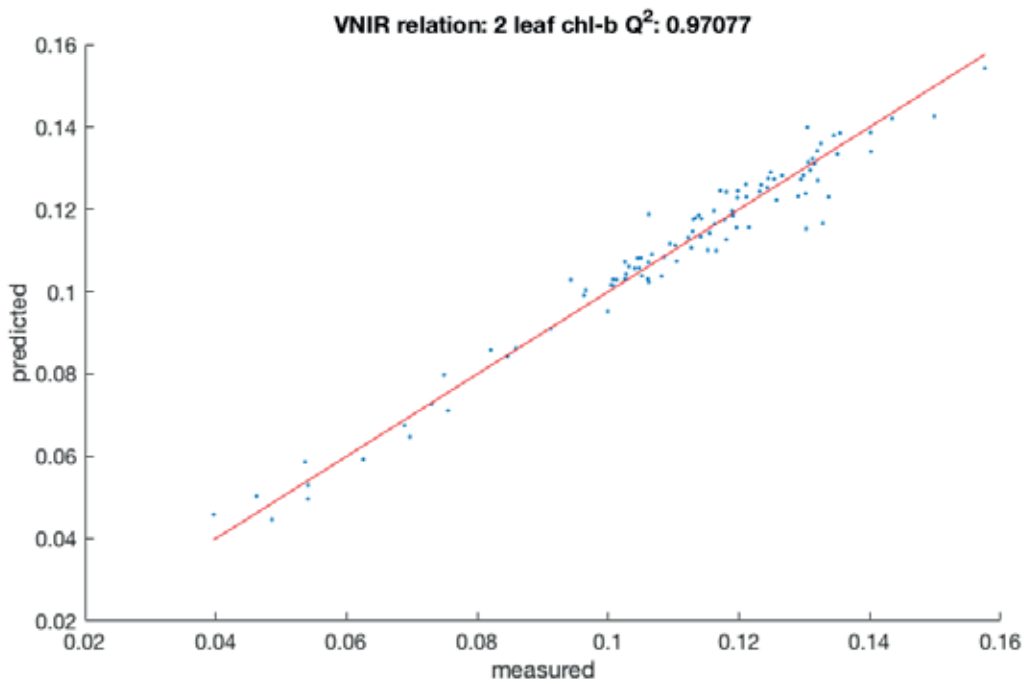
Figuur 17 Resultaat van de PLS regressie voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met het gehalte aan zetmeel in het blad (in mg per g versgewicht). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

3.3.3 Chlorofyl en carotenoïden

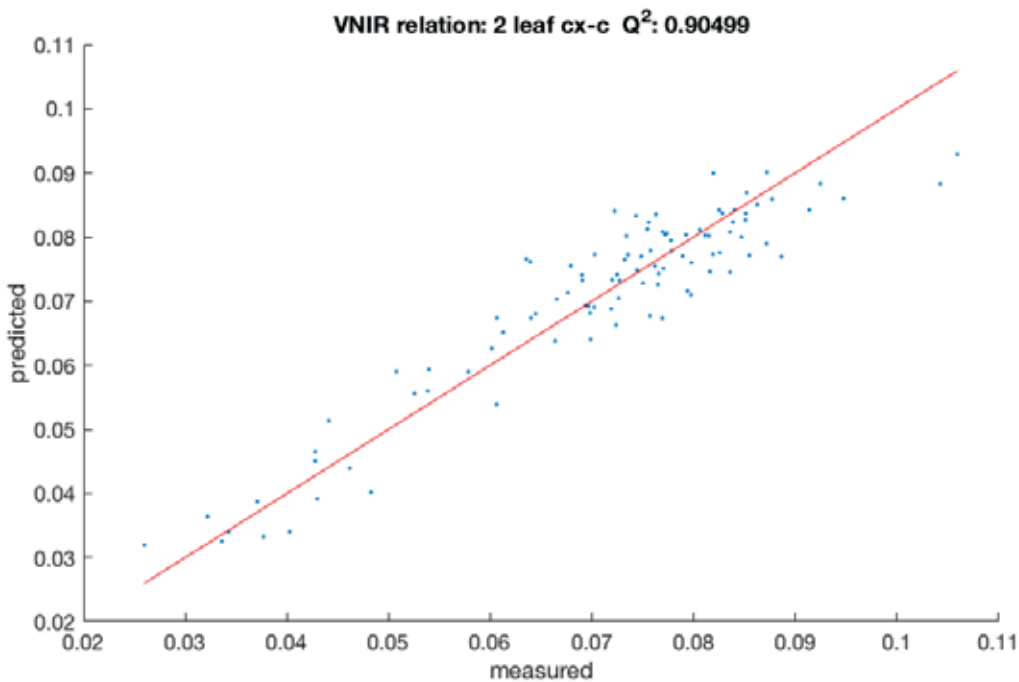
In dit project zijn de hyperspectraalmetingen aan de bladeren gecorreleerd aan zowel de chlorofylgehalten gemeten via extractie in het laboratorium, en met de Dualex, die de chlorofylindex berekent op basis van de transmissies bij 710 en 860 nm. De verwachting was dat de hyperspectraalbeelden redelijk goed zouden correleren met de Dualex metingen. Echter, het bleek dat de correlaties met de laboratoriummetingen beter waren. De hyperspectraalbeelden in het VIS-NIR hebben correlatiecoëfficiënten van 0.97 met de gemeten chlorofylgehalten, hetgeen extreem hoog is (Figuren 18 en 19). Ook de carotenoïden (pigmenten die ook zorgen voor lichtinvang voor de fotosynthese) worden met een correlatiecoëfficiënt van 0.90 bepaald (Figuur 20). Dat betekent dat met hyperspectraal camera's de gehalten aan pigmenten die belangrijk zijn voor het invangen van licht voor de fotosynthese (chlorofyl en carotenoïden) nauwkeurige kunnen worden bepaald.



Figuur 18 Resultaat van de PLS regressie voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met de chlorofyl a concentratie in het blad (in g per m² blad). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).



Figuur 19 Resultaat van de PLS regressie voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met de chlorofyl *b* concentratie in het blad (in g per m² blad). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

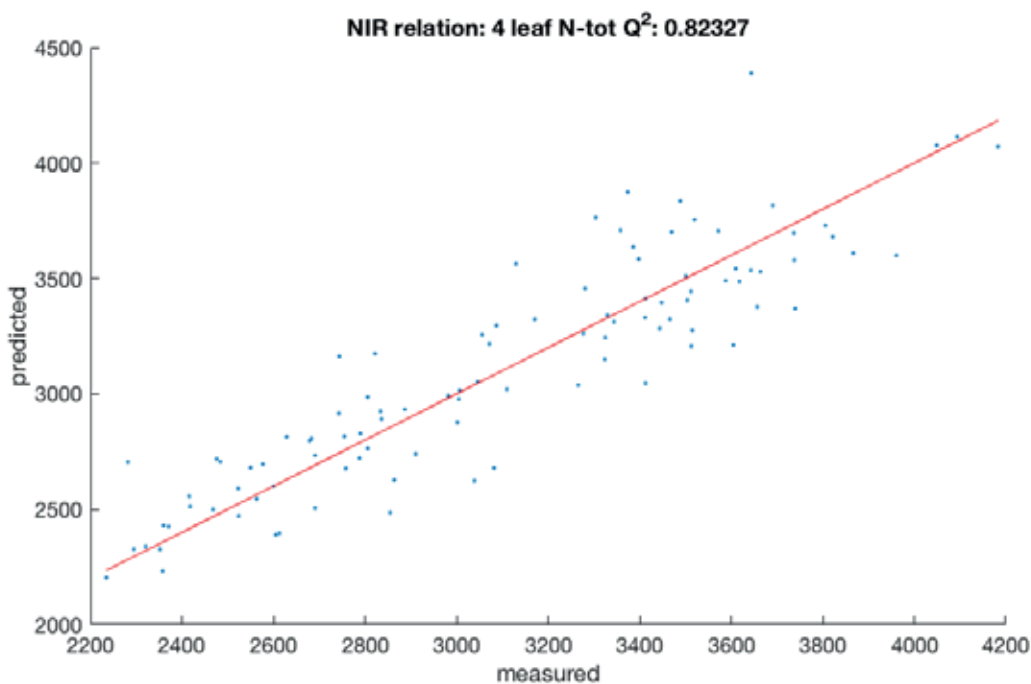


Figuur 20 Resultaat van de PLS regressie voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met het gehalte aan carotenoiden in het blad (in g per m² blad). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

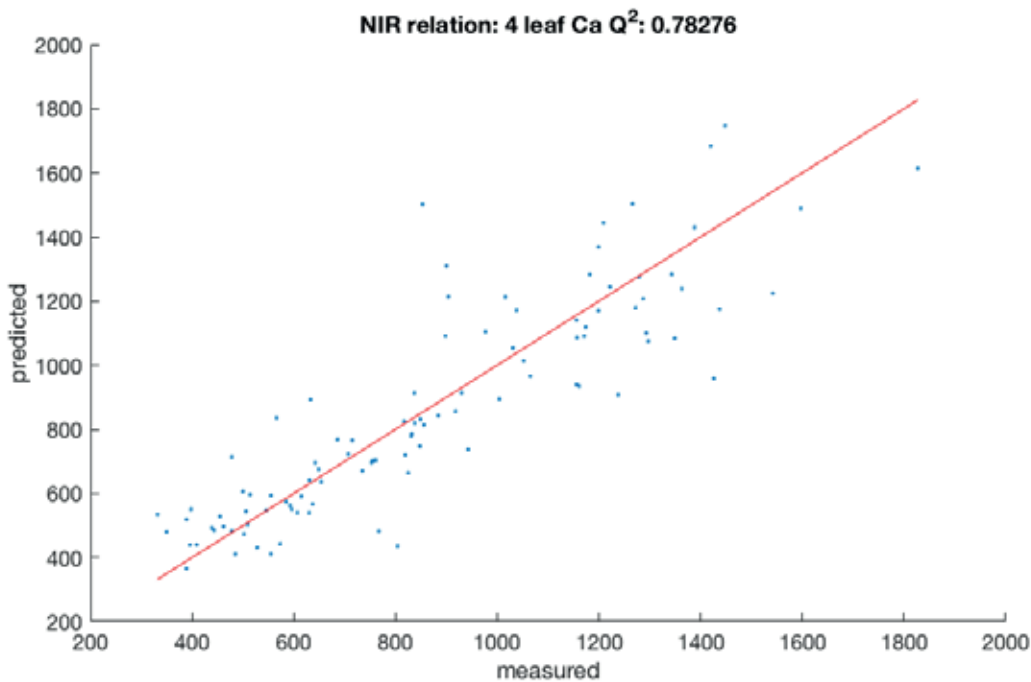
3.3.4 Nutriënten

Het hoofddoel van dit project was na te gaan of met hyperspectral imaging een goede inschatting gegeven kan worden van de suiker- en zetmeelgehaltenes in de bladeren. Omdat er met de hyperspectraal camera's een brede range aan golflengtes doorgemeten wordt, is er ook gekeken naar correlaties met andere mogelijk interessante inhoudsstoffen, zoals nutriënten. Het bleek dat de correlaties met de verschillende nutriënten (ijzer, kalium, borium, koper, mangaan, molybdeen, natrium, fosfaat) over het algemeen matig was (variërend van 0.1 tot 0.6). Dat betekent dat voor die nutriënten hyperspectral imaging niet ingezet kan worden als methode om de nutriëntengehaltes in bladeren in te kunnen schatten.

De beste correlaties tussen gehalten aan nutriënten en de hyperspectraal beelden werden gevonden voor twee nutriënten die wel zeer relevant zijn voor gewasgroei en fysiogene afwijkingen, namelijk totaal stikstofgehalte (N totaal) en calcium. Uit de Figuren 21 en 22 blijkt dat de hyperspectraal beelden een redelijk goede inschatting geven van het totale gehalte aan stikstof en van het calciumgehalte in het blad.



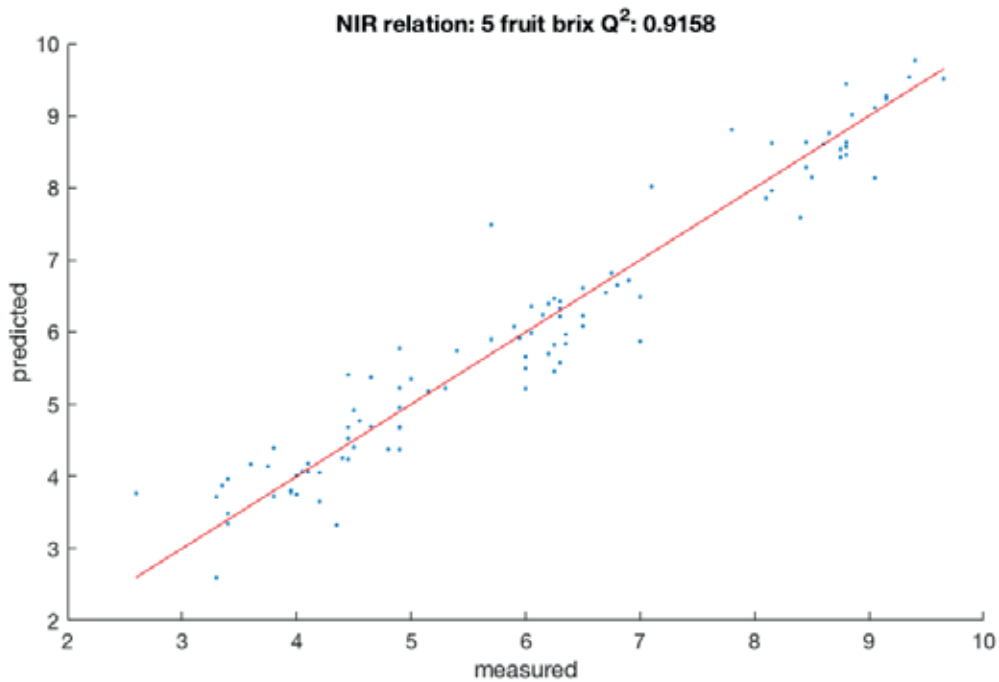
Figuur 21 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het totale stikstofgehalte in het blad (in mmol per kg droge stof blad). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).



Figuur 22 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het calciumgehalte in het blad (in mmol per kg droge stof blad). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

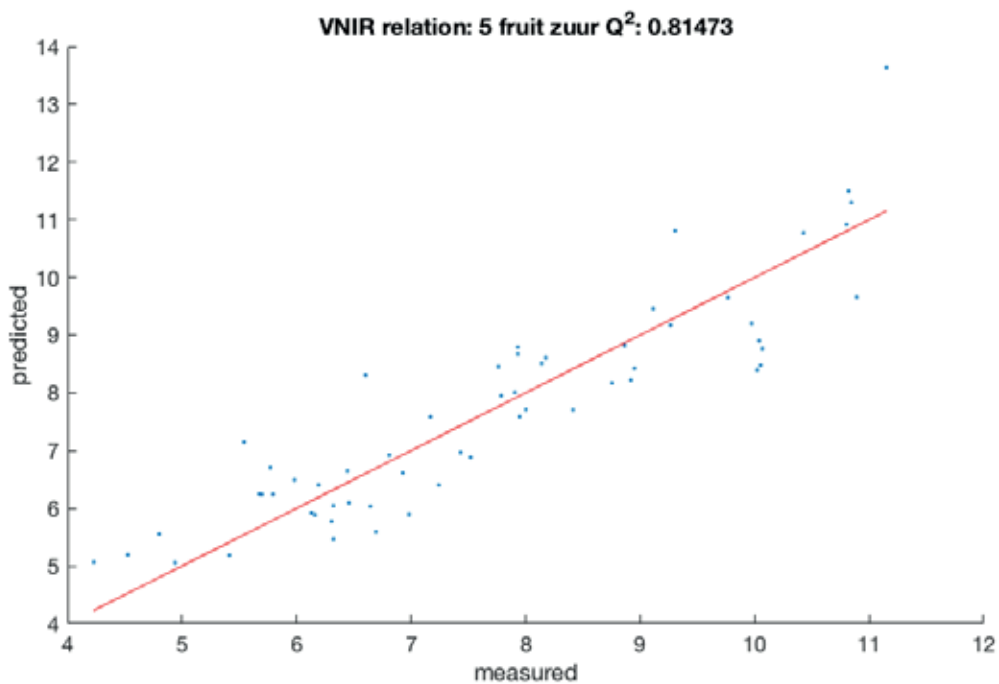
3.3.5 Vruchtkwaliteit

Kwaliteit van tomatenvruchten kan gemeten worden met een smaakpanel, of wordt bepaald op basis van een smaakmodel (Verkerke *et al.* 2010). Een aantal belangrijke karakteristieken voor de kwaliteit van tomatenvruchten zijn suikergehalte en zuurgehalte. De hyperspectraal beelden die gemaakt zijn van rijpe, onrijpe en overrijpe vruchten zijn gecorreleerd met de °Brix metingen van de vruchten (maat voor gehalte aan oplosbare stoffen in de vruchten, grotendeels suikers) en met de gemeten zuurgehaltes. De hyperspectraal beelden geven een zeer goede correlatie met de Brixwaarde van de vruchten (0.92) (Figuur 23), hetgeen aangeeft dat deze camera gebruikt zou kunnen worden om in de kas de Brixwaarde van vruchten aan de plant te meten, en op basis daarvan te bepalen of ze geoogst kunnen worden.



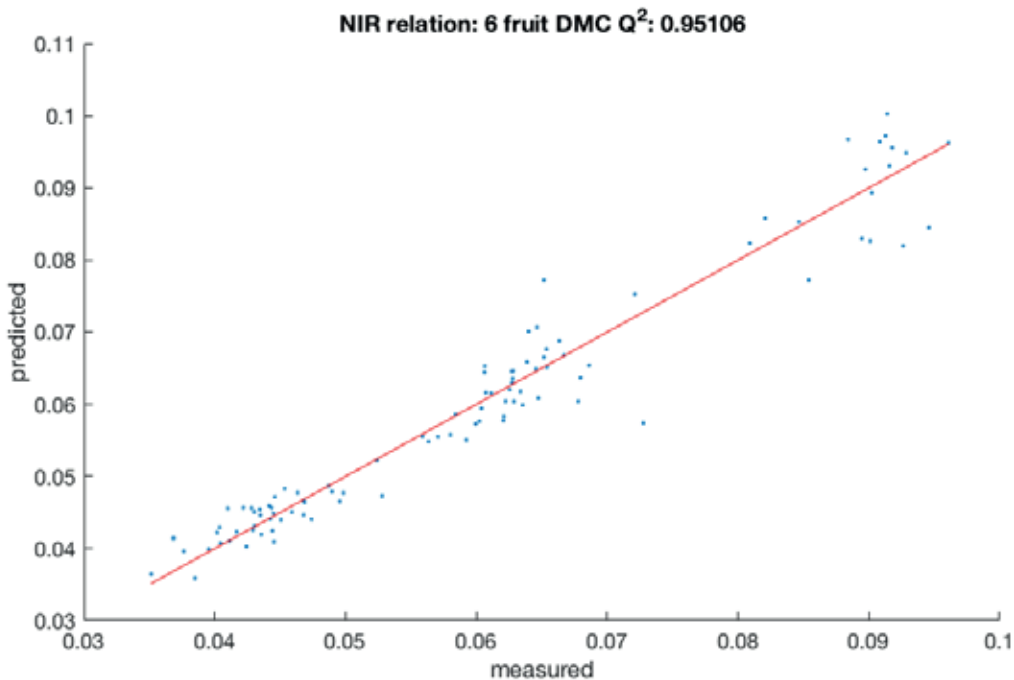
Figuur 23 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het suikergehalte in de vruchten (in °Brix). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

De hyperspectraalbeelden geven ook een goede correlatie met het zuurgehalte van de vruchten (Figuur 24). Dat geeft aan dat deze camerasystemen een goede indicatie zouden kunnen geven van de kwaliteit van vruchten aan de plant.



Figuur 24 Resultaat van de PLS regressie voor VIS-NIR hyperspectraal beelden met het zuurgehalte in de vruchten (in mmol H_3O^+ per 100 g versgewicht). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

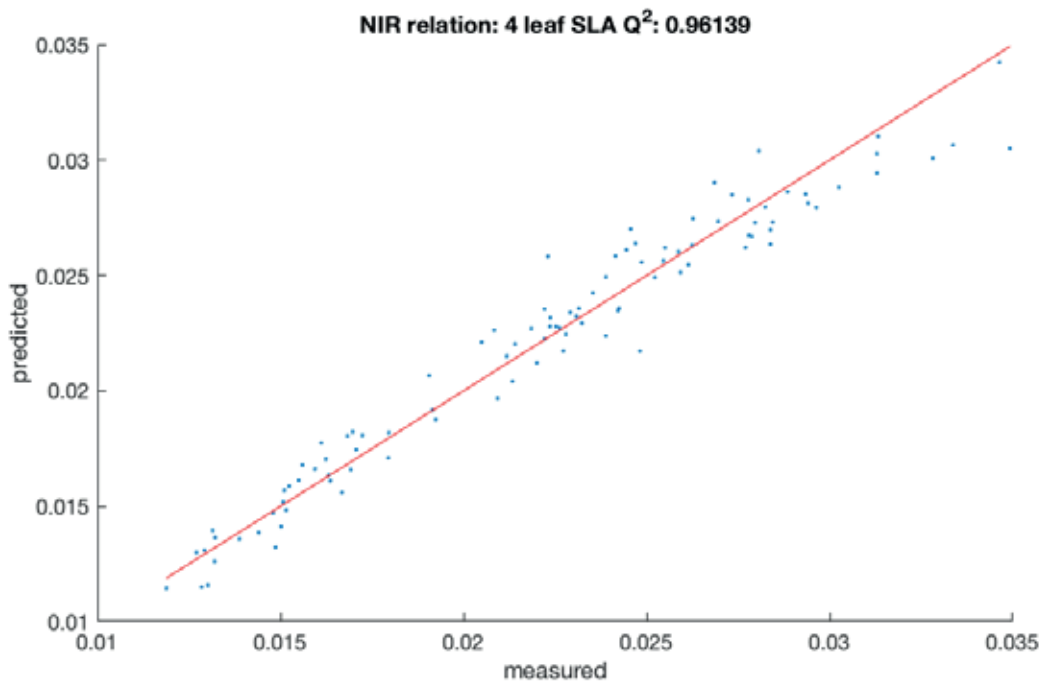
Uit Figuur 10 bleek dat de hyperspectraal beelden een zeer goede correlatie te hebben met het droge stof gehalte van het blad. Deze correlatie is ook erg goed voor het droge stof gehalte van de vruchten (Figuur 25), hetgeen ook een kwaliteitsindicator is.



Figuur 25 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het droge stof gehalte van de vruchten (in procenten). De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

3.3.6 Overige plantkarakteristieken

Een van de karakteristieken van blad is het specifieke bladoppervlakte, dat is het oppervlakte van een blad gedeeld door het drooggewicht (specific leaf area, SLA). Bij de metingen is van de blaadjes die met de hyperspectraal camera gemeten zijn het drooggewicht bepaald. Met de hyperspectraal camera wordt het oppervlakte van het blaadje bepaald, en met deze kenmerken is de SLA, een maat voor de bladdikte, berekend. De hyperspectraal beelden correleren sterk met deze meting, en zijn daarmee een goede indicator voor de bladdikte (Figuur 26).



Figuur 26 Resultaat van de PLS regressie voor NIR hyperspectraal beelden met het specifieke bladoppervlakte, een maat voor de bladdikte. De rode lijn geeft de 1:1 relatie aan (gemeten waarde is hetzelfde als de voorspelde waarde).

In bijlage 1 is een overzicht te vinden van de correlaties tussen de hyperspectraalmetingen en alle metingen aan inhoudsstoffen en plantkarakteristieken.

4 Discussie en aanbevelingen

4.1 Aanleiding

Een van de basisprincipes van een energiezuinige glastuinbouw is dat het (schaarse) licht optimaal wordt omgezet in assimilaten. Deze assimilaten worden verdeeld over wortels, bladeren, stengels en vruchten of bloemen. Het streven is om zoveel mogelijk assimilaten te sturen in de richting van het oogstbare product. Daarbij is het bladpakket van belang om licht te onderscheppen, assimilaten aan te maken via de fotosynthese en deze daarna te exporteren naar het oogstbare product. In het geval van gewassen waarbij het blad geen onderdeel is van het product, zouden bladeren in het ideale geval zoveel mogelijk "leeggetrokken" moeten worden door de plant na de productieve periode, zodat de assimilaten en nutriënten op een andere plaats in de plant gebruikt kunnen worden. De enige manier waarop dit tot nu toe te bepalen is, is door bladmonsters te nemen en deze door een extern laboratorium te laten analyseren. Bij telers blijkt duidelijk de behoefte om momentaan in de kas de status van het gewas te monitoren, om die informatie te kunnen gebruiken bij het sturen van het kasklimaat (CO₂ doseren, belichting aan of uit) of teeltmaatregelen (blaadjes weghalen, snoeien). In dit project is gewerkt aan een meetmethode of dit te realiseren op basis van hyperspectrale camera's.

Hyperspectrale camera's combineren de kracht van digitale beeldverwerking met deze van spectroscopie en bieden zo nieuwe mogelijkheden voor het meten van uitwendige en inwendige kwaliteit van een product. In dit project worden hyperspectraal beelden van bladeren en vruchten gecombineerd met metingen van gehalten aan suikers, zetmeel, droge stof percentage, chlorofyl en nutriënten. Het resultaat van de analyse van de beelden en gehalten is een model dat aangeeft welke golflengtes een goede correlatie hebben met de verschillende inhoudsstoffen. Deze golflengtes zouden vervolgens kunnen worden geïmplementeerd in een multispectrale camera die ingezet zou kunnen worden om tijdens de teelt te bepalen wanneer teeltmaatregelen (bijvoorbeeld bladplukken) genomen moeten worden. Dit zou een handmeter kunnen zijn, die de kas mee ingenomen kan worden en op meerdere plekken gebruikt kan worden, of een camera die op een vaste plaats in de kas wordt gemonteerd en van daaraf het gewas monitort.

4.2 Resultaten en discussie

4.2.1 Bladeren

Een van de belangrijkste vragen in dit project was in hoeverre er met behulp van hyperspectral imaging een voorspelling gedaan zou kunnen worden van de gehalten aan suiker en zetmeel in bladeren. Tijdens de proef zijn bladeren van verschillende leeftijden van de planten gehaald en geanalyseerd. De gehalten aan suikers en zetmeel, gemeten in het laboratorium, nemen sterk af naarmate het blad ouder wordt. Het gehalte aan totale suikers in het blad blijkt goed te voorspellen met de hyperspectraal beelden (correlatie van 0.85), zowel met zowel VIS-NIR (400-1000 nm) als NIR (1000-1700 nm) hyperspectraal beelden. De correlatie tussen gemeten en voorspelde waarden voor zetmeel is weliswaar hoger dan voor de totale suikers, maar dit wordt grotendeels veroorzaakt doordat er veel punten vlakbij de nul liggen. Bij hogere zetmeelwaardes is de afwijking tussen de voorspelde waarde (hyperspectraal) en gemeten waarde (laboratorium) redelijk groot.

Een gewaskenmerk dat zeer goed te bepalen is met hyperspectraal beelden is het droge stof gehalte van zowel bladeren als vruchten, dat een hele hoge correlatie heeft tussen metingen en beelden (0.97). Verder blijkt ook het chlorofylgehalte in het blad erg goed te voorspellen met de hyperspectraalmetingen, met ook een correlatie van 0.97. Ook de carotenoïden (pigmenten die ook zorgen voor lichtinvang voor de fotosynthese) worden met een correlatiecoëfficiënt van 0.90 bepaald. Dat betekent dat met hyperspectraal camera's de gehalten aan pigmenten die belangrijk zijn voor het invangen van licht voor de fotosynthese (chlorofyl en carotenoïden) nauwkeurig kunnen worden gemeten.

Verder is gekeken naar de mogelijkheden om met hyperspectraal camera's de gehalten aan nutriënten in bladeren te bepalen, met wisselend resultaat. In veel gevallen bleek de correlatie tussen de beelden en de gemeten gehalten aan nutriënten slecht tot matig. De beste correlaties tussen gehalten aan nutriënten en de hyperspectraal beelden werden gevonden voor twee nutriënten die wel zeer relevant zijn voor gewasgroei en fysiogene afwijkingen, namelijk totaal stikstofgehalte (N totaal) en calcium.

4.2.2 Vruchten

De kwaliteit van tomatenvruchten kan bepaald worden met een smaakpanel of met behulp van een smaakmodel. Twee belangrijke elementen van dit model zijn suikergehalte en zuurgehalte. Uit de correlaties tussen hyperspectraal beelden en metingen van °Brix en zuurgehaltes aan rijpe, onrijpe en overrijpe vruchten blijkt dat de hyperspectraal beelden zeer goed correleren met de Brixwaarde van de vruchten (0.92). De correlatie met zuurgehalte is iets minder (0.81), maar nog steeds goed. Dat betekent dat de hyperspectraal camera goed gebruikt zou kunnen worden om in de kas de kwaliteit van vruchten aan de plant te meten, en op basis daarvan te bepalen of ze geoogst kunnen worden. Het voordeel van meten aan de plant ten opzichte van de huidige systematiek van het meten van kwaliteit van geoogst product is dat er gewacht kan worden met oogsten als de kwaliteit nog niet optimaal is.

4.3 Aanbevelingen

Het doel van dit onderzoek was na te gaan in hoeverre hyperspectraal camera's perspectief bieden om inhoudsstoffen in het blad, met name suikers, tijdens de teelt te meten. Dat zou telers de informatie geven over de status van hun gewas, zodat zij op basis daarvan teelthandelingen of klimaataanpassingen zouden kunnen doen.

Uit de resultaten blijkt dat de hyperspectraal beelden goed correleren met de gehalten aan suikers in het blad. Daarnaast blijken de hyperspectraal beelden ook goed te correleren met het droge stof gehalte, bladdikte en de gehalten aan pigmenten (chlorofyl en carotenoïden) in het blad. Er was een redelijke correlatie tussen de beelden en gehalten aan zetmeel, totaal stikstof en calcium. De gehalten aan een aantal andere nutriënten bleek niet tot nauwelijks voorspelbaar met de hyperspectraal camera's. Verder bleken gehalten aan suikers en zuren in de vruchten, bepalen voor de smaak van tomaten, goed voorspelbaar met de hyperspectraal camera. Al deze resultaten laten zien dat hyperspectraal camera's zeer bruikbaar kunnen zijn in de glastuinbouw om de status van het gewas en kwaliteit van vruchten te bepalen tijdens de teelt, zonder het gewas te beschadigen.

Hyperspectraal beelden bestaan uit een volledig reflectie spectrum per beeldelement. Voor de analyse in dit onderzoek is gebruik gemaakt van het gemiddelde spectrum per blad of vrucht. Hiermee is de ruimtelijke informatie in het beeld buiten beschouwing gelaten. In een vervolgonderzoek zou deze informatie echter meegenomen kunnen worden. Dit geeft dan informatie over de verdeling van de verschillende inhoudsstoffen over het blad of de vrucht. We kunnen dan zien of bepaalde stoffen meer onderaan het blad zitten of bovenaan, bij de nerf of meer aan de buitenkant.

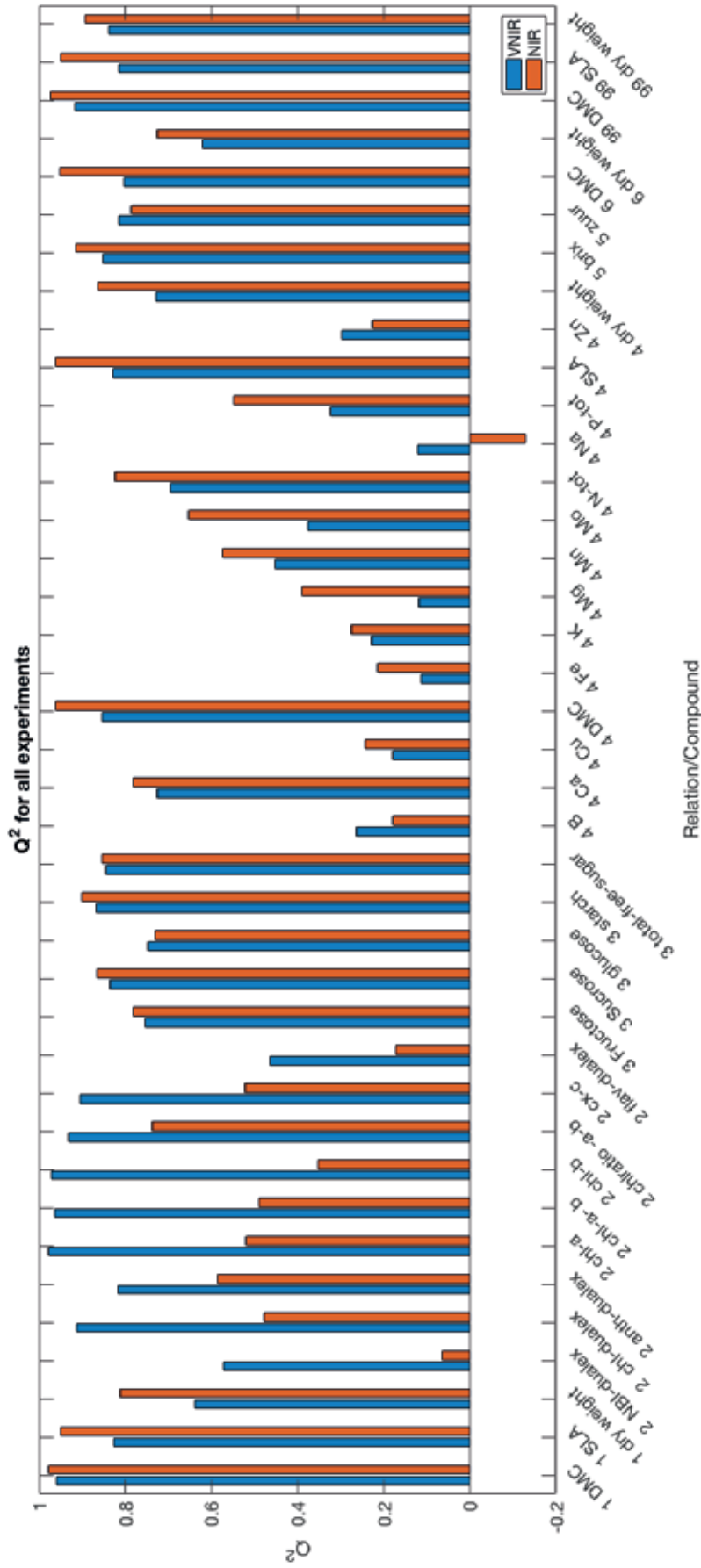
In dit project hebben we bewust verschillende behandelingen aangelegd om grote verschillen in bladkwaliteit te creëren, om daarmee een brede range aan gehalten van bijvoorbeeld suikers in het blad te krijgen en goed na te kunnen gaan of de hyperspectraal camera bruikbaar is om deze range te voorspellen. De volgende stap zou zijn om na te gaan of de hyperspectraal camera's ook in een reguliere teelt gebruikt kunnen worden om de gehalten aan inhoudsstoffen te bepalen, zodanig dat een teler die informatie zou kunnen gebruiken om op te kunnen sturen. Dat betekent dat er bij vervolgonderzoek in een teelt regelmatig gemeten en bemonsterd zou moeten worden, op momenten dat telers een keuze zouden willen maken om wel of niet blad te plukken, te schermen of andere instellingen aan te passen.

Literatuur

- Polder, G., Heijden, G.W.A.M. van der, Young, I.T. 2002.
Spectral image analysis for measuring ripeness of tomatoes. *Transactions of the ASABE* 45 (4): 1155 - 1161.
- Polder, G., G.W.A.M. van der Heijden, H. van der Voet & I.T. Young. 2004.
Measuring surface distribution of carotenes and chlorophyll in ripening tomatoes using imaging spectrometry. *Postharvest Biology and Technology* 34 (2): 117 - 129.
- Polder, G., E.J. Pekkeriet & M. Snickers. 2013.
A spectral imaging system for detection of Botrytis in greenhouses, EFITA Conference Torino, Italy, June 2013.
- Polder, G., G.W.A.M. van der Heijden, J. van Doorn & A.H.M.C. Baltissen 2014.
Automatic detection of tulip breaking virus (TBV) in tulip fields using machine vision. *Biosystems Engineering* 117: 35 - 42.
- Rapaport, T., U. Hochberg, M. Shoshany, A. Karnieli & S. Rachmilevitch 2015.
Combining leaf physiology, hyperspectral imaging and partial least squares-regression (PLS-R) for grapevine water status assessment, *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* 109: 88-97, dx.doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2015.09.003.
- Schut, A.G.T., Van der Heijden, G.W.A.M., Hoving, I., Stienezen, M.W.J., Van Evert, F.K., Meuleman, J. (2006)
Imaging spectroscopy for on-farm measurement of grassland yield and quality. *Agron J* 98(5):1318-1325
- Van der Heijden G.W.A.M., Polder G. (2015).
Screening for Plant Features. In: Kumar J., Pratap A., Kumar S. (eds) *Phenomics in Crop Plants: Trends, Options and Limitations*. Springer, New Delhi.
- Wellburn, A.R. 1994.
The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144 (3): 307-313.
- Zhao, Y.-R., X. Li, K.-Q. Yu, F. Cheng & Y. He. 2016.
Hyperspectral imaging for determining pigment contents in Cucumber leaves in response to angular leaf spot disease, 6, article no. 27790. doi.org/10.1038/srep27790.

Bijlage 1 Correlaties tussen hyperspectraal beelden en metingen

Figuur 1 geeft alle Q^2 waarden in een staafdiagram. Deze resultaten laten duidelijk zien dat het droge stof gehalte (dry matter content; DMC) en specifiek leaf area (SLA; maat voor de blad dikte) goed voorspeld kunnen worden met zowel VIS-NIR als NIR, alhoewel NIR iets betere resultaten geeft. Chlorofyl gerelateerde kenmerken worden vooral goed voorspeld met VIS-NIR. Gehaltes aan suikers en zuren worden goed voorspeld, maar ook hier presteert NIR iets beter. Van de nutriënten worden calcium en stikstof redelijk goed voorspeld, ook hier het best met NIR.



Figuur 1 Correlaties (Q^2) van de VIS-NIR en NIR hyperspectraal beelden met de gemeten inhoudsstoffen of gewaskarakteristieken.

Bijlage 2 PLS regressie

SampleName	Plantpart	Samples_VNIR	Q2_VNIR	ERR_VNIR	LV_VNIR	NaNs_VNIR	Samples_NIR	Q2_NIR	ERR_NIR	LV_NIR	NaNs_NIR
1 DMC	leaf	112	0.9586234	0.04021365	24	0	111	0.97731879	0.04031142	24	1
1 SLA	leaf	112	0.82672695	0.00602169	19	0	111	0.9506105	0.00572468	24	1
1 dry weight	leaf	112	0.63820108	0.30804473	25	0	111	0.81106579	0.30176041	14	1
2 NBI-dualex	leaf	100	0.57177104	33.2745327	5	0	100	0.06507327	27.7428923	4	0
2 chl-dualex	leaf	100	0.9130194	6.59229593	5	0	100	0.47747994	6.84158777	4	0
2 anth-dualex	leaf	100	0.81761323	0.039644	13	0	100	0.58653765	0.03697469	16	0
2 chl-a	leaf	100	0.97688354	0.0957988	8	0	100	0.51951585	0.10361751	4	0
2 chl-a-b	leaf	100	0.96289039	0.11884185	6	0	100	0.48919331	0.12495874	4	0
2 chl-b	leaf	100	0.97076951	0.0244585	12	0	100	0.35255265	0.02297031	4	0
2 chlratio -a-b	leaf	100	0.93003955	0.43899544	10	0	100	0.7373614	0.42106207	6	0
2 cx-c	leaf	100	0.90498611	0.01615224	8	0	100	0.52243158	0.01656298	5	0
2 flav-dualex	leaf	100	0.46418586	0.10603269	11	0	100	0.17341474	0.09161276	6	0
3 Fructose	leaf	97	0.75307289	1.37488288	14	3	97	0.78136388	1.38703072	13	3
3 Sucrose	leaf	100	0.83506471	1.57423285	4	0	100	0.8650005	1.62896231	12	0
3 glucose	leaf	100	0.74722835	0.61078845	14	0	100	0.73125804	0.598121	13	0
3 starch	leaf	100	0.86704558	13.8466258	13	0	100	0.90065164	14.8125385	13	0
3 total-free-sugar	leaf	100	0.84486096	3.25879713	14	0	100	0.85350469	3.32910691	13	0
4 B	leaf	100	0.26409277	0.7603959	4	0	100	0.17874766	0.75591703	7	0
4 Ca	leaf	100	0.72529207	365.713691	5	0	100	0.78275832	383.333379	16	0
4 Cu	leaf	87	0.17967339	22.8195857	6	13	87	0.24253574	23.1143561	4	13
4 DMC	leaf	100	0.8540647	0.02742914	9	0	100	0.96185768	0.0280509	13	0
4 Fe	leaf	100	0.11440609	0.45990798	11	0	100	0.21459885	0.45003497	7	0
4 K	leaf	100	0.22868845	234.887305	3	0	100	0.27587004	249.755448	10	0

SampleName	Plantpart	Samples_VNIR	Q2_VNIR	ERR_VNIR	LV_VNIR	NaNs_VNIR	Samples_NIR	Q2_NIR	ERR_NIR	LV_NIR	NaNs_NIR
4 Mg	leaf	100	0.11821169	43.9864969	4	0	100	0.38900558	52.2322204	16	0
4 Mn	leaf	100	0.45266665	1.82568873	15	0	100	0.57362109	1.78476708	9	0
4 Mo	leaf	100	0.37587666	21.3030962	7	0	100	0.65256996	23.0817816	11	0
4 N-tot	leaf	100	0.69561857	530.600504	10	0	100	0.82327145	559.144676	19	0
4 Na	leaf	47	0.12206708	2.94242502	3	53	47	-0.1297984	2.9987857	6	53
4 P-tot	leaf	100	0.32331419	59.4052931	9	0	100	0.54783418	61.4249274	13	0
4 SLA	leaf	100	0.82757177	0.00656167	24	0	100	0.9613935	0.00649699	17	0
4 Zn	leaf	100	0.2981626	0.05170346	4	0	100	0.22506473	0.05146826	6	0
4 dry weight	leaf	100	0.72794465	0.31479391	13	0	100	0.86320123	0.32250954	13	0
5 brix	fruit	100	0.85241276	2.09193725	9	0	100	0.91579766	2.10601632	14	0
5 zuur	fruit	58	0.81473281	2.07602199	7	42	58	0.78617937	2.04715867	7	42
6 DMC	fruit	100	0.80214499	0.0187273	13	0	100	0.95106472	0.01887471	14	0
6 dry weight	fruit	100	0.62093023	1.378679	13	0	100	0.72544136	1.39931737	12	0
99 DMC	leaf	212	0.91801629	0.03477494	22	0	211	0.97385292	0.03527425	16	1
99 SLA	leaf	212	0.81402529	0.00627547	24	0	211	0.94922277	0.00608247	21	1
99 dry weight	leaf	212	0.83702097	0.59166237	24	0	211	0.89270634	0.57659641	17	1

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen University & Research,
BU Glastuinbouw
Postbus 20
2665 ZG Bleiswijk
Violierenweg 1
2665 MV Bleiswijk
T +31 (0)317 48 56 06
F +31 (0) 10 522 51 93
www.wur.nl/glastuinbouw

Rapport WPR-770

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 5.000 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.