

# **Untersuchungen zum Einsatz von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion**

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover  
zur Erlangung des Grades

**DOKTOR DER GARTENBAUWISSENSCHAFTEN**

**Dr. rer. hort.**

genehmigte Dissertation

von

Dipl.-Ing., B.Sc. Christian Marx (geb. Wöltjen)

geboren am 27.11.1980 in Achim

2014

Referent: Prof. Dr. rer. hort. habil. Thomas Rath

Korreferent: Prof. Dr.-Ing. Ludger Overmeyer

Tag der Promotion: 13.12.2013

## Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Gartenbauliche Produktionssysteme der Leibniz Universität Hannover sowie am Laser Zentrum Hannover e.V..

Herrn Prof. Dr. rer. hort. habil. Thomas Rath, dem Leiter des Labors für Biosystemtechnik an der Fakultät Agrarwissenschaften und Landschaftsarchitektur der Hochschule Osnabrück, gilt mein besonderer Dank für seinen fachlichen Rat und seine stets wertvollen Anregungen zu der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr.-Ing. Ludger Overmeyer, dem Leiter des Institut für Transport- und Automatisierungstechnik der Leibniz Universität Hannover und Vorstandsmitglied des Laser Zentrum Hannover e.V., danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. Hans-Michael Poehling, dem Leiter der Abteilung Phytomedizin des Instituts für Gartenbauliche Produktionssysteme der Leibniz Universität Hannover, danke ich für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission.

All meinen Kolleginnen und Kollegen, den technischen Angestellten sowie den tatkräftig unterstützenden Studierenden und Praktikanten gebührt mein aufrichtiger Dank für die freundliche und sehr kooperative Zusammenarbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Ehefrau Alexandra für Ihre stete Geduld, mir immer wieder die erforderlichen Freiräume und die notwendige Kraft für die Erstellung der vorliegenden Dissertation gegeben zu haben.

Hannover, im Mai 2014

A handwritten signature in blue ink, reading "Christian Marx". The signature is written in a cursive style with a long, sweeping underline that extends to the right.

## Kurzfassung

### Untersuchungen zum Einsatz von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion

In der gartenbaulichen Produktion zeigt sich in den vergangenen Jahren ein Trend von der konventionellen über eine spezifische hin zu einer selektiven Behandlung von Pflanzen und Pflanzenprodukten. So ergeben sich bedarfsangepasste Kulturmaßnahmen (bspw. Düngung) sowie individuelle Produktkontrollen (bspw. Sortierung) in der Weiterverarbeitung. Letztlich zielen entsprechende Maßnahmen auf eine Steigerung der Produktqualität und der Produktsicherheit ab. In der Produktion ist dazu eine Erhöhung der technischen Automatisierung erforderlich, um einerseits die Vielzahl möglicher Pflanzenparameter aufzunehmen sowie andererseits selektive Maßnahmen zeitnah und präzise umzusetzen. Da konventionelle Techniken dafür nur begrenzt einsetzbar sind, müssen innovative Lösungswege gefunden werden.

Diese Arbeit befasst sich deshalb mit Untersuchungen zum Einsatz von Lasertechnologie in drei unterschiedlichen Bereichen der Pflanzenproduktion. Die Motivation zum Einsatz von Laserstrahlung ist vor allem die Möglichkeit zu einer in seiner Wirkung dosierbaren und örtlich präzisen Applikation. Die Wirkung beruht dabei auf physikalischen (meist thermischen) Vorgängen ohne Belastung der unbestrahlten Umgebung. Dies kommt einer ökologisch motivierten, hochintensiven Pflanzenproduktion mit nur selektiven Produktionseingriffen zugute.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit behandelt die selektive Bekämpfung von juvenilen Unkrautpflanzen mittels bildgestützter Laserbestrahlung. Aus Parameterstudien wurden Schädigungsmodelle für mono- und dikotyle Unkrautarten entwickelt. Die Schädigung der Unkrautpflanzen folgte dabei der thermischen Wirkung der Laserbestrahlung auf das sensible, apikale Sprossmeristem. Mithilfe der Modelle war die Entwicklung eines Applikationssystems möglich. Dazu wurde die Laserstrahlsteuerung mit Bildverarbeitungsalgorithmen kombiniert. Bei einer Zielgenauigkeit  $< 2$  mm ergab sich ein Unkrautdichte-Applikationsgrenzwert ( $> 95$  % aller Unkrautpflanzen getroffen) von 200 Pflanzen  $m^{-2}$ .

Der zweite Teil befasst sich mit der Bekämpfung von Blattläusen mittels Laserbestrahlung bei Schonung der Wirtspflanzen. Auf Basis von ermittelten diffusen Reflexionsspektren wurden optimal nutzbare Laserwellenlängen im Bereich von 750 bis 1200 nm bestimmt. Auch bei suboptimalen Laserwellenlängen konnten die Pflanzenschädlinge dosisabhängig letal geschädigt werden.

Der dritte Teil behandelt die individuelle Direktmarkierung von Pflanzen und Pflanzenprodukten mittels Laserstrahlung. Nach einer Bestimmung des Einflusses von Laserparametern und Mustervarianten auf den Markierungserfolg wurden unmittelbare und mittelbare Produktschäden untersucht. Dabei wurde ermittelt, dass das pilzliche Infektionsrisiko bei Rhododendron bei Markierungen mit Laserleistungen bis 2 W ( $CO_2$ -Laser, 10.600 nm) nicht signifikant erhöht war. Mithilfe eines entwickelten, bildgestützten Erkennungsalgorithmus konnten die oberflächlichen Lasermarkierungen re-identifiziert werden.

**Schlagnworte:** Lasertechnik, Unkrautbekämpfung, Schädlingsbekämpfung, Produktmarkierung, Parameterstudien



## Abstract

### Investigations into the usage of laser technology in plant production

In horticultural production a trend from conventional over specific to selective treatment of plants and plant products has emerged. This results in cultivation measures on demand (e.g. fertilization) as well as in an individual product inspection (e.g. sorting) during processing. Related measures are targeted ultimately on enhancing product quality and product safety. Therefore an increase of the technical automation is needed on the one hand to gather a huge amount of possible plant parameters, and on the other hand to contemporarily and precisely implement selective measures. Innovative solutions have to be developed since conventional techniques can only be used in a limited way.

The present thesis deals with investigations on the application of laser technology for three different areas of plant production. The motivation for the use of laser radiation is especially the possibility to use an easily dosed and spatial precise application of energy. The impact of the laser radiation is based on physical (mostly thermal) processes without any load on the non-irradiated surroundings. This will benefit any ecological horticultural production system with only selective interventions.

The first part of this thesis is about the selective control of juvenile weeds using image-guided laser irradiation. Damage models for mono- and dicots were derived from parameter studies. The weed damage followed the thermal effect of laser irradiation on the sensible apical meristem. The models were used to develop an application system where the laser beam control was combined with image processing. At a targeting accuracy of less than 2 mm the application limit value (more than 95 % of all weeds encountered) with regard to the weed density was 200 plants m<sup>-2</sup>.

The second part focuses on the control of aphids using laser irradiation while sparing the host plants. On the basis of evaluated diffuse reflection spectra the optimally usable laser wavelength range about 750 to 1200 nm was determined. Even with suboptimal laser wavelengths the pests were lethally damaged according to dose-response relationships.

The third part deals with the individual and direct marking of plants and plant products using laser irradiation. Direct and indirect product damages were investigated after the determination of the influence of laser parameters and various patterns on the marking success. The fungal infection risk of laser marked rhododendron was not significantly increased at laser powers of up to 2 W (CO<sub>2</sub>-laser, 10600 nm). The superficial laser markings could be re-identified using a developed image processing algorithm.

**Keywords:** laser application, weed control, pest control, product marking, parameter studies

Für Alexandra, Tilda und Janus.

Für meine Familie.

## Inhaltsverzeichnis

<b>Vorwort</b> .....	<b>I</b>
<b>Kurzfassung</b> .....	<b>II</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>III</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Lasertechnologie</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Lasersicherheit</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3 Industrielle Laseranwendungen</b> .....	<b>2</b>
<b>1.4 Übertragbarkeit industrieller Laseranwendungen</b> .....	<b>3</b>
<b>2 Übergeordnete Zielsetzung zum Einsatz von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion</b> .....	<b>4</b>
<b>3 Untersuchungen zur letalen Laserlichtwirkung auf juvenile Pflanzen am Beispiel Unkrautbekämpfung</b> .....	<b>5</b>
<b>3.1 Einleitung und Stand des Wissens</b> .....	<b>5</b>
3.1.1 Chemische, mechanische und thermische Unkrautbekämpfung .....	5
3.1.2 Unkrautbekämpfung mittels Laserstrahlung .....	7
<b>3.2 Zielsetzung</b> .....	<b>10</b>
<b>3.3 Material und Methoden</b> .....	<b>10</b>
3.3.1 Unkraut- und Modellpflanzen.....	10
3.3.2 Lasersysteme und Laserbestrahlungsversuche.....	13
3.3.3 Auswertung laserbestrahlter Pflanzen.....	14
3.3.4 Entwicklung eines Schädigungsmodells.....	16
3.3.5 Einsatz von Bildverarbeitung zur Bestimmung von Zielpositionen.....	18
3.3.6 Entwicklung eines Testsystems und eines Prototypen .....	21
<b>3.4 Ergebnisse</b> .....	<b>24</b>
3.4.1 Wachstum von Unkrautpflanzen ohne Laserbestrahlung .....	24
3.4.2 Schädigung von Unkrautpflanzen durch Laserbestrahlung .....	25
3.4.3 Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Unkrautpflanzen.....	34
3.4.4 Einsatz von Bildverarbeitung zur Bestimmung von Zielpositionen.....	41
3.4.5 Einsatz des Testsystems und des Prototypen .....	44
<b>3.5 Diskussion</b> .....	<b>50</b>
3.5.1 Eignung des Pflanzenmaterials .....	50
3.5.2 Beurteilung der Schädigung von Unkrautpflanzen durch Laserbestrahlung .....	51
3.5.3 Bewertung der Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Unkrautpflanzen.....	59
3.5.4 Verwendbarkeit der Bildverarbeitung zur Bestimmung von Zielpositionen .....	59
3.5.5 Eignung des Testsystems und des Prototypen.....	60
3.5.6 Energetischer Vergleich der thermisch wirkenden Unkrautbekämpfung .....	63
<b>3.6 Schlussfolgerung und Ausblick</b> .....	<b>64</b>

<b>4</b>	<b>Untersuchungen zur letalen Laserlichtwirkung auf Pflanzenschädlinge am Beispiel Blattläuse ..</b>	<b>65</b>
<b>4.1</b>	<b>Einleitung und Stand des Wissens .....</b>	<b>65</b>
4.1.1	Chemische, biotechnologische und biologische Schädlingsbekämpfung .....	65
4.1.2	Schädlingsbekämpfung mittels Laserstrahlung .....	66
<b>4.2</b>	<b>Zielsetzung .....</b>	<b>68</b>
<b>4.3</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>68</b>
4.3.1	Pflanzenschädlinge und Wirtspflanzen.....	68
4.3.2	Lasersysteme und Laserbestrahlungsversuche.....	71
4.3.3	Auswertung der Laserbestrahlungen.....	73
<b>4.4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>73</b>
4.4.1	Spektrale Eigenschaften von Blattläusen.....	73
4.4.2	Schädigung von Wirtspflanzen und Blattläusen durch Laserbestrahlung .....	75
4.4.3	Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Blattläusen.....	77
<b>4.5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>80</b>
4.5.1	Analyse der spektralen Eigenschaften von Blattläusen .....	80
4.5.2	Beurteilung der Schädigung von Blattläusen durch Laserbestrahlung .....	81
4.5.3	Bewertung der Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Schädlingen .....	83
<b>4.6</b>	<b>Schlussfolgerung und Ausblick .....</b>	<b>88</b>
<b>5</b>	<b>Untersuchungen zur nicht-letalen Laserlichtwirkung auf Pflanzen am Beispiel</b>	
	<b>Produktmarkierung .....</b>	<b>89</b>
<b>5.1</b>	<b>Einleitung und Stand des Wissens .....</b>	<b>89</b>
5.1.1	Indirekte und direkte Produktmarkierungen .....	89
5.1.2	Produktmarkierung mittels Laserstrahlung .....	90
<b>5.2</b>	<b>Zielsetzung .....</b>	<b>95</b>
<b>5.3</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>95</b>
5.3.1	Pflanzen und Pflanzenprodukte.....	95
5.3.2	Lasersysteme und Lasermarkierungsversuche .....	96
5.3.3	Markierungsmuster und Mustervariationen .....	97
5.3.4	Methoden zur Bewertung von Produktschäden.....	98
5.3.5	Entwicklung von Bildverarbeitungsalgorithmen .....	100
<b>5.4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>102</b>
5.4.1	Einfluss von Lasersystemparametern auf Pflanzenmarkierungen.....	102
5.4.2	Einfluss und Optimierung von Mustervarianten auf Pflanzenmarkierungen .....	105
5.4.3	Produktschäden durch Lasermarkierungen.....	107
5.4.4	Erkennung der Markierungsmuster mit Bildverarbeitungsalgorithmen .....	112
<b>5.5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>116</b>
5.5.1	Bewertung der Einflussgrößen auf den Erfolg einer Lasermarkierung.....	116
5.5.2	Bewertung der entwickelten Bildverarbeitungsalgorithmen .....	125
5.5.3	Potentielle Anwendungen codierter Lasermarkierungen.....	130
<b>5.6</b>	<b>Schlussfolgerung und Ausblick .....</b>	<b>132</b>

---

<b>6</b>	<b>Fazit zum Einsatz von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion.....</b>	<b>134</b>
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>136</b>
<b>8</b>	<b>Summary.....</b>	<b>138</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>140</b>
<b>10</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>141</b>
<b>10.1</b>	<b>Anmerkungen zur Lasersicherheit .....</b>	<b>141</b>
<b>10.2</b>	<b>Programmcode zur Erkennung von Lasermarkierungen auf Pflanzen .....</b>	<b>144</b>
<b>10.3</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>152</b>
	<b>Curriculum Vitae .....</b>	<b>161</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AMARE	<i>Amaranthus retroflexus</i> – zurückgebogener Amaranth
ArbSchG	Arbeitsschutzgesetz (Fundstellennachweis: 805-3)
BBCH-Code	morphologisches Entwicklungsstadium einer Pflanze laut Vereinigung Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie
BGV B2	Berufsgenossenschaftliche Vorschrift für Sicherheit und Gesundheit bei der Arbeit, Unfallverhütungsvorschrift Laserstrahlung
BetrSichV	Betriebssicherheitsverordnung (Fundstellennachweis: 805-3-9)
BetrVG	Betriebsverfassungsgesetz (Fundstellennachweis: 801-7)
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin, Deutschland
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Bonn, Deutschland
bspw.	beispielsweise
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Braunschweig, Deutschland
bzw.	beziehungsweise
CIRAR	<i>Cirsium arvense</i> – Acker-Kratzdistel
CNC	<i>Computerized Numerical Control</i> (Methode zur Steuerung von Werkzeugmaschinen)
cw	<i>continuous wave</i> (Dauerstrichbetrieb eines Lasers)
d	Laser-Fokusbereich (mm)
d.h.	das heißt
DIN	Standard des Deutschen Instituts für Normung
DIN EN ISO	Deutsche Norm auf Grundlage einer europäischen Norm, die auf einer internationalen Norm beruht
DPSS	<i>Diode Pumped Solid State-Laser</i> (diodengepumpter Festkörperlaser)
ECHCG	<i>Echinochloa crus-galli</i> – gemeine Hühnerhirse
ED <sub>10</sub>	Dosis, bei der eine Veränderung der behandelten Objekte von 10 % gegenüber einer Kontrollgruppe auftritt
ED <sub>90</sub>	Dosis, bei der eine Veränderung der behandelten Objekte von 90 % gegenüber einer Kontrollgruppe auftritt
EN	Europäische Norm
ESEM	<i>Environmental Scanning Electron Microscope</i> (Niedervakuum REM)
etc.	<i>et cetera</i> – und so weiter
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
GefStoffV	Gefahrstoffverordnung (Fundstellennachweis: 8053-6-34)
HP-LED	<i>High Power Light-Emitting Diode</i> (Hochleistungs-LED)

$\eta$	Laser-Wirkungsgrad (%) mit den Indizes $\eta_{\text{gesamt}}$ : Gesamtwirkungsgrad, $\eta_{\text{w}}$ : Wirkungsgrad gemessen an der spektralen Absorption, $\eta_{\text{eo}}$ : elektro-optischer Wirkungsgrad des Lasersystems
ISO	Internationale Organisation für Normung
JKI	Julius-Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland
$\lambda$	Laser-Wellenlänge (nm)
LASER (auch Laser)	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i> (Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung)
LD <sub>10</sub>	Dosis, bei der 10 % der behandelten Objekte letal geschädigt werden
LD <sub>90</sub>	Dosis, bei der 90 % der behandelten Objekte letal geschädigt werden
LED	<i>Light-Emitting Diode</i> (Licht-emittierende Diode)
M <sup>2</sup>	Beugungsmaßzahl, $M^2 = \frac{\pi \cdot \text{SPP}}{\lambda}$
MIR	mittleres Infrarot, 3.000...50.000 nm Wellenlänge
Nd:YAG	Neodym-dotiertes Yttrium-Aluminium-Granat
NICTA	<i>Nicotiana tabacum</i> – virginischer Tabak
NIR	nahes Infrarot, 780...3.000 nm Wellenlänge
OStrV	Arbeitsschutzverordnung zu künstlicher optischer Strahlung (Fundstellennachweis: 805-3-12)
P	mittlere, maximale Laser-Ausgangsleistung (W)
PMMA	Polymethylmethacrylat (thermoplastischer Kunststoff)
PVD	<i>Physical Vapour Deposition</i> (physikalische Dampfphasenabscheidung)
RMSE	<i>Root Mean Squared Error</i> (RMSE = $\sqrt{\frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n (\hat{Y}_i - Y_i)^2}$ , mit n: Fallzahl, $\hat{Y}$ : vorhergesagte Modellwerte, Y: Messwerte)
SGB VII	Sozialgesetzbuch Siebtes Buch (Fundstellennachweis: 860-7)
SHG	<i>Second Harmonic Generation</i> (Frequenzverdopplung bei Strahlungsdurchgang durch ein nichtlineares Medium)
SEM	<i>Standard Error of the Mean</i> (SEM = $\frac{s}{\sqrt{n}}$ , mit s: Standardabweichung $s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$ und n: Fallzahl)
SPP	Strahlparameterprodukt (mm mrad), Qualität eines Laserstrahls
TROS Laser	Technische Regel zur OStrV
u.a.	unter anderen
UBA	Umweltbundesamt, Dessau, Deutschland
UV	ultraviolettes Licht, 10...380 nm Wellenlänge
VIS	sichtbares Licht, 380...780 nm Wellenlänge
v.l.n.r.	von links nach rechts





# 1 Einleitung

## 1.1 Lasertechnologie

Seit mehr als 50 Jahren werden Laserstrahlsysteme entwickelt und deren Einsatzmöglichkeiten erforscht. Die Anwendungsmöglichkeiten der in einem Laserstrahl gebündelten Photonenenergie scheinen dabei aufgrund der besonderen und manipulierbaren Eigenschaften unbegrenzt zu sein. Laserstrahlung wird durch eine direkte oder indirekte Anregung (optisches Pumpen mit elektrischer Energie) eines laseraktiven Mediums erzeugt, das mittels des physikalischen Phänomens der Besetzungsinversion Photonen einer materialabhängigen Wellenlänge emittiert (Eichler & Eichler, 2010). In einem Resonator wird die gewünschte Ausbreitungsrichtung bevorzugt verstärkt und über halbdurchlässige elektro-optische Elemente (bspw. Spiegel) ausgekoppelt. Laserstrahlung zeichnet sich durch eine monochrome Wellenlänge sowie Kohärenz und lineare bzw. zirkulare Polarisation aus. Ihre Divergenz ist zudem gering. Die Qualität einer Laserstrahlung wird durch die resonatorabhängige Mode (longitudinal und transversal) und das Strahlparameterprodukt (halber Öffnungswinkel im Fernfeld multipliziert mit dem halben Strahldurchmesser im Fokus, Einheit: mm mrad) bestimmt. In Abhängigkeit der Laserstrahlquelle können Laser im Dauerstrich (cw) und im Pulsbetrieb eingesetzt werden, wobei sich je nach Bearbeitungsaufgabe und der verarbeiteten Werkstoffe unterschiedliche Vorteile bieten. Es werden Gas-, Festkörper-, Faser-, Dioden- und Farbstofflaser unterschieden. Die verfügbaren Wellenlängen liegen derzeit im Bereich zwischen 150 nm und 570  $\mu\text{m}$ . Anwendung finden insbesondere UV-Laser (Excimer), VIS-Laser (Festkörper, Dioden), NIR-Laser (Festkörper, Faser) und MIR-Laser (Gas). Die Laserausgangsleistungen solcher Systeme erreichen derzeit Niveaus bis zu einigen 10 kW bei Rohstrahldurchmessern von bspw. 5 mm, d.h. die Intensität der Laserstrahlung kann tausend- bis zu einigen zehntausendfach höher sein als das Maximum der solaren Globalstrahlung. Dabei sind noch höhere Laserleistungen technisch möglich, jedoch fehlen diesbezüglich Anwendungsgebiete. Der Laser-Wirkungsgrad ist definiert als das Verhältnis zwischen der Laser-Ausgangsleistung und der elektrischen Anschlussleistung einschließlich notwendiger Peripherie-Geräten (Kühlung etc.): Dioden-Laser (< 40 %), Faser-Laser (< 30 %), Festkörper-Laser (< 12 %), Gas-Laser (< 10 %), Excimer-Laser (< 5 %) (Hügel & Graf, 2009). Wichtige Kenngrößen bei der Wahl einer Laserstrahlquelle sind somit (Eichler & Eichler, 2010):

- Lasertyp: aktives Medium (-)
- emittierte Laser-Wellenlänge,  $\lambda$  (nm)
- mittlere Laser-Ausgangsleistung, P (W)
- Betriebsart: Dauerstrich oder Pulsbetrieb (-)
- Laser-Fokussdurchmesser, d (mm)
- Strahlparameterprodukt, SPP (mm mrad)
- Laser-Wirkungsgrad,  $\eta$  (%)
- Pulsenergie,  $E_p$  (J)

Durch die Kombination einer Laserstrahlquelle mit optischen Elementen (bspw. Strahlführung mittels Lichtleitfasern/Spiegeln sowie Linsensystemen zur Fokussierung) sowie Prozess- und Handhabungstechnik (Gasversorgung, Materialtransport) ist mit dem Begriff Lasertechnologie die nutzbare Verwendung von Laserstrahlung für spezielle Anwendungen verbunden. Dabei ist das Prozessverständnis bei der Laserbestrahlung eines Materials oder einer Materialkombination entscheidend.

## 1.2 Lasersicherheit

Der Umgang mit Laserstrahlung birgt generell Gefahren für die unmittelbare Umgebung. Es werden primäre und sekundäre Gefährdungspotenziale unterschieden (OStrV, 2010 und BGV B2, 1997). Das primäre Gefährdungspotenzial stellt die Laserstrahlung selbst dar, wenn der Normalbetrieb gestört ist und Laserstrahlung durch gerichtete oder diffuse Reflexion außerhalb des vorgesehenen Arbeitsbereiches vagabundiert. Das sekundäre Gefährdungspotenzial umfasst einerseits direkte (bauartspezifische) und andererseits indirekte (anwendungsspezifische) Gefährdungen. Bauartspezifische Gefährdungen treten bei Schäden an Gehäusen auf, wodurch direkter Kontakt mit den zur Erzeugung der Laserstrahlung verwendeten Komponenten (elektrische Anschlüsse, Lasergase, etc.) möglich ist. Anwendungsspezifische Gefährdungen sind bei jeder Lasermaterialbearbeitung vorhanden, da in Abhängigkeit der Laserleistung Prozesse wirken, durch die gas- und partikelförmige Nebenprodukte (Feinstäube, Aerosole, etc.) freigesetzt werden. Zur Minderung der Gefährdungen sind verschiedene Sicherheitsmaßnahmen beim Betrieb von Lasersystemen gesetzlich vorgeschrieben. Weitere Aspekte zur Gewährleistung eines sicheren Betriebes von Lasersystemen sind in Abschnitt 10.1 dargestellt und mit Quellenangaben hinterlegt.

## 1.3 Industrielle Laseranwendungen

Mit den besonderen Eigenschaften der Laserstrahlung (wie der geringen Divergenz, der räumlichen und zeitlichen Kohärenz, der monochrom emittierten Wellenlänge sowie der guten Fokussierbarkeit) wird eine präzise, dosierbare und variierbare Bestrahlung ermöglicht. Daraus leiten sich Vorteile bei der Verwendung von Lasertechnologie ab. Die Wirkung der Laserstrahlung auf ein Material ist dabei im Wesentlichen abhängig von der Laserwellenlänge, der Strahlungsintensität und der Bestrahlungsdauer. Beobachtbare Effekte während oder nach einer Laserbestrahlung lassen sich entsprechend auf die gewählten Laserparameter zurückführen, wodurch eine Optimierung der Bearbeitungsprozesse bzw. Messprozeduren möglich ist. Zudem ist die Steuerung der applizierten Energiemenge an die optische Durchlässigkeit der vorhandenen Medien gebunden. Eine flexible Laserstrahlführung mittels Lichtleitfasern oder Spiegeln (auch in so genannten Scannern) ermöglicht eine nahezu beliebige Positionierung der fokussierten Laserenergie im Raum (Eichler & Eichler, 2010). Durch eine entsprechende Steuerung der optischen Handhabungssysteme kann die Fokuslage auch während der Bearbeitung bzw. Messung dreidimensional nachgeführt werden (bspw. mit einem 3-Achsen Laserstrahl-Subsystem Axialscan-50, Raylase AG, Wessling, Deutschland). Die verfügbaren Laserwellenlängen und Strahlungsintensitäten sind dabei nahezu unbegrenzt (Kneubühl & Sigrist, 2008).

Typische Verfahren, in denen sich der Einsatz von aktiver Laserstrahlung durchgesetzt hat, sind: Schweißen, Auftragschweißen, Schneiden, Bohren, Abtragen, Markieren, Rapid Prototyping, Härten und Dispergieren. Die Einsatzgebiete liegen somit in unterschiedlichen Bereichen der Medizintechnik, der Metall-, Kunststoff- und Textilverarbeitung, der Elektro-Industrie, der Weltraumtechnik und der Forschung. Daneben werden die spektralen Eigenschaften von Laserstrahlung weit verbreitet in der Messtechnik genutzt. Einige Anwendungsbeispiele liegen in der Spektroskopie, der Sicherheitstechnik, der Materialanalyse, der Kommunikationstechnik oder der Gravitationsforschung.

Hochpräzise Lasertechnologie hat in ihrer Geschichte stets an Bedeutung zugenommen und erschließt immer weitere Themengebiete (Hügel & Graf, 2009).

Laseranwendungen sind dabei in stationären Maschinen in Produktionsprozessen integriert. Die Positionierung des Laserstrahls auf einem Werkstück oder einem Produkt sowie dessen Handhabung wird durch CNC-gesteuerte Achsbewegungen (auch verstellbare Spiegelsysteme) mit entsprechenden Spannvorrichtungen realisiert. Die Materialführung ist ebenfalls automatisiert, sodass Produktionsprozesse auch bei Berücksichtigung produktindividueller Unterschiede und bei hoher Auslastung mit hoher Produktivität durchgeführt werden können (Hügel & Graf, 2009). Darüber hinaus werden handgeführte Lasersysteme eingesetzt, wenn ein Bauteilmaß zu groß oder die zu bearbeitende Fallzahl zu gering für die Einrüstung eines Produktionsprozesses ist (bspw. bei Reparatur- oder Reinigungsarbeiten, u.a. Clean-Lasersysteme GmbH, Herzogenrath, Deutschland). Autonome Mobilsysteme mit leistungsstarken Lasersystemen sind hingegen nicht bekannt.

## 1.4 Übertragbarkeit industrieller Laseranwendungen

Für die intensive Pflanzenproduktion mit einem hohen Bedarf an ressourcenschonenden und energieeffizienten Verfahren sowie einer Zunahme von Automatisierungstechnik ergeben sich verschiedene Vorteile bei einem Einsatz von Lasertechnologie. Laserstrahlung kann zielgenau und mit angepasster Intensität verwendet werden. Umgebungsbedingungen wie Wind oder Feuchtigkeit haben dabei keinen bzw. nur geringen Einfluss auf die Laserstrahlführung. Die Applikation von Laserstrahlung erfolgt zudem berührungslos, was einerseits die Handhabung von Einzelprodukten vereinfacht und andererseits die Übertragung von Krankheitserregern durch konventionell verwendete Werkzeuge verhindert. Außerdem kann der Einsatz von chemischen Mitteln zur Aufbereitung der Produkte oder zur Reinigung der Handhabungswerkzeuge entfallen. Darüber hinaus sind sensorische und bildgebende Mess- und Analyseverfahren in Kombination mit Lasertechnologie verbreitet, die eine Automatisierung der Produktionsprozesse unterstützen. Dem Effekt von Laserstrahlung auf unterschiedliche Materialien unterliegen Dosis-Wirkungs-Beziehungen mit entsprechend der Intensität und der applizierten Laserenergie zunehmender Wirkung. Bereits bei kleinen Laserleistungen werden hohe Intensitäten in der fokussierten Laserstrahlung erreicht, die somit bei Bestrahlung von Pflanzen nicht als photosynthetisch nutzbare Belichtung verwendbar ist. Dahingegen kann Laserstrahlung zum Fügen von thermoplastischen Materialien und Materialkombinationen eingesetzt werden, wobei z.B. auch Holzwerkstoffe durch Schmelzprozesse verbunden werden können. Bei hohen Intensitäten werden bestrahlte Materialien jedoch durch Sublimieren, Pyrolysieren oder Schmelzschnitten getrennt. Aufgrund der Dosierbarkeit der Laserstrahlenergie können Lasersysteme auch zur gezielten, skalierbaren Oberflächenveränderung und damit zur Markierung von diversen Materialien eingesetzt werden. Die Übertragbarkeit von lasergestützten Prozessen speziell auf den Bereich der Bearbeitung von organischem Material somit in verschiedenen Bereichen gegeben.

## **2 Übergeordnete Zielsetzung zum Einsatz von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion**

Um die Übertragung von Lasertechnologie in die Pflanzenproduktion zu ermöglichen, muss das Verständnis der Wirkung unterschiedlicher Laserstrahlung auf lebendes Pflanzenmaterial erweitert und Einsatzmöglichkeiten mit letaler sowie nicht-letaler Laserbestrahlung bei Bestimmung von angepassten Laserparametern abgeleitet werden. Der selektive und dosierbare Einsatz von Laserstrahlung ist dabei von besonderem Interesse.

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit ist deshalb, an charakteristischen Einsatzbeispielen grundlegende Daten und Kennzahlen des Lasereinsatzes in der Pflanzenproduktion zu erheben und in möglichen Anwendungsbereichen zu bewerten. Die letale Laserlichtwirkung wird dabei am Beispiel der Unkraut- und der Schädlingsbekämpfung untersucht, während die nicht-letale Laserlichtwirkung am Beispiel der Pflanzenmarkierung untersucht wird.

### **3 Untersuchungen zur letalen Laserlichtwirkung auf juvenile Pflanzen am Beispiel Unkrautbekämpfung**

#### **3.1 Einleitung und Stand des Wissens**

##### **3.1.1 Chemische, mechanische und thermische Unkrautbekämpfung**

Die Bekämpfung von Ungras und Unkraut<sup>1</sup> zwischen den Pflanzreihen einer Anbaufläche wird als unproblematisch angesehen, da dieser Bereich für mechanische Verfahren (z.B. Hacken) gut zugänglich ist. Deshalb werden im Folgenden Verfahren zur Bekämpfung von Unkrautpflanzen innerhalb der Pflanzreihe hervorgehoben. Diese Unkrautpflanzen werden meist mit dem Einsatz von Herbiziden bekämpft. Die Applikation ist dabei stark reglementiert (EG 396/2005, PflSchG, KrWG), wobei in Deutschland BMELV, BVL, JKI, BfR und UBA die Aufsicht übernehmen. Herbizide werden verdünnt in Wasser mit Feldspritzen (aktuelle Arbeitsbreiten ca. 54 m laut Herstellerangaben bei der Agritechnica Hannover 2011) ausgebracht (Bayer CropScience, 2012a). Die Herbizide können in unterschiedliche Wirkstoffgruppen unterteilt werden, deren Wirkmechanismus auf eine Hemmung der Photosynthese, des Aminosäurestoffwechsels oder des Fettsäurestoffwechsels bzw. auf die Anregung unkontrollierten Wachstums abzielt (Center for Environmental Risk Assessment, 2010). Das Wirkprinzip basiert letztlich auf einer unterschiedlichen Sensibilität von Kultur- und Unkrautpflanzen. Durch das breite Spektrum an Handelsprodukten (basierend auf ca. 250 Wirkstoffen) wird eine hohe Effektivität im Feldeinsatz erreicht. Der Inlandsabsatz von Herbiziden betrug in 2010 ca. 16.675 t, davon ca. 5.000 t Glyphosat (BMELV, 2011; Deutscher Bundestag, 2011). Aufgrund der hohen Aufwandmengen werden neben der wirksamen Unkrautbekämpfung ökotoxikologische Wirkungen vermutet. Neben einer schädigenden Belastung der Herbizid-Produzenten (Zeljezic & Garaj-Vrhovac, 2001) sowie der Anwender (Grover et al., 1986) bilden sich anbautechnische Probleme heraus. Die Entsorgung von Restmengen ist problematisch, da konzentrierte Einträge in Umweltkompartimente vermieden werden sollten. Denn bereits auf dem Feld sind die Einträge in die Umwelt hoch. Dazu gehören Abdrift (im Obstbau bei max. 10 %, im Getreideanbau ca. 1 %), Verdunstung aufgrund des geringen Dampfdrucks der Herbizide, Erosion mit Bodenpartikeln, Abschwemmung, Auswaschung in tiefe Bodenschichten und Adsorption an Bodenpartikel, wodurch eine kontinuierliche Freisetzung aufgrund langer Halbwertszeiten gegeben ist (LfU Bayern, 2008a; Griffin, 2005; Selim et al., 2000). Daher werden Folgen für unterschiedliche Ökosysteme ausgemacht. Die Verarmung der Flora führt zu einem Rückgang von Nutzinsekten bzw. einem verstärkten Auftreten von Schadinsekten (Katalyse, 2012). Durch Bioakkumulation reichern sich Schadstoffe in höheren Tieren an (LfU Bayern, 2008b), wobei globale Eintragswege dokumentiert sind. Herbizide haben zudem schädigende Wirkung auf einzelne Tierarten, Beispiele sind eine Nervenschädigung bei Fischen (Uyanikgil et al., 2009), Leberschäden bei Ratten (Tayeb et al., 2010) und eine Verweiblichung von Froschmännchen (Spektrum der

---

<sup>1</sup> Im Folgenden werden Ungräser und Unkräuter unter dem Begriff Unkraut zusammengefasst.

Wissenschaft, 2010). Langfristig führt die Applikation von Herbiziden zur Selektion resistenter Unkräuter (Bayer CropScience, 2012b). Ein Überblick über die Langzeitwirkung von Herbiziden ist in einer Studie mit über 700 Quellen zusammengefasst (BEETLE, 2007).

Speziell für den Wirkstoff Glyphosat gab die Deutsche Bundesregierung im Herbst 2011 eine Risikobewertung heraus (Deutscher Bundestag, 2011). Darin wurde auf Grundlage der verfügbaren Quellen (Literatur und Messungen) angeführt, dass das Risiko einer Schädigung des Menschen durch Glyphosat nicht vorhanden ist, weshalb die Zulassung bis Ende 2015 verlängert wurde. Jedoch gelangen Herbizide und ihre Metabolite, wenn auch in schwachen Konzentrationen, weiterhin auf Nicht-Ziel-Flächen, in den Boden und in Gewässer. In Abhängigkeit von der Konzentration wird das Ökosystem gestört. In Deutschland liegen Probemessungen jedoch nahe den Bestimmungsgrenzen. Es wird vermutet, dass sich der globale Wandel des Pflanzenbaus (so z.B. der Einsatz von Totalherbiziden bei genmanipulierten Kulturpflanzen) neben dem lokalen Einfluss auf Pflanzen- und Tierpopulationen auch auf die sozialen Strukturen auswirken wird (NABU, 2011).

Verfahren nach *Precision Farming* Konzepten (Hüter & Klöble, 2007) bieten Ansätze zur Einsparung von Herbiziden, wobei vorwiegend die Aufwandmengen sensorgesteuert reduziert werden. Automatisierte Unkrautkartierungen (Häusler, 2002; Philipp, 2004; Kaspersen, 2010) sind für teilflächenspezifische Applikationen hilfreich. Darüber hinaus sind auch selektive Verfahren entwickelt worden, wobei nach umfangreicher Bildanalyse Herbizide in Gelkügelchen zielgenau ( $\pm 1,5$  cm) appliziert werden (Nieuwenhuizen, 2010; Berge, 2010).

Der Einsatz chemischer Applikationen begründet sich trotz der Umweltbelastungen mit den Applikationsgrenzen alternativer, mechanischer oder thermischer Unkrautbekämpfung. Kern dieser Problemstellung ist, dass die Konkurrenz (um Licht, Raum, Nährstoffe und Wasser) des Unkrauts in unmittelbarer Nähe zur Kulturpflanze am größten ist. Darüber hinaus muss eine Unkrautbekämpfung möglichst früh nach der Keimung erfolgen, da die Kulturpflanzen in dieser Phase besonders gestört werden können. Die verfügbaren, alternativen Unkrautbekämpfungsverfahren basieren jedoch meist auf Unterschieden der Robustheit zwischen Kultur- und Unkrautpflanzen. Bei mechanischen Verfahren (bspw. Fingerhacke) müssen Kulturpflanzen weniger sensibel gegenüber leichten Belastungen sein, z.B. durch einen Wuchsvorsprung. Bei thermischen Bekämpfungsmethoden kann der Wuchsunterschied verschieden ausgeprägt sein. Einerseits können die Kulturpflanzen noch nicht gekeimt sein und sich geschützt im Boden befinden, während die Unkräuter bereits gekeimt und somit für die thermische Bekämpfung (bspw. Abflammen) zugänglich sind. Andererseits können die Kulturpflanzen bereits so weit entwickelt sein, dass sie, im Gegensatz zu den Unkräutern, einer thermischen Belastung standhalten.

Bei den mechanischen Verfahren werden blinde, teilflächenspezifische und teilselktive Verfahren unterschieden. Blinde Verfahren vertrauen auf die Robustheit der Kulturpflanzen während die Reihen mit flexiblen Striegeln, Finger- oder Tellerhacken bearbeitet werden (Kirchhoff, 2001). Bei der teilflächenspezifischen Applikation werden Sensoren eingesetzt, die sowohl die Unkrautdichte analysieren, als auch den Bodenwiderstand während der Fahrt messen. Aus beiden Messgrößen werden mittels Fuzzy-Logik Stellwerte für die Bodenbearbeitungsintensität ermittelt (Rueda Ayala, 2010).

Teils selektive Verfahren reagieren auf den realen Kulturpflanzenabstand und bearbeiten entsprechend nur die Zwischenräume, bspw. mit Querhacken (Gobor, 2007). Kommerziell eingesetzte thermische Verfahren sind bislang auf eine blinde Applikation beschränkt. Es werden Verfahren des Abflammens (Hoffmann, 1989; Bertram, 1996; Astatkie et al., 2007; Raffaelli et al., 2011), der thermischen Bestrahlung mit Mikrowellen (Sartorato et al., 2006) sowie der Heißwasser- (Hansson & Ascard, 2002; Hansson & Mattsson, 2003), Heißschaum- (Huber & Kleisinger, 2006) oder Heißdampf-Applikation (Leon & Ferreira, 2008) eingesetzt. Im Pflanzenanbau müssen auch hier die oben genannten Unterschiede in der Robustheit berücksichtigt werden, da durch eine geringe örtliche Auflösung und erhöhte Wärmeleitung in die unmittelbare Umgebung auch die Kulturpflanzen geschädigt werden können. Idealerweise sollten die Unkräuter daher selektiv erfasst und bekämpft werden.

### 3.1.2 Unkrautbekämpfung mittels Laserstrahlung

Für die in Abschnitt 3.1.1 genannten thermischen Verfahren ist die Anwendbarkeit in der Pflanzreihe begrenzt. Die Verfahren können Schäden an den Kulturpflanzen verursachen, daher ist derzeit die extensive aber nicht-selektive Wärme-Applikation das Hauptproblem thermischer Unkrautbekämpfung. Die Einkopplung thermisch wirksamer Energie mittels fokussierter Laserstrahlung kann somit ein präzises und selektives Verfahren darstellen. Es ist bekannt, dass Strahlung im MIR-Bereich (z.B. Laserstrahlung eines CO<sub>2</sub>-Lasers, 10.600 nm) direkt an der Oberfläche absorbiert wird, wodurch nach Überschreiten bestimmter Strahlungsenergien oberflächige Verbrennungen und eine Zersetzung der Gewebeschichten durch Pyrolyse auftreten (Barcikowski et al., 2006). Im NIR-Bereich (z.B. Laserstrahlung eines Nd:YAG-Lasers (1.064 nm) oder eines Diodenlasers (940 nm)) ist die Absorption an der Oberfläche geringer, gefolgt von einer größeren Eindringtiefe, die zu einer Lignin-Plastifizierung (Haferkamp et al., 2004) und zu inneren Verletzungen führen kann. Laserstrahlung kann daher auch zur Unkrautbekämpfung eingesetzt werden.

Couch und Gangstadt (1974) untersuchten die schädigende Wirkung von Laserstrahlung auf Blattgewebe und schätzten die theoretischen Anwendungsmöglichkeiten der Unkrautbekämpfung ab. Bayramian et al. (1992) konnten keine dauerhaft letale Bekämpfung von Unkräutern in einem Gewächshaus mittels Laserbestrahlung erreichen, obwohl eine wesentliche Wuchsreduktion realisiert wurde. Die Ergebnisse wurden auch auf Freilandbedingungen übertragen (Bayramian et al., 1993). Sato et al. (2000) bestrahlten junge Reispflanzen (*Oryza sativa*) mit unterschiedlichen Laserwellenlängen. Dabei konnten verschiedene Effekte und Dosis-Wirkungs-Abhängigkeiten nachgewiesen werden, die jedoch weder einheitlich noch konsistent waren. Heisel et al. (2001, 2002) führten Versuche zur Bestimmung der wesentlichen Parameter der Laserbestrahlung durch. Sie bestrahlten dünne Stängeldurchmesser von drei Pflanzenarten und ermittelten den Einfluss der applizierten Laserenergie sowie der gewählten Schnittposition. Dabei wurde ein Energiebedarf zur Unkrautbekämpfung in der Pflanzreihe von 225 MJ ha<sup>-1</sup> abgeschätzt. Christensen et al. (2004) entwickelten ein Patent für ein System, das Unkrautpflanzen nach einer optischen Differenzierung mit elektromagnetischer Strahlung bestrahlt. Eine kommerzielle Umsetzung erfolgte bislang nicht. Soriano (2005) entwickelte ein Modell zur Abschätzung der notwendigen Energie zur Laserbestrahlung inner-

halb von Pflanzreihen. Bei einer Unkrautdichte von 100 Pflanzen  $\text{m}^{-2}$  wurde ein Energiebedarf von ca. 51  $\text{MJ ha}^{-1}$  ermittelt. Langner et al. (2006) befassten sich in Laborversuchen mit der lasergestützten Unkrautbekämpfung. Aufgrund einer mangelnden Zielgenauigkeit und dem fortgeschrittenen Alter der untersuchten Unkrautpflanzen wurde eine geringe Effizienz für eine wirksame Behandlung berechnet. Mathiassen et al. (2006) führten Untersuchungen mit einem handgeführten Lasersystem durch. Sie bestrahlten die Meristeme von drei diktotylen Pflanzenarten und ermittelten den Einfluss des Laserstrahldurchmessers ( $\varnothing$  0,9 bis  $\varnothing$  2,4 mm), der Laserwellenlänge (532 und 810 nm) und der Energiedichte ( $0,6 \text{ J mm}^{-2}$  bis  $49,7 \text{ J mm}^{-2}$ ) auf Dosis-Wirkung-Beziehungen. Sie folgerten, dass eine Optimierung der Zielgenauigkeit, der Laserspotgröße und der applizierten Energiedichte die Anwendung der Laserstrahlung verbesserten. Griepentrog et al. (2006) stellten fest, dass eine Temperatursteigerung auf 55 °C durch Laserbestrahlung letal wirkt, da dann Proteine denaturieren. Mit einer vereinfachten Modellierung der thermischen Wirkung in Abhängigkeit der Einzelpflanzenmasse, der notwendigen Temperaturerhöhung sowie einer spezifischen Wärmekapazität von Pflanzenmaterial konnte der Energiebedarf für Laserbestrahlungen im Nahbereich der Kulturpflanzen (5 % einer betrachteten Anbaufläche) mit  $6,6 \text{ MJ ha}^{-1}$  bestimmt werden (weitere Annahmen: Applikation auf die Meristeme bei einem Laserstrahldurchmesser von  $\varnothing$  5,2 mm, einer Laserausgangsleistung von 13 W und einer Unkrautdichte (Zweiblattstadium) von 200 Pflanzen  $\text{m}^{-2}$ ). Zum Vergleich führten Griepentrog et al. deutlich höhere Energiebedarfe beim Abflammen ( $1080 \text{ MJ ha}^{-1}$ ), bei Heißwasser- ( $3400 \text{ MJ ha}^{-1}$ ) und bei Mikrowellen-Applikationen ( $34330 \text{ MJ ha}^{-1}$ ) an. Rosenberg (2006) untersuchte Möglichkeiten der Ansteuerung eines Galvanometer-Scanners mit dem Ziel, einen Laserstrahl auch bei Bewegung des Fahrsystems in ausreichender Dauer auf einer Unkrautpflanze zu platzieren. Der mittlere Vorhersagefehler der Zielposition war bis zu einer Geschwindigkeit von  $0,25 \text{ m s}^{-1}$  (entspricht  $0,9 \text{ km h}^{-1}$ ) stabil bei 0,25 % der Bildgröße und somit abhängig von der Bildauflösung. Bei höheren Geschwindigkeiten stieg der Positionierungsfehler exponentiell an. Zudem untersuchte Rosenberg die erforderliche Wuchshöhenkorrektur mittels Triangulation, um bei jeder Applikation das sensible Meristem anzuvisieren. Iazard (2008) befasste sich wiederum mit Dosis-Wirkung-Beziehungen der lasergestützten Unkrautbekämpfung bei drei Unkrautarten. Er leitete  $\text{ED}_{90}$ -Werte ab und stellte fest, dass geringere Laserenergien bei größeren Spots sowie in Abhängigkeit der Unkrautart notwendig waren (von 17 J bis 80 J pro Pflanze). Laut Iazard passten diese Ergebnisse zu denen von Heisel et al. (2001) und Mathiassen et al. (2006). Nadimi et al. (2009) konstruierten einen Versuchsstand mit Transportbändern, auf denen getopfte Pflanzen unterhalb eines Stereo-Kamera-Systems geführt wurden. Nach bildanalytischer Erkennung der Pflanzen und Berechnung der Zielkoordinaten visierte ein Laser-Galvanometer-Scanner das sensitive Meristem an. Trotz erster Erfolge traten Probleme bei der genauen Zielbestimmung in Kombination mit einer präzisen Laserstrahlpositionierung auf. Gude und Damerow (2011) sowie Gude (2012) erforschten minimale Applikationszeiten bei Verwendung von Hochleistungslasern, um bei hohen Fahrgeschwindigkeiten zu arbeiten. Demnach war der Energieaufwand zur Unkrautbekämpfung zwischen Abflammen und Lasertechnik erst bei einer Unkrautdichte von 500 Pflanzen  $\text{m}^{-2}$  ähnlich. Die Untersuchungen zur Unkrautbekämpfung mittels Laserstrahlung sind anhand der behandelten Pflanzen und der eingesetzten Lasersysteme zusammengefasst (Tab. 3.1, S. 9).



**Tab. 3.1: Überblick zum Einsatz von Lasertechnik zur Unkrautbekämpfung**

λ (nm)	monokotyle Pflanzenarten	dikotyle Pflanzenarten	Literatur	Schwerpunkt
	Acker-Fuchsschwanzgras <i>Alopecurus myosuroides</i> Flug-Hafer <i>Avena fatua</i> Kleine Wasserlinse <i>Lemna minor</i> Weidelgras <i>Lolium perenne</i> Reis <i>Oryza sativa</i> Roggen <i>Secale cereale</i>	Acker-Hundskamille <i>Anthemis arvensis</i> Raps <i>Brassica napus</i> Weißer Gänsefuß <i>Chenopodium album</i> Klatschmohn <i>Papaver rhoeas</i> Schwarzer Nachtschatten <i>Solanum nigrum</i> Acker-Senf <i>Sinapis arvensis</i> Gewöhnliche Vogelmiere <i>Stellaria media</i> Gewöhnlicher Löwenzahn <i>Taraxacum officinale</i> Geruchlose Kamille <i>Tripleurospermum inodorum</i> Gewöhnlicher Feldsalat <i>Valerianaella oleratoria</i> Persischer Ehrenpreis <i>Veronica persica</i>		
532	x	x	Sato et al., 2000	Wirkung
			Mathiassen et al., 2006	Dosis-Wirkung
			Nadimi et al., 2009	Steuerung
650		x	Rosenberg, 2006	Steuerung
810		x	Mathiassen et al., 2006	Dosis-Wirkung
1.064	x		Sato et al., 2000	Wirkung
			Langner et al., 2006	Wirkung
1.070	x	x	Gude & Damerow, 2011	Wirkung
		x	Gude, 2012	Machbarkeit
	x		Couch & Gangstad, 1974	Wirkung
	x	x	Bayramian et al., 1992	Machbarkeit
	x	x	Bayramian et al., 1993	Machbarkeit
	x	x	Heisel et al., 2001	Schneiden
10.600		x	Heisel et al., 2002	Optimierung
		x	Soriano, 2005	Machbarkeit
		x	Griepentrog et al., 2006	Machbarkeit
			Langner et al., 2006	Wirkung
		x	Izard, 2008	Dosis-Wirkung
	x	x	Gude & Damerow, 2011	Wirkung
	x	x	Gude, 2012	Machbarkeit

## 3.2 Zielsetzung

Die Applikation nicht-chemischer Unkrautbekämpfung ist derzeit nur begrenzt möglich, da die Selektivität und Anpassung der Verfahren (mechanisch, thermisch) auf eine einzelne, ungewollte Pflanze unzureichend ist. Die letale Wirksamkeit der Laserstrahlung wurde bereits in der Literatur nachgewiesen. Die Untersuchungen wurden jedoch für einzelne Unkrautarten sowie ausgewählte Laserparameter durchgeführt. Darüber hinaus wurde die Laserstrahlung meist manuell ausgerichtet oder teilweise wie in einem Schneidprozess verwendet.

Daher ist das Ziel der folgenden Untersuchungen, die letale Schädigung des Unkrauts mit unterschiedlichen Lasersystemen und Laserstrahlführungen zu untersuchen sowie die Erkenntnisse in einem Wirkungsmodell für unterschiedliche Pflanzenarten und Wuchsstadien abzubilden. Darauf aufbauend soll ein Verfahren zur Erfassung beliebiger Unkrautszenarios sowie einer bildverarbeitenden Analyse mit Bestimmung von Zielkoordinaten ungewollter Pflanzen entwickelt werden. Dieses soll in der Lage sein, Laserstrahlung hochgenau zu applizieren. Somit soll die notwendige Automatisierung der Unkrautbekämpfung durch Erkennung, Zielanvisierung und Wahl geeigneter Laserparameter erforscht werden.

## 3.3 Material und Methoden

### 3.3.1 Unkraut- und Modellpflanzen

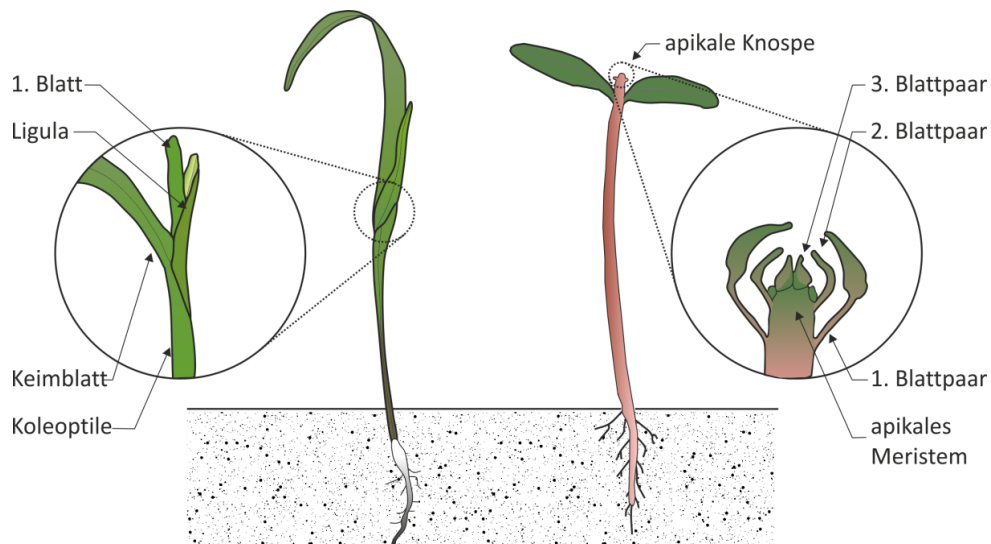
#### Ausgewählte Unkrautarten

Die Wuchsform von Unkrautpflanzen kann generell unterschieden werden in einkeimblättrige (monokotyle) und zweikeimblättrige (dikotyle) Pflanzen. Aufgrund des grundsätzlich unterschiedlichen Wachses (Abb. 3.1, S. 11) wurden ein monokotyles und ein dikotyles Unkraut ausgewählt. Die ausgewählten Pflanzenarten gehören zu wichtigen Unkräutern im Freilandanbau (Klaaßen & Freitag, 2004): monokotyle Gemeine Hühnerhirse (*Echinochloa crus-galli*, ECHCG<sup>2</sup>), dikotyle Zurückgebogener Amaranth (*Amaranthus retroflexus*, AMARE). Für Vergleichsuntersuchungen wurden Tabak (*Nicotiana tabacum*, NICTA) und Acker-Kratzdistel (*Cirsium arvense*, CIRAR) verwendet.

Die wesentlichen Unterschiede zwischen diesen Unkrautpflanzen liegen im Keimverhalten, in der Blattform sowie in der Position des Wuchszentrums (apikales Sprossmeristem, *Abk.*: Meristem). Während das Meristem beim monokotylen Unkraut tief liegt und zudem durch das umhüllende Keimblatt sowie die heranwachsenden Blätter geschützt wird, ist der Wuchs dikotyler Pflanzen als offen zu bezeichnen. Das Meristem befindet sich hier zentrisch und im oberen Bereich zwischen den zwei Keimblättern.

---

<sup>2</sup> Abkürzungen gemäß EPPO-Code (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*, [www.eppo.int](http://www.eppo.int))



**Abb. 3.1: Wuchsverhalten unterschiedlicher Pflanzenarten im Keimlingsstadium: monokotyles ECHCG (links) und dikotyler AMARE (rechts); (Skizze: C. Marx)**

Die weiteren wichtigen Pflanzenorgane in frühen Entwicklungsstadien sind die Wurzel, die Sprossachse und die Keimblätter. Die Wurzeln befinden sich im Boden und sind somit weitestgehend unzugänglich. Die Sprossachse wächst aus dem Boden und richtet sich vertikal aus. Vor dem Hintergrund einer vertikal erfassten Unkrautsituation und entsprechend geführten Applikation der Laserstrahlung ist die Sprossachse für die selektive Zielanvisierung ungeeignet. Die Keimblätter würden sich für eine wirksame Bestrahlung eignen, da der Verlust von Blattfläche im jungen Pflanzenstadium kaum kompensiert werden könnte. Jedoch werden bereits bei zwei und mehr Blättern große Blattflächen gebildet. Eine systemische Wirkung, insbesondere auf die noch zu differenzierenden Pflanzenorgane im Weiterwuchs, wird daher nur bei Bestrahlung des Meristems angenommen. Die Meristeme wurden deshalb zu den Zielobjekten der Laserbestrahlungen.

### **Ausgewählte Wachstumsstadien der Unkrautpflanzen**

Für eine wirksame und effiziente Unkrautbekämpfung mittels Laserstrahlung wurde vermutet, dass insbesondere junge Pflanzen bekämpft werden müssen, da diese sensibler auf Beschädigungen reagieren als ältere, kräftigere Pflanzen, die über mehr Pflanzenmasse und Blattfläche sowie über größere Wurzelstrukturen und eventuelle Speicherorgane verfügen. Auch bei den konventionellen Verfahren (chemisch, mechanisch) sind Unkrautbekämpfungsmaßnahmen nur bis zu einem art-spezifischen Wachstadium mit vertretbarem Aufwand möglich. Behandelbare Wachstadien liegen etwa im Bereich von vierblättrigen Jungpflanzen (BBCH 14, siehe Meier, 2001), je nach Präparat und Aufwandmenge können auch größere Pflanzen (BBCH 29) chemisch bekämpft werden (KTBL, 2009). Somit wurde das Wachstumsstadium als wichtiger Pflanzenparameter identifiziert und die juvenilen Wuchsgrößen Keimling (BBCH 10), 2-blättrige Pflanze (BBCH 12) und 4-blättrige Pflanze (BBCH 14) verwendet. Zur Klassifizierung der Wachstadien wurden die pflanzenspezifischen Parameter Wuchshöhe, Blattfläche in Aufsicht, Frischmasse und Trockenmasse (Trocknung bei 105 °C für 72 h) gemessen. Die Wuchshöhe wurde in der Seitansicht und die Blattfläche in der Aufsicht ermittelt.

### **Kultivierung der Unkrautpflanzen**

Alle Pflanzen wurden aus Samen kultiviert (Herbiseed, Tywford, Großbritannien). Da die Keimfähigkeiten und die Keimdauern unregelmäßig waren, wurde jeweils die doppelte Menge der erforderlichen Pflanzen gesät. Die Samen wurden in kleinvolumigen Multitopflplatten mit einzeln austauschbaren Töpfen (20 ml) gleicher Größe (hergestellt aus geschnittenen Multitopflplatten) in Anzuchtsubstrat (Potgrond P, Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Deutschland) unter gespannter Atmosphäre (Folientunnel) und Zusatzbelichtung (3 · 400 W Natriumdampf-Hochdrucklampen) gekeimt. Mittels der austauschbaren Töpfe wurden einheitliche Pflanzenbestände sortiert und für die Laserbestrahlungen bereitgestellt. Das Kultursubstrat wurde mit einem Fungizid (Previcur® N, 0,25 %ig, Bayer AG, Leverkusen, Deutschland) behandelt, um bodenbürtige Pilzinfektionen zu vermeiden. Schadinsekten wurden mit Gelbtafeln (Gelbe Insekten-Leimtafeln, Aeroxon Insect Control GmbH, Waiblingen, Deutschland) bekämpft. Die Pflanzenschutzmaßnahmen waren erforderlich, um zu gewährleisten, dass der Schädigungseffekt maßgeblich durch die Laserbestrahlung hervorgerufen wurde. Die Gewächshausbedingungen wurden mit Heizungs- (15 °C) und Lüftungs-Sollwerten (22 °C) vorgegeben. Die Wuchsbedingungen wurden protokolliert. Die Pflanzentöpfe wurden regelmäßig gewässert. Eine Zusatzdüngung war nicht erforderlich, da die Pflanzen im Versuchszeitraum keine Mangelercheinungen zeigten.

### **Erfassung von Wuchsmerkmalen der Unkrautpflanzen**

Die Laserapplikation musste sich über die Zielpositionierung hinaus an Bilddaten orientieren, um Laserparameter zur effektiven Bekämpfung zu wählen. Dazu konnten Blattflächenmodelle verwendet werden, die eine Korrelation zur Wuchsgröße erlaubten. Die in Aufsicht sichtbare Blattfläche unterschiedlicher Wuchsgrößen der hauptsächlich verwendeten Pflanzen ECHCG und AMARE wurde daher mit einer Kamera (IXUS 220HS, Canon Inc., Tokio, Japan) erfasst und die Blattflächen mit einem im Bild platzierten Flächenmaßstab berechnet. Zudem wurden die Frischmassen unterschiedlicher Wuchsgrößen gemessen, indem die oberirdischen Pflanzenteile mit einer Schere geerntet und mit einer Feinwaage (AE 240, Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland) gewogen wurden. Die zugehörigen Trockenmassen wurden nach 3 Tagen Lagerung in einem Trockenschrank (105 °C) bestimmt.

### **Spektraluntersuchungen der Unkrautpflanzen**

Vor dem Hintergrund, dass eine schädigende Wirkung einer Laserbestrahlung von realen Pflanzen von der Absorption der Strahlung im Pflanzenmaterial abhängig ist, wurden die Absorptionsspektren von frischen und luftgetrockneten Blattproben aus der Messung von Reflexions- und Transmissionsmessungen im Wellenlängenbereich 250 nm bis 2500 nm berechnet. Die Blätter von *A. retroflexus* wurden dazu eingespannt und in einem Photospektrometer (Lambda 900 UV/VIS/NIR, PerkinElmer Inc., Rodgau, Deutschland) vor bzw. an der Seitenwand einer integrierten Ulbricht-Kugel vermessen. Die Größe des Messstrahls war 15 mm · 8 mm.

Da ein Hauptbestandteil des Pflanzengewebes Wasser ist, wurde zum Vergleich das Absorptionsspektrum von Wasser aus verschiedenen Literaturquellen für den Wellenlängenbereich 200 nm bis 100.000 nm herangezogen (Dawson & Hulburt, 1930; Rusk et al., 1971; Hale & Query, 1973;

Quickenden & Irvin, 1980; Smith & Baker, 1981; Romanov & Shuklin, 1985; Wieliczka et al., 1989; Kou et al., 1993 und Wozniak et al., 2005). Eigene Messungen für flüssiges Wasser waren aufgrund des Fehlens geeigneter Probenhalter nicht durchführbar.

### Herstellung von Modellpflanzen

Fotos der Unkrautpflanzen in Aufsicht wurden genutzt, um Formkonturen der Unkräuter mittels Zeichenprogramm (Corel Draw 10, Corel GmbH, München, Deutschland) zu extrahieren. Diese Konturen wurden an die CNC-Steuerung einer Laserschneidanlage übergeben, wodurch zwei-dimensionale Modellpflanzen aus PMMA gefertigt werden konnten. Zur Imitation der realen Pflanzen wurden die ausgeschnittenen Kunststoffpflanzen mattgrün lackiert (Abb. 3.2). Die so hergestellten Modellpflanzen wurden für die späteren Kalibrierungen und Systemtests genutzt.

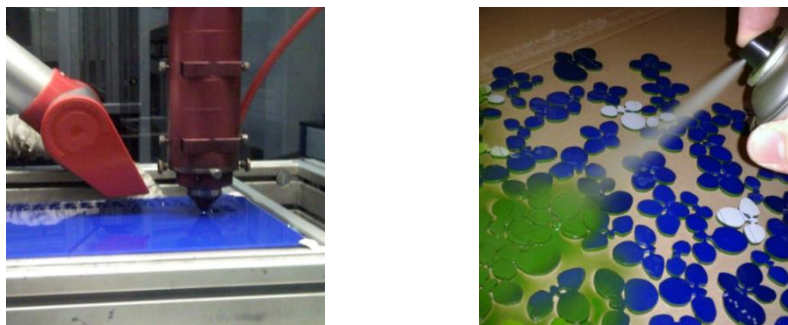


Abb. 3.2: Laserschneiden und Lackieren der Kunststoff-Modellpflanzen (Fotos: C. Bohlius)

## 3.3.2 Lasersysteme und Laserbestrahlungsversuche

### Verwendete Laserstrahlquellen

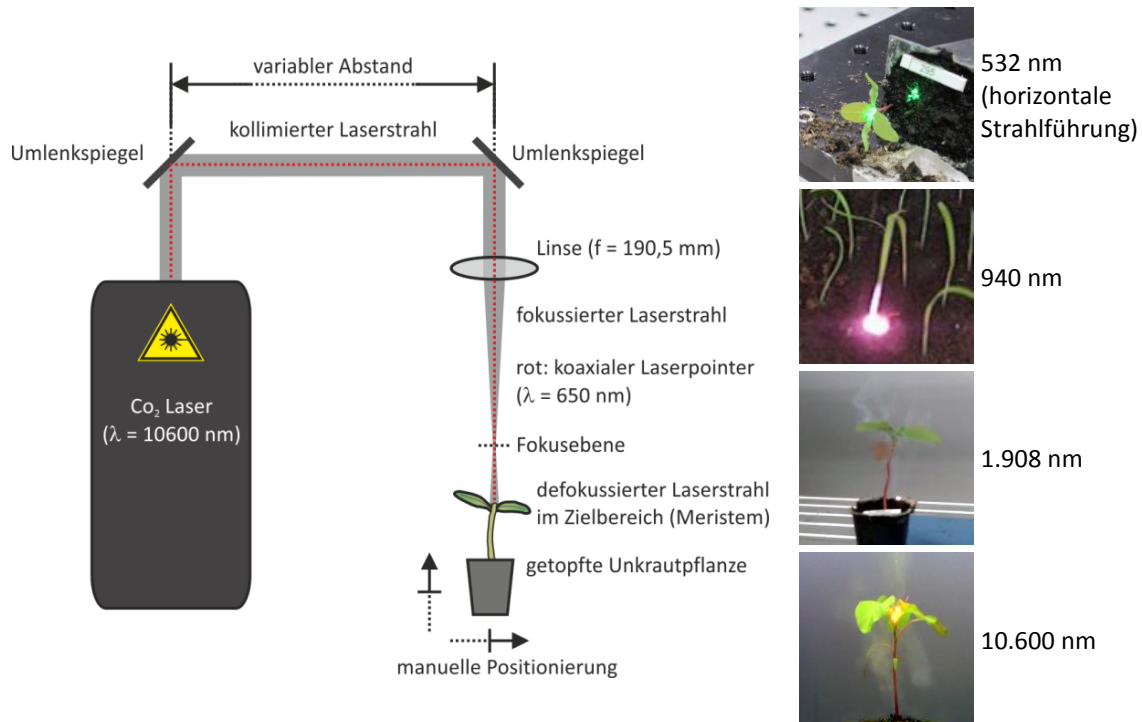
Wie bereits in der Literatur festgestellt (Tab. 3.1, S. 9), hat die verwendete Laserwellenlänge einen wesentlichen Einfluss auf die Wirksamkeit einer Laserbestrahlung auf unterschiedliche Pflanzenarten. Daher wurden verschiedene Laserstrahlquellen zur Bestimmung der Dosis-Wirkungs-Abhängigkeiten verwendet (Tab. 3.2). Entsprechend wurde die Ausgangsleistung der Lasersysteme bei konstanter Bestrahlungsdauer von 0,5 s variiert, wobei verschiedene Laserleistungsmessgeräte (u.a. LM 200 und Fieldmaster, Coherent Inc., Santa Clara, CA, USA) eingesetzt wurden.

Tab. 3.2: Laserstrahlquellen für Bestrahlungsversuche an Unkrautpflanzen (Herstellerangaben)

<b>Hersteller</b>	Coherent Inc.	IPG Photonics Inc.	Laserline GmbH	InnoLas Laser GmbH
<b>Type</b>	Diamond K-500	TLR-50	LDF 600-250	SpitLight DPSS 250
<b>Lasermedium</b>	CO <sub>2</sub>	Tm	InGaAs	Nd:YAG (SHG)
<b>Wellenlänge (nm)</b>	10.600	1.908	940	532
<b>Betriebsart</b>	quasi-cw (5 kHz)	quasi-cw (1 kHz)	cw	gepulst (100 Hz)
<b>max. Leistung (W)</b>	500	50	250	> 125 mJ pro Puls
<b>M<sup>2</sup></b>	< 1,4	< 1,1	< 67,0	< 17,0
<b>Wirkungsgrad (%)</b>	8,0	10,0	20,0	0,5
<b>Fokus <math>\phi</math> (<math>\mu</math>m)</b>	250	25	2.000	6.000 (Rohstrahl)
<b>Kühlung</b>	Wasser	Luft + Wasser	Wasser	Wasser

### Durchführung der Laserbestrahlungsversuche

Die unterschiedlichen Pflanzen wurden manuell im Strahlengang des Lasers positioniert und defokussiert bestrahlt (Abb. 3.3). Da die verwendeten Laserwellenlängen auch im nicht-sichtbaren Bereich lagen, wurden koaxial eingekoppelte Pilotlaser zur Vereinfachung der Positionierung verwendet. Die Größe des Laserstrahldurchmessers auf Höhe der bestrahlten Pflanzenmeristeme wurde durch Einbrände in PMMA und Papier bestimmt. Somit konnte der Durchmesser des Laserspots gezielt über den Abstand zur Fokussieroptik variiert werden.



**Abb. 3.3: Prinzipieller Aufbau (links) und Durchführung (rechts) der Laserbestrahlung von einzelnen Unkrautpflanzen (Aufbauten mit anderen Laserstrahlquellen waren vergleichbar); (Skizze und Fotos: C. Marx)**

In Versuchsreihen mit Variation der Leistungsdichte wurde zunächst der Einfluss der Laserwellenlänge und der eingestrahlten Laserenergie auf die Wachstumsstadien verschiedener Pflanzen getestet. Die Eignung ns-gepulster VIS- (532 nm, SpitLight DPSS 250, InnoLas Laser GmbH, Krailing, Deutschland) und NIR-Laserstrahlung (1.908 nm, TLR-50, IPG Laser GmbH, Burbach, Deutschland) wurde in einfachen Versuchsreihen untersucht (Beschränkung auf Laserstrahlenergie), während mit dem Dioden- und dem CO<sub>2</sub>-Laser (siehe Tab. 3.2, S. 13) umfangreiche Versuchsreihen mit Variation der Laserspottedurchmesser durchgeführt wurden.

### 3.3.3 Auswertung laserbestrahlter Pflanzen

#### Verwendung der Frischmassen

In allen Versuchsreihen wurden die Bestrahlungsergebnisse anhand der erzielten Frischmassen der behandelten Pflanzen im Vergleich zu jeweils unbehandelten Kontrollen nach Weiterkultivierung im

Gewächshaus für 14 Tage nach der Bestrahlung bewertet. Dazu wurden die Frischmassen der einzelnen Pflanzen mithilfe einer Feinwaage (AE 240, Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland) erfasst und Mittelwerte aus 10 Wiederholungen gebildet. Zur Modellierung der angenommenen Dosis-Wirkung-Beziehung wurde das Funktions-Paket *drc* ([www.bioassay.dk](http://www.bioassay.dk)) in der Statistiksoftware R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)) zur logistischen Regression nach einem Modell von Ritz & Streibig (2005) verwendet (siehe auch Wöltjen et al., 2008a), das im Wesentlichen auf der Schätzung der für eine Wirkung effektiven Dosis (ED) beruht.

$$f(x) = \frac{d}{1+e^{(b \cdot (\log(x) - \log(ED_{50})))}} \quad [3.1]$$

mit: x: Laserenergie (J)

d: Mittelwert der Kontrolle (entspricht 100 %)

b: Steigung bei  $x = ED_{50}$

$ED_{50}$ : Laserenergie zur Reduzierung der Frischmassen auf 50 % im Vergleich zur Kontrolle (J)

Mit diesem Modell und dem R-Paket *drc* konnten die weiteren Kenngrößen  $ED_{10}$  und  $ED_{90}$  berechnet werden, die die erforderlichen Laserenergien bis zur Reduzierung der Unkrautfrischmassen um 10 % bzw. um 90 % darstellten.

### Mikroskopische Aufnahmen

Zur qualitativen Auswertung sichtbarer Veränderungen bei laserbestrahlten Unkrautpflanzen wurden eine Mikrokamera (DigiMicro 2.0 Scale, DNT GmbH, Dietzenbach, Deutschland) und ein Rasterelektronenmikroskop (Quanta 400 F, FEI Comp., Hillsboro, USA) verwendet. Die Untersuchungen im Rasterelektronenmikroskop wurden teils im Hochvakuum nach PVD- Goldbeschichtung und teils im Niedervakuum im so genannten ESEM-Modus durchgeführt. Das Probenmaterial wurde dabei auf Objektträgern fixiert und mit Leitsilber kontaktiert.

### Chlorophyllfluoreszenz-Aufnahmen

Zur Untersuchung von sub-letalen und teils nicht-sichtbaren Effekten auf die Vitalität laserbestrahlter Unkrautpflanzen wurde eine Fluoreszenz-Kamera (Open FC 800-O/1010, Photon Systems Instruments spol. s r.o., Brno, Tschechien) eingesetzt. Vor den Aufnahmen wurden die laserbehandelten Pflanzen für zwei Stunden dunkeladaptiert. Mit dem Belichtungs- und Erfassungssystem wurde die Chlorophyllfluoreszenz nach Baker (2008) mit der Grundfluoreszenz ( $F_0$ ) und der maximalen Fluoreszenz ( $F_m$ ) bestimmt. Daraus wurden lokale Vitalitätsunterschiede zwischen bestrahlten und nicht-bestrahlten Pflanzenteilen abgeleitet.

### Thermographische Aufnahmen

Die schädigende Wirkung von Laserstrahlung auf Unkrautpflanzen ist auf die Einkopplung von Energie zurückzuführen, wobei das sensible Pflanzengewebe stark erwärmt wird. Daher wurde als Maß der eingekoppelten Energie die Temperaturzunahme des bestrahlten Pflanzenmaterials in Abhängigkeit der applizierten Laserenergie (Anregung von Molekülschwingungen durch hochintensive

Photonenbestrahlung) untersucht. Da invasive Verfahren, bspw. mit einer Implantation von Thermo- elementen, nur unter hohem Aufwand sowie nicht ohne Beeinflussung der Gewebestruktur und der Wärmeleitung im Pflanzenmaterial verbunden waren, wurde eine nicht-invasive Thermographie verwendet. Dazu wurden eine Thermokamera (SC1000, FLIR Systems Inc., Wilsonville, USA) und die zugehörige Analysesoftware (ThermaCAM™ Researcher 2000, FLIR Systems Inc., Wilsonville, USA) verwendet. Die Kalibrierung der thermographischen Aufnahmen gelang mit einer Präzisionsheizplatte, auf der verschiedene Flächen präpariert waren. Auf einer der Flächen wurde mit Graphit-Spray ein hoher Emissionsgrad erzeugt (Annahme: Emission = 1). Daneben wurde unbehandeltes und mit Graphit-Spray behandeltes Pflanzenblattmaterial angeordnet. Die Thermokamera wurde in einer für die spätere Messsituation ähnliche Ausrichtung und Abstand zum Blattmaterial positioniert. Beim Aufheizen und Abkühlen der Heizplatte bis 40 °C konnte der Emissionsgrad des unbehandelten Pflanzenmaterials bestimmt und die Thermokamera entsprechend kalibriert werden.

Bei den thermographischen Aufnahmen wurde ein CO<sub>2</sub>-Lasersystem (48-5, Synrad Inc., Mukilteo, WA, USA) verwendet. Neben einer stationären Bestrahlung mit unterschiedlichen Laserleistungen (schwache, langandauernde sowie starke, kurzzeitige Bestrahlungen) wurde über einen angeschlossenen Galvanometer-Scanner (SH3-200C, Synrad Inc., Mukilteo, WA, USA) auch der Einfluss einer zirkulierenden Strahlführung (Wobbeln) auf den lokalen Temperaturanstieg untersucht. Während bei der stationären Bestrahlung der Laserstrahl defokussiert auf das Pflanzenmaterial traf, wurde eine entsprechend gleichgroße Fläche beim Wobbeln durch konzentrische Kreisbahnen im Fokusabstand abgedeckt.

### 3.3.4 Entwicklung eines Schädigungsmodells

#### Durchführung von Parameterstudien

Neben den genannten Versuchsreihen wurden mit CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung weiterführende Versuche durchgeführt. Für die Bestrahlung wurden die Pflanzen manuell im Strahlengang des Lasers positioniert (siehe Abb. 3.3, S. 14). Zur Darstellung der lasergestützten Unkrautschädigung in einem Modell wurden verschiedene Pflanzen- und Laserparameter variiert (Tab. 3.3, S. 17).

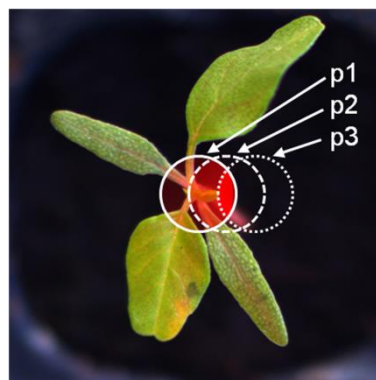
Die Wahl der Parametervariationen begründete sich wie folgt. Mit den verschiedenen Unkrautarten sollte das unterschiedliche Wuchsverhalten und entsprechend die Zugänglichkeit des sensiblen Meristems abgebildet werden. Die Wuchsstadien bestimmten die Pflanzenbiomassen (Spross- und Wurzelwachstum) und somit das Verhältnis des bei einer örtlich begrenzten Laserbestrahlung beeinflussten zu nicht-belasteten Pflanzengewebes. Dabei wurde vermutet, dass ältere Pflanzen robuster gegenüber Laserbestrahlungen sind. Als wesentlicher Faktor für eine wirksame Schädigung der Pflanzen wurde die in das Gewebe eingekoppelte Energie betrachtet. Diese korrelierte im Wesentlichen mit der verwendeten Laserleistung und stand im Zusammenhang mit dem Laserspotdurchmesser und der Laserbestrahlungsdauer. Zur Vereinheitlichung der applizierten Energiemengen über alle Versuchsreihen wurden die Versuche mit verschiedenen Laserenergiedichten durchgeführt.



**Tab. 3.3: Parameterübersicht der Laserbestrahlungsversuche unterschiedlicher Unkrautpflanzen (insgesamt 4320 Einzelbestrahlungen) (Marx et al. 2012d, verändert)**

Unkrautart	u1	<i>Echinochloa crus-galli</i> , ECHCG (monokotyl)
	u2	<i>Amaranthus retroflexus</i> , AMARE (dikotyl)
Wuchsstadium	w1	Keimling (BBCH 10)
	w2	2-Blattstadium (BBCH 12)
	w3	4-Blattstadium (BBCH 14)
Laserwellenlänge	l1	CO <sub>2</sub> Laser, 10.600 nm
Laserenergiedichte	d1	Kontrolle 1 (unbehandelt, Tag 1)
	d2	Kontrolle 2 (unbehandelt, Tag 14)
	d3	0,08 J mm <sup>-2</sup>
	d4	0,31 J mm <sup>-2</sup>
	d5	0,63 J mm <sup>-2</sup>
	d6	1,25 J mm <sup>-2</sup>
	d7	2,50 J mm <sup>-2</sup>
	d8	5,00 J mm <sup>-2</sup>
Laserspotdurchmesser	s1	∅ 3,0 mm (ca. 7 mm <sup>2</sup> Spotfläche)
	s2	∅ 4,2 mm (ca. 14 mm <sup>2</sup> Spotfläche)
	s3	∅ 6,0 mm (ca. 28 mm <sup>2</sup> Spotfläche)
Laserspotposition (siehe Abb. 3.6, S. 19)	p1	zentriert auf dem Meristem
	p2	Versatz auf 49 % Deckungsgrad gegenüber p1 (bei s1: 1,25 mm, bei s2: 1,77 mm, bei s3: 2,50 mm)
	p3	Versatz auf 8 % Deckungsgrad gegenüber p1 (bei s1: 2,50 mm, bei s2: 3,54 mm, bei s3: 5,00 mm)
Laserbestrahlungsdauer	t1	500 ms
Wiederholungen	n	10

Mit Variation des Laserspotdurchmessers wurde der Unterschied zwischen einer lokal/punktuellen und einer flächig/ganzheitlichen Laserbestrahlung untersucht. Drei unterschiedliche Laserspotpositionen sollten Laserapplikationen simulieren, bei denen eine Zielanvisierung fehlerbehaftet wäre. In Relation zum Laserspotdurchmesser wurde entsprechend die Position des Laserstrahlmittelpunkts verschoben, sodass die Abdeckung gegenüber einer zentral am Meristem bestrahlten Fläche verringert wurde (Abb. 3.4).



**Abb. 3.4: Unterschiedliche Positionen eines Laserspots in Relation zu einer zur Position des Pflanzenmeristems zentrierten Bestrahlung (siehe Tab. 3.3); (Foto: C. Marx)**

Die Parameterstudien mussten aufgrund der hohen Anzahl von Einzelpflanzen (jeweils 10 Wiederholungen) und dem Aufwand der manuellen Versuchsdurchführung (individuelle Pflanzenpositionierung, etc.) an mehreren Versuchstagen durchgeführt werden. Zu jeder an einem Versuchstag bearbeiteten Variante (maßgeblich waren die Unkrautart und die Wuchsstadien) wurden 20 unbe-

handelte Kontrollpflanzen mitgeführt. Davon wurden 10 Pflanzen am Tag der Laserbestrahlung und 10 Pflanzen 14 Tage später geerntet und gewogen. Die Frischmassen der laserbestrahlten Pflanzen (14 Tage nach Behandlung) wurden auf den Mittelwert der jeweiligen Kontrollgruppe bezogen. Auf diese Weise konnten allein die Zuwächse nach zweiwöchiger Weiterkultivierung beurteilt werden, während ein Einfluss von gewächshausklimatisch sowie jahreszeitlich bedingten Wuchsunterschieden vernachlässigt werden konnte.

### **Ableitung eines Schädigungsmodells**

Das Schädigungsmodell sollte nur für letale Schädigungen von laserbestrahlten Pflanzen gelten. Daher wurde als dichotome Zielgröße das Verhältnis der 14 Tage nach einer Laserbestrahlung erreichten individuellen Frischmassen gegenüber dem Mittelwert der mitgeführten Kontrollgruppe verwendet. Alle Frischmassenverhältnisse  $\leq 0,1$  wurden auf den Wert 1, alle anderen Frischmasseverhältnisse auf den Wert 0 gesetzt, d.h. erst wenn eine Laserbestrahlung zu einer 90 %igen Wachsminderung gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe führte, wurde der Versuch als letal wirksam betrachtet. Somit konnte die Schädigung mithilfe einer Logit-Funktion unter Annahme einer quasi-binominalen Verteilung beschrieben werden (McCullagh & Nelder, 1989). Darauf aufbauend konnten die Schätzer für eine Schädigung (L) auf einer logarithmischen Skala der Wahrscheinlichkeiten für eine letale ( $p_{\text{letal}}$ ) gegenüber einer nicht-letalen Laserbestrahlung ( $p_{\text{nicht-letal}}$ ) abgebildet werden (Chambers & Hastie, 1992).

### **Validierung des entwickelten Schädigungsmodells**

Alle Bestrahlungsversuche wurden mit 10 Wiederholungen durchgeführt. Mit 6 zufällig gewählten Wiederholungen wurden die Modellparameter berechnet, während die übrigen 4 Wiederholungen zur Validierung der Modellgüte verwendet wurden. Dazu wurden Kreuzvalidierungen mit der Statistiksoftware R (Version 2.12.0, *The R Foundation for Statistical Computing*, [www.r-project.org](http://www.r-project.org)) durchgeführt.

## **3.3.5 Einsatz von Bildverarbeitung zur Bestimmung von Zielpositionen**

### **Kamera- und Computersystem**

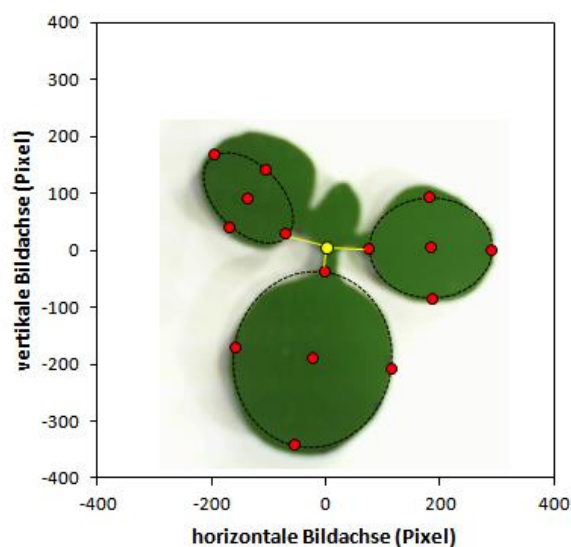
Zur Erfassung der Unkrautsituationen wurde eine USB-Kamera (C910 HD Pro Webcam, Logitech GmbH, München, Deutschland) mit einer Auflösung von  $1920 \cdot 1080$  Pixeln verwendet. Bei einem Abstand von ca. 40 cm zwischen Kamera und Pflanze sowie einer definierten Zusatzbelichtung mittels HP-LEDs (Luxeon Rebel, Philips Lumileds Lighting Comp., San Jose, USA) traten keine abstandsbedingten Schwierigkeiten bei der Erfassung selbst kleiner Unkräuter auf, wie sie etwa bei Philipp (2004) beschrieben wurden. Die Bildverarbeitung wurde mit einem Rechner mit Intel(R) Core™ 2 Duo CPU E 8500 @ 3,16 GHz Prozessor und 3 GB RAM sowie dem Betriebssystem Linux 2.6.38-13 ausgeführt.

### Verwendeter Bildverarbeitungsalgorithmus

Zur bildanalytischen Erkennung von Unkraut sind diverse Untersuchungen mit jeweils eigenen Anwendungsfeldern belegt. Die Auswahl des verwendeten Bildalgorithmus begründete sich daher wie folgt: Für eine Laserstrahlapplikation zur Unkrautbekämpfung ist insbesondere der Nahbereich von Kulturpflanzen und somit die Unkrautproblematik in der Pflanzreihe bedeutend. Hier führt Konkurrenz zwischen benachbarten Pflanzen zu einem verstärkten Streckungswachstum, so dass sich die Pflanzenblätter zunehmend übereinander schieben. Daher war für die Detektion der Unkrautpflanzen ein Bildverarbeitungsalgorithmus erforderlich, der in der Lage war, die sich in 2D-Bildern aus der Aufsicht ergebenden Überlappungen von Pflanzenteilen bei der Lokalisierung einer Einzelpflanze zu berücksichtigen. Ein entsprechender Algorithmus wurde von Pastrana (2012) entwickelt. Mit diesem war die Bestimmung des Pflanzenmittelpunktes und somit der empfindlichen Meristemposition anhand der Verrechnung der Blattstellungen möglich. Die Erkennung von Pflanzen in Überlappungen erfolgte dabei nach folgendem Schema (siehe Pastrana, 2012):

1. Bildaufnahme mit Digitalkamera
2. Bildsegmentierung: Binarisierung mittels Farbschwellenwerten
3. Repräsentation der Form: Fitten von Ellipsen
4. Orientierungspunkte bestimmen: Grundmerkmale der Ellipsen
5. Aufstellung von *Active Shape* Modellen (ASM): 2D Lerndaten, Procrustes-Analyse und Modellbildung nach Hauptkomponenten-Analyse
6. Identifizierung mittels ASM: Blatterkennung und Kombination zu Pflanzen mithilfe der ASM

Der verwendete Bildverarbeitungsalgorithmus basiert auf einem statistischen Modell, mit dem die durch Ellipsen gefitteten Konturen von detektierten Blättern unter Verwendung minimalster Formänderungsenergien den gemittelten Konturen von Testpflanzen (Lerndatensatz) zugeordnet werden (*Active-Shape-Modeling*). Für die verwendeten realen Pflanzen und künstlichen Modellpflanzen wurden anhand von Fotos Lerndatensätze in unterschiedlichen Wachstumsstadien erstellt. Mit dem Ansatz von Pastrana (2012) wurden pflanzenspezifische Landmarks (Abb. 3.5) ermittelt.

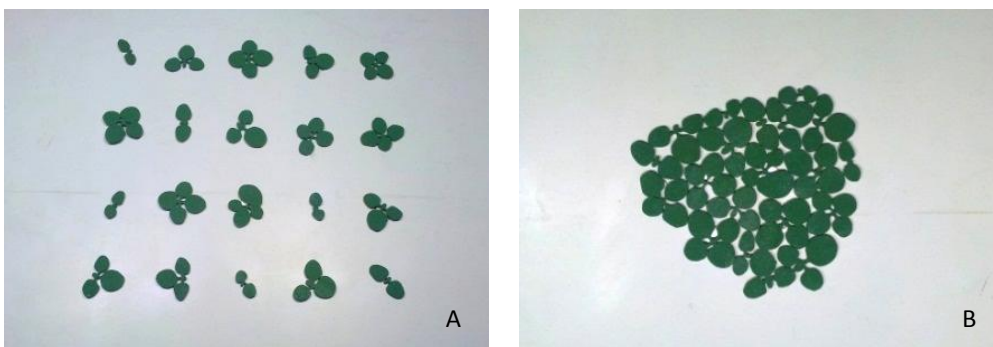


**Abb. 3.5: Beispiel der Bestimmung von pflanzenspezifischen Landmarks anhand der Formkontur einer Modellpflanze mit dem Ansatz von Pastrana (2012); (Bild: C. Marx)**

Mit den Landmarks vieler Pflanzen (Lerndatensätze) wurden charakteristische Eigenvektoren abgeleitet, die entsprechende Pflanzenmodelle nach dem *Active-Shape-Modeling* Ansatz unterstützten und somit eine Re-Identifikation ähnlicher Pflanzen in unbekanntem Situationen ermöglichten. Mithilfe der dann gefitteten Ellipsen wurden die Zielkoordinaten (im Bildmaßstab) am Schwerpunkt der dichtest benachbarten Landmarks bestimmt (Abb. 3.5, S. 19).

### Testszzenarien mit Modellpflanzen

Zur Bestimmung der Erkennungsgüte des Bildverarbeitungsalgorithmus wurden unterschiedliche Unkrautsituationen hergestellt. Da reale Pflanzen für wiederholte Positionierungen nicht geeignet sind und nur unter hohem Aufwand unterschiedliche Unkrautdichten erzeugt werden können, wurden künstliche Modellpflanzen in verschiedenen Anordnungen verwendet (Abb. 3.6).



**Abb. 3.6: Testszzenarien zur Ermittlung von Detektionsraten der verwendeten Bildverarbeitung; A: Pflanzendichte 18 % und B: Pflanzendichte 83 %; (Fotos: C. Bohlius)**

Dabei wurden die Anzahl der Pflanzen sowie die Pflanzendichte variiert. In einer ersten Versuchsreihe wurden die Anzahl (5 bis 31 Stück) und der Abstand zwischen den Modellpflanzen variiert, wohingegen in einer zweiten Versuchsreihe nur der Abstand zwischen 20 verwendeten Modellpflanzen verändert wurde. Die Pflanzendichte wurde als prozentualer Wert des Verhältnisses von Bildpixeln der Modellpflanzen zur Gesamtpixelanzahl in einem umgebenden Polygonzug (Erstellung mithilfe des Bildbearbeitungsprogramms Gimp 2.8) berechnet. Die so ermittelten prozentualen und oberflächenbezogenen Pflanzendichten (von 13 % bis 83 %) konnten unter der Annahme einer gleichmäßigen Verteilung gleichgroßer Pflanzen auf flächenbezogene Pflanzendichten (200 bis 1200 Pflanzen  $m^{-2}$ ) extrapoliert werden<sup>3</sup>. Letztlich wurde die Anzahl der vom Bildverarbeitungsalgorithmus positiv erkannten Pflanzen mit den manuell gezählten Pflanzen abgeglichen.

### Adaption der Bildverarbeitung

Die Unterscheidung zwischen verschiedenen Pflanzen konnte durch die Verwendung einer zur Kulturpflanze passenden Modellform (siehe oben; Pastrana, 2012) gelingen. Bei zuverlässiger Erkennung der Kulturpflanzen würden alle weiteren Pflanzen als Unkraut klassifiziert. Aufgrund des weiten Unkrautspektrums wurden jedoch keine spezifischen, wuchsabhängigen Modellformen angepasst. Neben den manuellen Positionierungen der Pflanzen in den Bestrahlungsversuchen zur Aufstellung

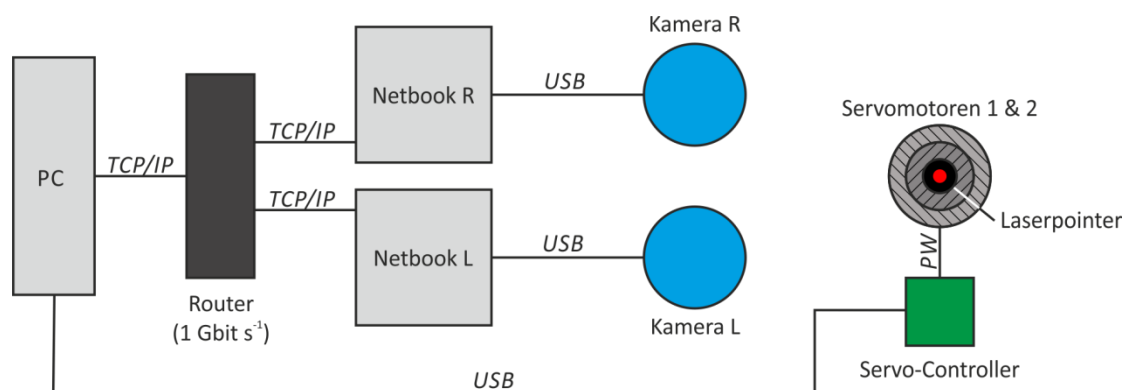
<sup>3</sup> Durch den begrenzten Bildausschnitt in Kombination mit der Kameraauflösung wäre die Aufnahme einer Bilderfolge (Bildmosaik) zur Abdeckung der 1  $m^2$  großen Fläche erforderlich.

des Schädigungsmodells wurde zur Bestimmung der Zielposition im Bild eine vereinfachte Skelettierung der Pflanzenpixel (Eckhardt, 1988) verwendet. Die Pflanzenmittelpunkte wurden in diesem Fall als Schwerpunkte der Einzelskelette ermittelt. Für die vereinfachte Bildverarbeitung wurde die Software Halcon 10 (MVTec Software GmbH, München, Deutschland) verwendet.

### 3.3.6 Entwicklung eines Testsystems und eines Prototypen

#### Testsystem mit sichtbarer, leistungsschwacher Laserstrahlung

Zur Evaluierung der Positionierungsgenauigkeit von Bilderkennung und Lasersteuerung wurde ein Testsystem entwickelt, in dem ein Laserpointer (SML650-01-D, Optlectra GmbH, Feldkirchen, Deutschland) mit einer sichtbaren Lichtwellenlänge von 650 nm (rot) genutzt wurde. Zur Positionierung des Laserstrahls wurden zwei in Reihe verbaute Servomotoren genutzt (HSR-5990TG, Hitec, Bretten, Deutschland), die mittels eines Servo-Controllers (Mini Maestro 12, Polulu Corp., Las Vegas, NV, USA; Software: Maestro Control Center) gesteuert wurden. Die Pflanzendetektion erfolgte mit Hilfe eines Stereokamerasystems (800 · 448 Pixel, LifeCam HD-3000, Microsoft, Redmond, USA), das über Netbooks (EeePC 1015PN, AsusTek Computer Inc., Taipei, Taiwan) vernetzt war (Abb. 3.7).

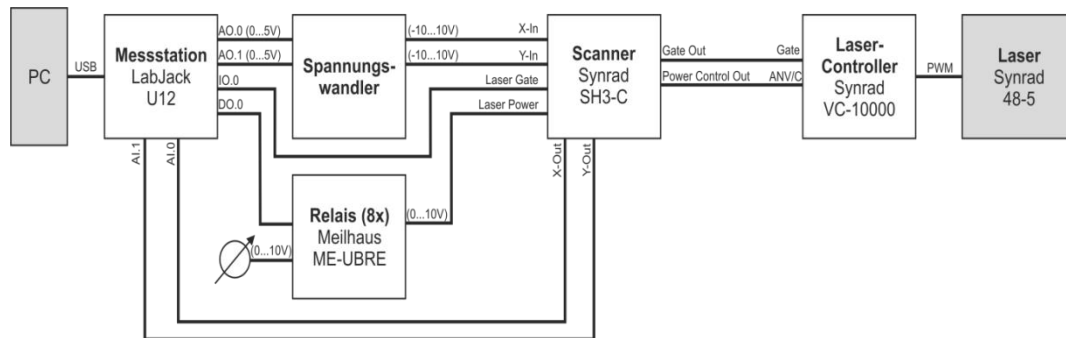


**Abb. 3.7: Schema des Testsystems; TCP/IP: Kommunikation via LAN-Verbindung, USB: direkte Verbindungen, PW: Pulsweiten-modulierte Signale; (Skizze: C. Marx)**

Bei der Konstruktion des Testsystems wurde darauf geachtet, dass sich die Rotationsachse des Servomotors in der Bildachse der verwendeten Kamera befand, um bei der Kalibrierung der Servomotoren im Kamerasichtfeld lediglich einen Achsversatz zu berücksichtigen. Durch die Anordnung der Servomotoren zueinander war eine radialsymmetrische Rasterung in einer zur Kamera parallelen Ebene möglich.

### Prototyp mit unsichtbarer, leistungsstarker Laserstrahlung

Im Prototyp wurde ein leistungsstarker CO<sub>2</sub>-Laser (48-5, Synrad Inc., Mukilteo, WA, USA) mit einer nicht-sichtbaren Laserwellenlänge von 10.600 nm verwendet (Abb. 3.8).



**Abb. 3.8: Schema des Prototyps mit dem entwickelten Steuerungssystem (linke Bildhälfte) und dem Lasersystem (rechte Bildhälfte); (Skizze: C. Marx)**

Der Laserstrahl wurde über einen angeschlossenen Scanner (SH3-C, Synrad Inc., Mukilteo, WA, USA) positioniert. Zur Online-Steuerung von Scanner und Laser war zunächst unter Verwendung von Mess- und Regelsystemen (LabJack U12 (LabJack Corp., Lakewood, CO, USA), Relaismodul ME-UBRE (Meilhaus Electronic GmbH, Puchheim, Deutschland) und einen Spannungswandler) die Entwicklung einer Softwareschnittstelle erforderlich (C++ Routine, Bibliothek *ljacklm.h*). Aufgrund der leitungsbedingt beschränkten Reichweite von USB-Verbindungen wurde zudem eine Client-Server-Verbindung (mittels TCP/IP) zu einem Kontrollrechner hergestellt, um die Möglichkeit einer Entkopplung von Bildverarbeitung und Lasersteuerung zu ermöglichen (WLAN nutzbar). Die Bilderfassung und Bildverarbeitung wurden wie im Testsystem implementiert.

Mit der Programmierung der Softwareschnittstelle konnten die folgenden Parameter an die Lasersteuerung übergeben werden: errechnete Zielkoordinaten gemäß den Bildachsen, Wahl der Laserstrahlführung an der Zielkoordinate (Punktbestrahlung, flächige Bestrahlung in Quadratmuster aus Punkten oder flächige Bestrahlung in Wobbelmuster durch Spiralführung des Laserstrahls), Wahl der Laserleistung und Wahl der Bestrahlungsdauer je Zielkoordinate.

Der Prototyp befand sich auf einem Schienenwagen in einem Gewächshausversuchsstand. Der Schienenwagen wurde dabei in 2 m Höhe über ein offenes Bodenbeet geführt. Während der Kühlwasserbehälter (60 L) für den Laser auf Schienenhöhe gelagert war, wurde das Lasersystem in 40 cm Höhe über der Bodenfläche an einem versteiften Rahmen montiert. Die bereits genannten Peripheriegeräte wurden nahe dem Laser befestigt. Der Schienenwagen wurde über einen Asynchronmotor (MDSKARS071-22, Lenze GmbH, Stuttgart, Deutschland) mit Frequenzumrichter (Lenze Lecom Feldbusmodul 2102 und Software Global Drive) und einen Kettentrieb bewegt. Zur vereinfachten Kontrolle der Bewegung hinsichtlich Fahrgeschwindigkeit und Fahrwege (Stop & Go Modus) sowie zur Einbindung von Positionsendschaltern wurde eine Steuerung mittels LabJack U12 (LabJack Corp., Lakewood, CO, USA) und ProfiLab Expert v4.0 (Abacom Ingenieurgesellschaft, Ganderkesee, Deutschland) entwickelt. Dazu wurden die externen Steuerklemmen des Frequenzumrichters verwendet. Auf diese Weise war eine Kombination der Bewegung des Schienenwagens zur aktuellen Bildanalyse und Lasersteuerung möglich.

### **Kalibrierung des Testsystems und des Prototypen**

Die Kalibrierung des Testsystems erfolgte anhand der Detektion des sichtbaren Laserspots auf einer ebenen Fläche in einem bestimmten Abstand zur Kamera. Dazu wurden die Servomotoren schrittweise angesteuert und die jeweilige Anstellung gespeichert. Diesen Stellwerten wurden die mittels einfacher Schwellwertfilterung auf weißer Fläche detektierten Laserstrahlmittelpunkte zugeordnet. Für eine spätere Applikation auf einen bestimmten Bildpunkt konnte aus dem gewichteten Mittel der umliegenden Kalibrierungspunkte die zugehörigen Stellwerte der Servomotoren abgeleitet werden. Um Diskontinuitäten in der Anstellung der Servomotoren zu vermeiden, war die Ausrichtung des tragenden Servomotors privilegiert. Dabei musste für jeden Abstand zwischen Kamera und der Ebene der Laserstrahlapplikation eine Kalibrierung durchgeführt werden, da die Abbildung des Laserspots auf der betrachteten Fläche durch die radialsymmetrische Positionierung (Anordnung der Servomotoren) abhängig von diesem Abstand war.

Die Kalibrierung des Prototyps erfolgte ähnlich zu der des Testsystems. Da jedoch die hier verwendete Laserwellenlänge nicht sichtbar war, musste der Einbrand eines positionierten Laserstrahls in eine Holztafel genutzt werden. Aus der Korrelation zwischen Stellwerten für den Laserscanner und den Bildpunkten der Einbrände (Pixelkoordinaten) wurde eine Transferfunktion abgeleitet, mit der alle späteren Zielkoordinaten errechnet werden konnten. Die Kalibrierung des Applikationssystems ermöglichte die flächige Bearbeitung in einer Höhenlage.

### **Bestimmung von Applikationsgrenzwerten**

Mit dem Testsystem und dem Prototyp wurden Untersuchungen zur Bestimmung der Positionierungsgenauigkeit durchgeführt. Daraus wurden Applikationsgrenzwerte bezüglich der Unkrautdichte und der Prozessgeschwindigkeit für unterschiedliche Testszenarien mit Modellpflanzen (siehe Abb. 3.6, S. 20) abgeleitet. Bei Variation der Modellpflanzen und deren Platzierung auf einer ebenen Fläche wurde der Bildverarbeitungsalgorithmus hinsichtlich der erkannten und der tatsächlichen Pflanzenpositionen evaluiert sowie die Treffsicherheit (Laserstrahl auf Zielpflanze) bildanalytisch dokumentiert. Der Unkrautdichte-Applikationsgrenzwert war der Wert, bei dem noch 90 % der vorhandenen Pflanzen sicher bestrahlt wurden. Darüber hinaus wurde der Applikationsgrenzwert der Prozessgeschwindigkeit mithilfe der Programmlaufzeiten ab dem Start der Detektion bis zur abgeschlossenen Laserstrahlpositionierung bestimmt. Auch hier wurde der Einfluss der Unkrautdichte untersucht, wobei 20 Modellpflanzen schrittweise dichter positioniert wurden.













### 3.4 Ergebnisse

#### 3.4.1 Wachstum von Unkrautpflanzen ohne Laserbestrahlung

##### Unterschiede der Unkrautarten und Wachstumsstadien

Für die Untersuchungen zur Schädigung von Unkrautpflanzen wurden monokotyles ECHCG und dikotyles AMARE ausgewählt. Für eine effiziente Unkrautbekämpfung mittels Laserbestrahlung wurden die juvenilen Wachstadien Keimling (BBCH 10), 2-Blatt-Stadium (BBCH 12) und 4-Blatt-Stadium (BBCH 14) (Einordnung nach Meier, 2001) untersucht (Tab. 3.4).

**Tab. 3.4: Wachstadien und charakteristische Eigenschaften der untersuchten Unkrautarten; Mittelwerte und Standardfehler (SEM) von je 20 Pflanzen; (Fotos: C. Marx)**

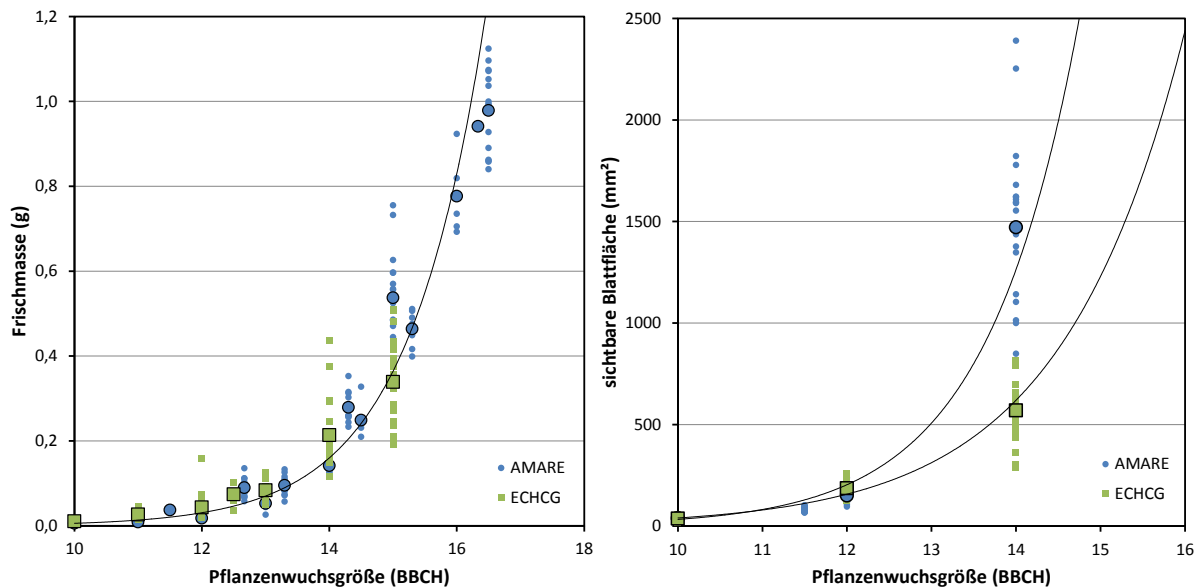
Unkrautart	<i>Echinochloa crus-galli</i> , ECHCG (monokotyl)			<i>Amaranthus retroflexus</i> , AMARE (dikotyl)		
	10	12	14	10	12	14
Wuchsstadium (BBCH)	10	12	14	10	12	14
Foto, Seitansicht (einheitlicher Maßstab)						
Wuchshöhe (mm)	≤ 40	≤ 70	≤ 120	≤ 30	≤ 40	≤ 60
Foto, Aufsicht (einheitlicher Maßstab)						
Blattfläche (mm <sup>2</sup> )	37 ± 2	186 ± 10	570 ± 36	38 ± 2	150 ± 8	1471 ± 97
Frischmasse (mg)	21 ± 5	73 ± 24	214 ± 83	8 ± 3	45 ± 12	170 ± 54
Verhältnis der Trocken- zur Frischmasse (%)	8,2 ± 1,4	8,1 ± 2,2	8,1 ± 1,9	9,0 ± 2,7	10,0 ± 2,4	11,9 ± 2,8

Die Wuchshöhen stiegen bei den monokotylen Pflanzen stärker an als bei den dikotylen Pflanzen (Fotos in Seitansicht). In der Aufsicht zeigte sich, dass die sichtbaren Blattflächen in den Wachstadien bis BBCH 12 noch vergleichbar waren, während im Wachstadium BBCH 14 die dikotylen Pflanzen dreifach größere Blattflächen erreichten. Dahingegen waren die Frischmassen von ECHCG in allen Wachstadien höher als bei AMARE. Während der Anteil der Trockenmasse bei ECHCG bei allen Wachstadien konstant blieb, stieg dieser bei AMARE mit zunehmendem Wachstadium an.

##### Klassifizierung des Unkrautpflanzenwachstums

Für die Frischmassen und Blattflächen wurden für beide Unkrautarten eine exponentielle Zunahme in der juvenilen Wachstumsphase festgestellt (Abb. 3.9, S. 25).





**Abb. 3.9: Exponentielle Zunahme der Frischmasse und der sichtbaren Blattfläche bei AMARE und ECHCG in Abhängigkeit der Wuchsstadien**

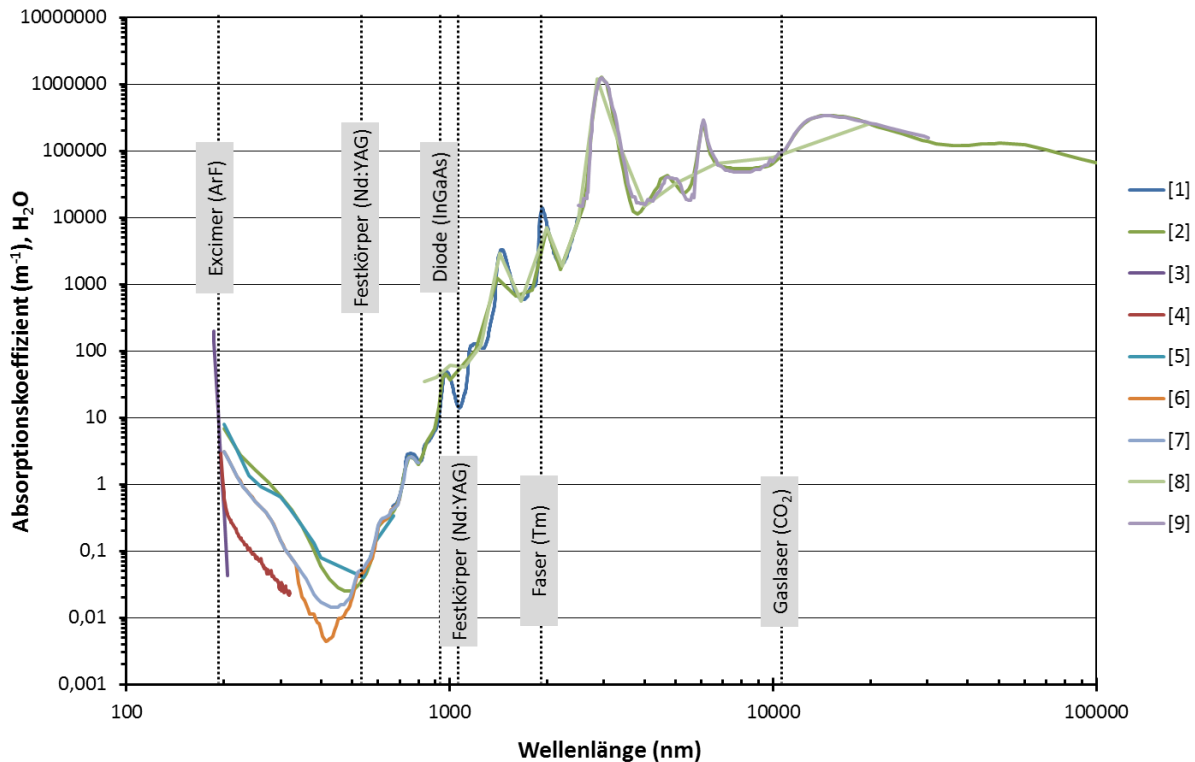
Bei der Entwicklung der Frischmassen ähnelten sich AMARE und ECHCG Pflanzen. Bei der sichtbaren Blattfläche erreichten kleine Pflanzen (BBCH 10) ca. 30 bis 40 mm<sup>2</sup> und etwas größere Pflanzen (BBCH 12) 110 bis 230 mm<sup>2</sup>. Eine Unterscheidung der Pflanzenarten nach der sichtbaren Blattfläche war erst ab BBCH 13 bis 14 möglich. AMARE Pflanzen erreichten in BBCH 14 mit ca. 1.000 bis 1.800 mm<sup>2</sup> deutlich höhere, sichtbare Blattflächen als ECHCG Pflanzen mit ca. 400 bis 730 mm<sup>2</sup>. Der Hintergrund für die relativ hohe Variation der Einzelmessungen sowie der beobachtete Unterschied zwischen AMARE und ECHCG war die unterschiedliche Wuchsform der Pflanzen. Durch den aufrechten Wuchs von ECHCG war in der Aufsicht nur der auf eine Ebene projizierte Teil der Blattfläche sichtbar. Zudem waren tiefliegende Blattebenen leicht verdeckt.

Die Bestimmung der sichtbaren Blattflächen reichte somit nicht zur Unterscheidung der ausgewählten Unkrautarten aus. Jedoch zeigten sich Unterschiede in der Blattfläche bezogen auf die Wuchsstadien. Eine bildanalytische Erfassung der Blattflächen kurz vor der Laserstrahlapplikation konnte daher die Wahl einer angepassten Laserenergie zur wirksamen Schädigung einer Unkrautpflanze unterstützen.

### 3.4.2 Schädigung von Unkrautpflanzen durch Laserbestrahlung

#### Wellenlängenabhängige Absorption in den Unkrautpflanzen

Die Ursache für die Schädigung des Pflanzenmaterials bei Laserbestrahlung war das Absorptionsverhalten. Dabei ist zu berücksichtigen, dass eine wesentliche Komponente von biologischem Material ein hoher Wasseranteil im Gewebe ist. Es lagen bereits verschiedene Untersuchungen des Absorptionsspektrums von Wasser vor (Abb. 3.10, S. 26), wobei sich lokale Unterschiede durch die verwendeten Messmethoden ergaben.



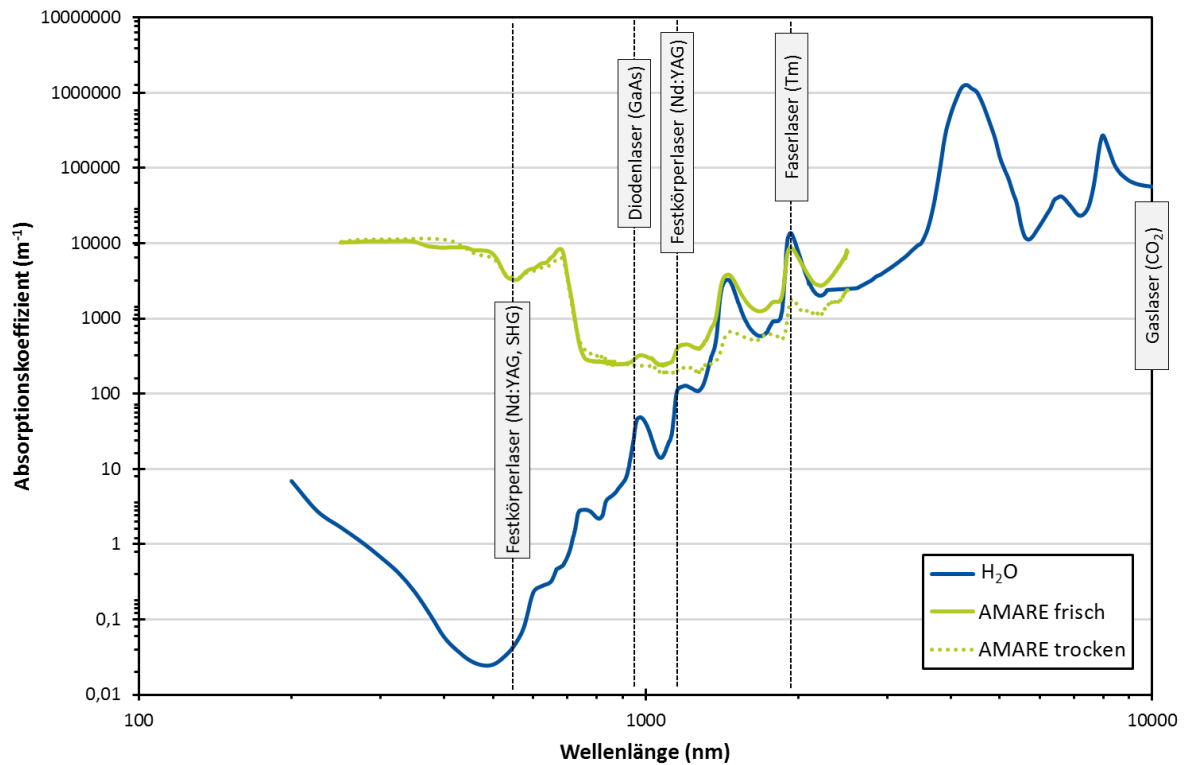
**Abb. 3.10: Wellenlängenabhängige Absorptionskoeffizienten von Wasser**

[1] Kou et al., 1993, [2] Hale & Query, 1973, [3] Romanov & Shuklin, 1985, [4] Quickenden & Irvin, 1980, [5] Dawson & Hulburt, 1930, [6] Wozniak et al., 2005, [7] Smith & Baker, 1981, [8] Wieliczka et al., 1989 und [9] Rusk et al., 1971

Ein gemittelter Verlauf der Absorption bei verschiedenen Wellenlängen zeigte, dass die geringste Absorption im sichtbaren Bereich (400 nm bis 500 nm) liegt, während im UV sowie im NIR und besonders im MIR deutlich höhere Absorptionskoeffizienten erreicht werden. Bezüglich der für die Versuche an Unkrautpflanzen verfügbaren Laserwellenlängen (siehe Tab. 3.2, S. 13) wird die höchste Absorption in Wasser bei CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung erreicht.

Die aus der Messung von Reflexion und Transmission berechneten Absorptionsspektren von Blättern einer dikotylen Pflanze und die für eine Blattdicke von 275 µm ermittelten Absorptionskoeffizienten zeigten eine stark wasserabhängige Absorption im Pflanzenmaterial ab 1250 nm (Abb. 3.11, S. 27).

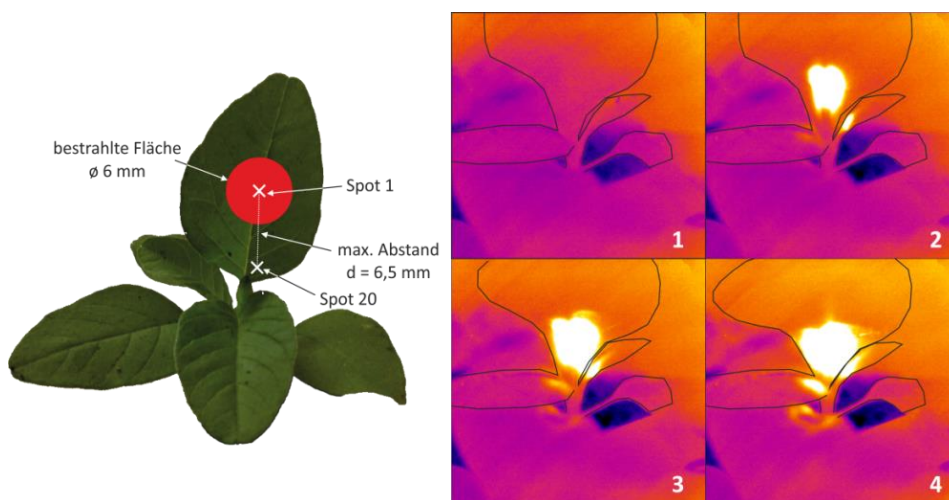
Der Vergleich von frischen und luftgetrockneten Blättern bestätigte die wasserabhängige Absorption. Im Bereich der photosynthetisch aktiven Strahlung (400 nm bis 700 nm) zeigte sich das typische Absorptionsverhalten der in den Photosystemen der Pflanzen aktiven Chlorophylle und Carotinoide mit der Ausprägung der so genannten Grünücke (Spektralbereich zwischen 490 und 620 nm mit geringer Absorption von Chlorophyll a und b). Auch bei Wellenlängen unterhalb von 400 nm überstieg die Absorption im Blattgewebe deutlich die wasserbedingten Werte. Für eine wirksame Bestrahlung von Pflanzenmaterial wurde somit erwartet, dass sich insbesondere langwellige Laserwellenlängen (bspw. 1.908 nm und 10.600 nm) eignen, während Wellenlängen im NIR (940 nm und 1.064 nm) nur gering absorbiert werden.



**Abb. 3.11: Wellenlängenabhängige Absorptionskoeffizienten von frischen und luftgetrockneten *A. retroflexus* Blättern bei einer Blattdicke von 275  $\mu\text{m}$  im Vergleich zu Wasser (siehe Abb. 3.10, S. 26); Mittelwerte aus 3 Berechnungen**

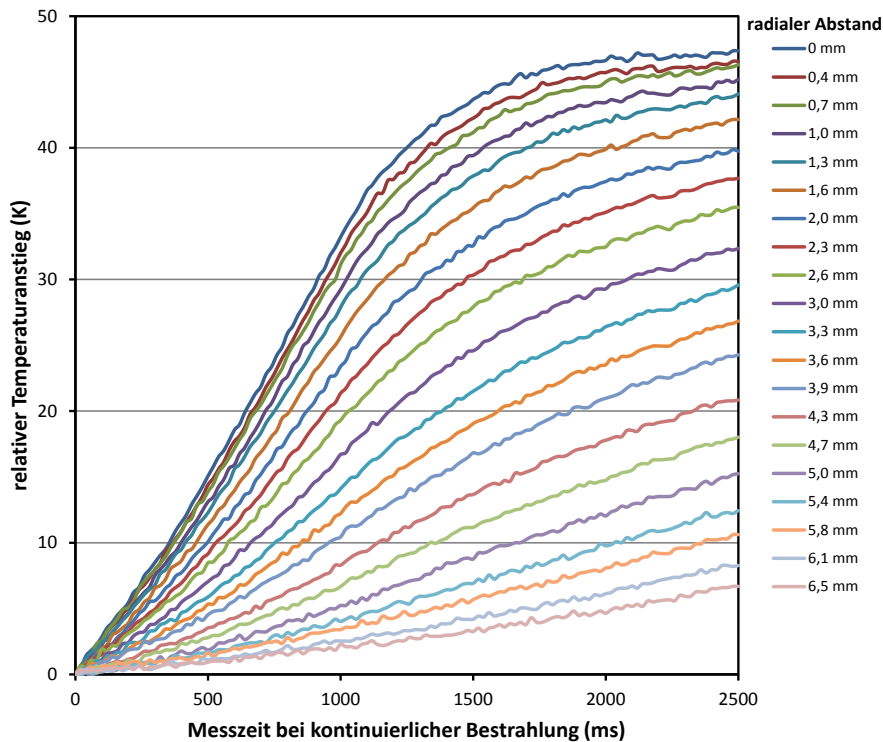
**Temperaturanstieg in Unkrautpflanzen infolge von Energieeinkopplung**

Zur Bestimmung der durch die Laserstrahlung eingekoppelten Energien wurden thermographische Untersuchungen während der Bestrahlung von Unkrautpflanzen durchgeführt. Dabei wurden die zeitlichen Änderungen der Temperaturen an mehreren Messstellen (Spots) radial zum Mittelpunkt einer laserbestrahlten Fläche gemessen (Abb. 3.12).



**Abb. 3.12: Bestrahlungsversuche und thermografische Aufnahmen an Blättern von AMARE links: Markierung von Messpunkten (Spots) zur Auswertung des Temperaturanstiegs; rechts: Laserbestrahlung mit 3 W Laserleistung (1: vor Beginn, 2: nach 5 s, 3: nach 10 s, 4: nach 15 s) (Marx et al. 2012b, verändert)**

Die ermittelten Temperaturanstiege zeigten die Energieeinkopplung in das Pflanzengewebe bei Laserbestrahlung in Abhängigkeit der Bestrahlungsdauer (Abb. 3.13).



**Abb. 3.13: Relativer Temperaturanstieg (thermographische Messung) im Messzeitraum und in relativen Abständen zur Laserspotmitte bei schwacher Laserbestrahlung (CO<sub>2</sub>-Laser, λ = 10.600 nm, Spot ø 6 mm, P = 3 W); (Marx et al. 2012b, verändert)**

Direkt nach dem Beginn der Laserbestrahlung war ein Temperaturanstieg von der Laserspotmitte über einen radialen Abstand von 3 mm, also über den Laserspotdurchmesser hinaus, messbar. In Abhängigkeit der relativen Position zum Mittelpunkt der laserbestrahlten Fläche unterschied sich der Temperaturanstieg über der Messzeit. Es zeichneten sich logistische Funktionen mit limitiertem Maximaltemperaturanstieg in Abhängigkeit des Messortes ab. Für jeden Messort wurde eine logistische Funktion (Grundfunktion [3.2]) mit Microsoft Excel 2013 (Funktion: Solver) geschätzt und die ermittelten Modellparameter wiederum für eine lineare Regression in Abhängigkeit zum radialen Abstand zur Laserspotmitte verwendet.

$$T(x,t) = \frac{a(x)}{1 + b \cdot e^{c(x) \cdot t}} \quad [3.2]$$

mit  $T(x,t)$ : Temperaturanstieg am Messort  $x$  zur Messzeit  $t$   
 $t$ : Messzeit (ms), entspricht der Dauer der Bestrahlung  
 $x$ : Messort (mm), radialer Abstand zur Laserspotmitte  
 $a(x)$ ,  $b$ ,  $c(x)$ : Modellparameter der logistischen Funktionen

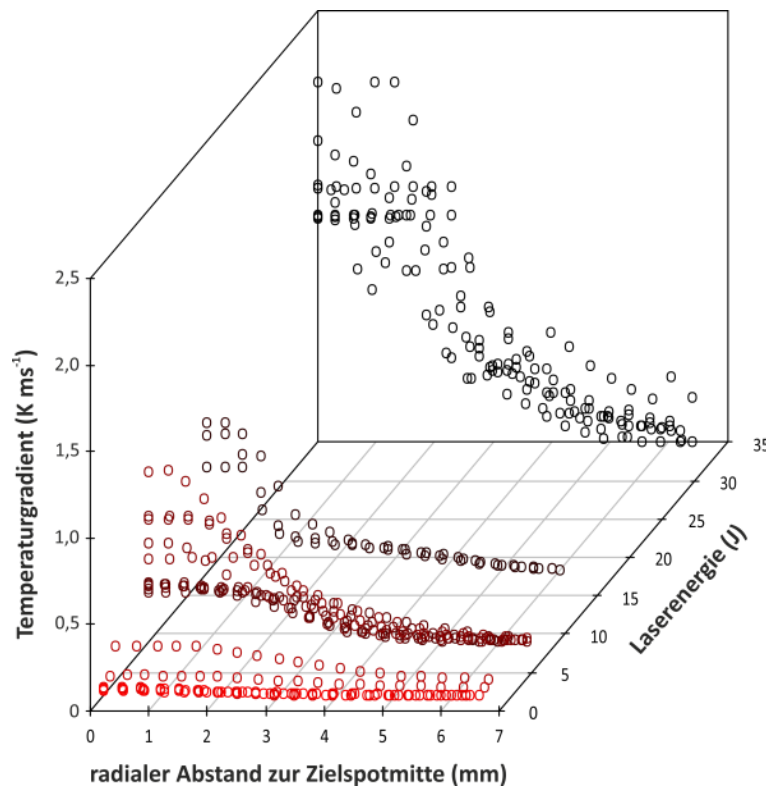
Der zeit- und ortsabhängige Temperaturanstieg bei (schwacher) Laserbestrahlung wurde in linearer Regression mit den oben genannten Parametern verallgemeinert zu:

$$T(x,t) = \frac{-6,6435 \cdot x + 51,218}{1 + 13,5 \cdot e^{(0,0003 \cdot x - 0,0035) \cdot t}} \quad [3.3]$$

Demnach betrug der Temperaturanstieg im Bereich des nahezu linearen Anstiegs (bis 1350 ms) im Verhältnis zur messortabhängigen Maximaltemperatur am Rand der laserbestrahlten Fläche 73 % bzw. 89 % in der Laserspotmitte. Der Unterschied dieser Verhältnisse ließ darauf schließen, dass eine flächig wirksame Energieeinkopplung (d.h. hoher, gleichmäßiger Temperaturanstieg) nur bei ausreichend andauernder Laserbestrahlung gelang.

### Einfluss der Laserstrahlenergie auf die Energieeinkopplung

Bei einer konstanten Bestrahlungsdauer von 500 ms war der Gradient des relativen Temperaturanstiegs im Pflanzenmaterial abhängig von der applizierten Laserenergie sowie wiederum vom Abstand zur Laserspotmitte der bestrahlten Fläche (Abb. 3.14). Während geringe Laserenergien nur wenig wirksam waren, zeigte sich auch bei Berücksichtigung einer höheren Varianz, dass der Temperaturgradient deutlich mit steigenden Laserenergien zunahm.

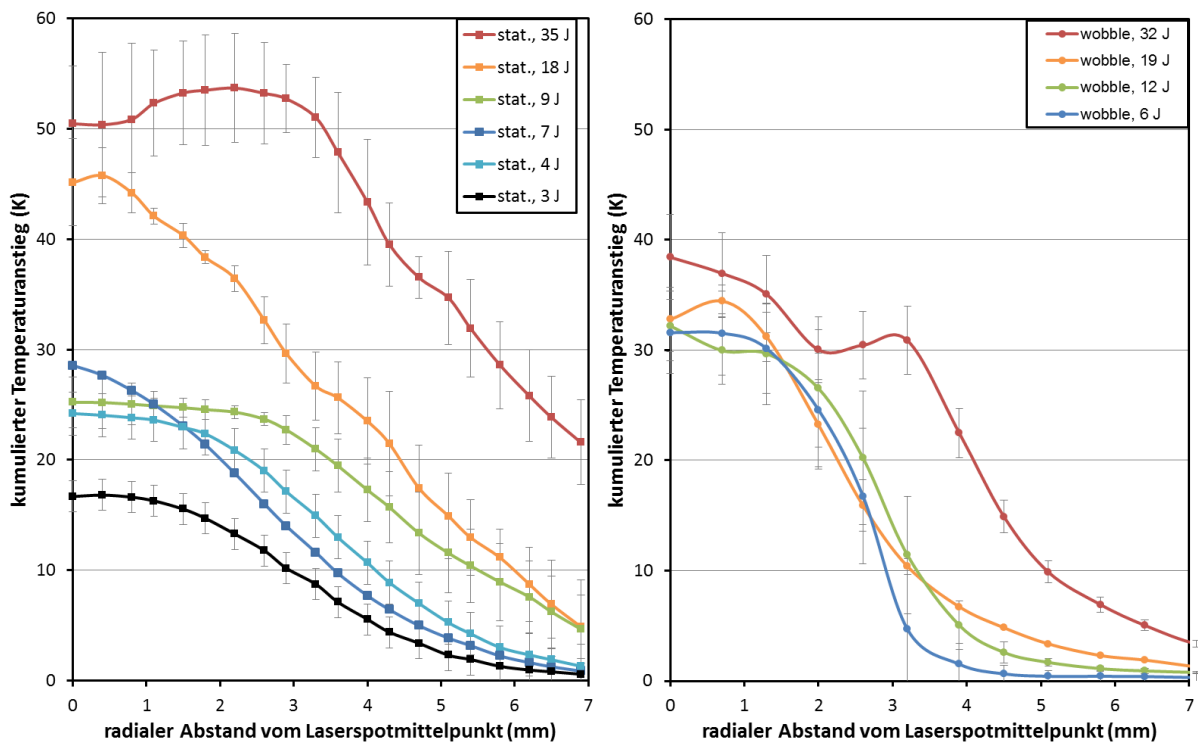


**Abb. 3.14: Temperaturgradienten (d.h. Steigungen der Temperaturanstiege, vgl. Abb. 3.13, S. 28) in Abhängigkeit der applizierten Laserenergie und des radialen Abstands zur Laserspotmitte gemessen mittels Thermographie bei Laserbestrahlungen (CO<sub>2</sub>-Laser,  $\lambda = 10.600$  nm, Spot  $\varnothing$  6 mm) von AMARE Pflanzen; 10 Wiederholungen je Laserenergiestufe; (Marx et al. 2012b, verändert)**

Bei Bestrahlungsversuchen von unterschiedlichen Wuchsgrößen (CO<sub>2</sub>-Laserbestrahlung von AMARE Pflanzen) konnten anhand der erforderlichen Letaldosen (Ergebnisse siehe unten) Richtwerte bezüglich der notwendigen Temperaturerhöhung zur letalen Schädigung der bestrahlten Pflanzen abgeleitet werden. Bei kleinen Pflanzen (BBCH 10) musste ein Gradient von  $\geq 1,0$  K ms<sup>-1</sup> in 1 mm radialem Abstand zur Zielposition erreicht werden, während bei größeren Pflanzen (BBCH 14)  $\geq 2,5$  K ms<sup>-1</sup> in 2 mm radialem Abstand notwendig waren.

### Einfluss der Laserstrahlführung auf die Energieeinkopplung

Die mittels Thermographie gemessenen Temperaturen wurden genutzt, um durch Integration der Flächen unter den Temperaturverläufen die mittleren, absoluten Temperaturerhöhungen gegenüber dem Zustand vor Bestrahlungsbeginn zu ermitteln. Auf diese Weise konnte der Einfluss der Laserstrahlführung auf die flächige Energieeinkopplung verglichen werden. Dabei wurde eine stationäre, defokussierte Laserbestrahlung einer auf Kreisbahnen geführten (wobbeln), fokussierten Laserbestrahlung gegenübergestellt (Abb. 3.15).



**Abb. 3.15: Kumulierte Temperaturen in Abhängigkeit der Laserstrahlführung (links: stationär und defokussiert auf  $\varnothing$  6 mm bei 0,5 s Bestrahlungsdauer, rechts: Wobbeln mittels Kreisbahnen im Fokus, Gesamtfläche mit  $\varnothing$  6 mm ca. 0,35 s Bestrahlungsdauer), der applizierten Laserenergie und dem Abstand zur Laserspotmitte in einem Messzeitraum von 2 s ab Bestrahlungsbeginn; Mittelwerte und Standardabweichung von 3 Wiederholungen; (Marx et al., 2012d, verändert)**

Bei einer stationären Laserbestrahlung wurden bei relativ hohen Laserenergien ( $> 18$  J) deutlich höhere, kumulierte Temperaturen erreicht. Zudem konnten Unterschiede auch bei kleineren Laserenergien festgestellt werden. Demgegenüber war bei Wobbel-Strahlführung eines fokussierten Laserstrahls ( $\varnothing$  250  $\mu$ m) das Niveau der Temperaturerhöhung im Bereich 6 J bis 19 J nicht unterscheidbar. Darüber hinaus wirkte die stationäre Bestrahlung deutlich stärker und mit geringerer Degression über den Rand der bestrahlten Fläche ( $\varnothing$  6 mm) hinaus. Bei Wobbel-Strahlführung war die Temperaturerhöhung nahezu auf die bestrahlte Fläche begrenzt.

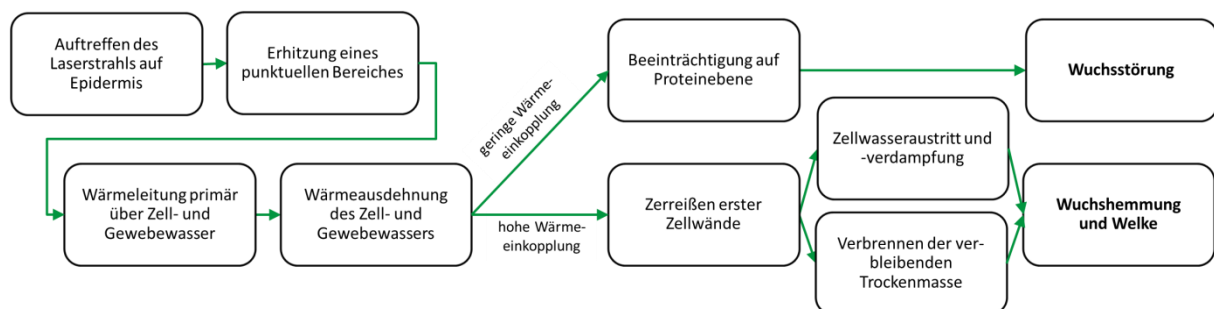
### Schädigungsmechanismen bei der Laserbestrahlung von Unkrautpflanzen

Die Laserbestrahlung führte in Abhängigkeit der applizierten Laserenergie zu einer Beeinflussung des Wachstums gegenüber unbehandelten Kontrollpflanzen. Während letale Schäden bei hohen Laserenergien auftraten, wurden die Pflanzen bei geringen Energien gehemmt (Abb. 3.16, S. 31).



**Abb. 3.16: Vergleich der Folgen von Laserbestrahlungen an gleichalten Pflanzen (14 Tage nach Bestrahlung): unbehandelte Kontrolle (links), letale Schädigung (Mitte), Wuchshemmung (rechts); (Fotos: C. Marx)**

Unter der Annahme einer wellenlängenabhängigen und linearen Absorption führte eine Laserbestrahlung von Pflanzengewebe zunächst zu einer lokalen Erwärmung mit Wärmeleitung in tiefere Gewebeschichten. Der angenommene Schädigungsmechanismus auf Basis der Temperaturerhöhung konnte in einem Schema dargestellt werden (Abb. 3.17).



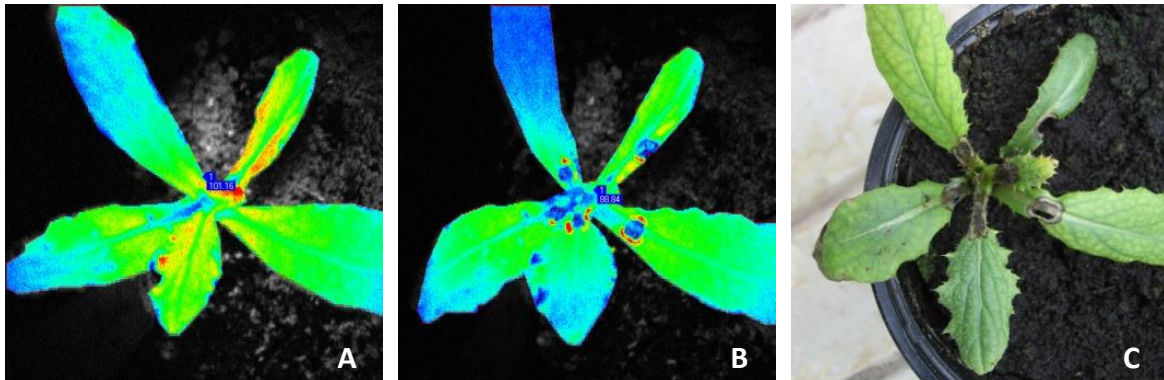
**Abb. 3.17: Schema zum Schädigungsmechanismus durch CO<sub>2</sub>-Laserbestrahlung; (Skizze: C. Marx)**

Ein CO<sub>2</sub>-Laserstrahl traf zunächst auf die äußeren Pflanzengewebeschichten. Durch Absorption der Strahlungsenergie erhöhte sich die Temperatur punktuell. Das vorhandene Wasser in den Zellen sowie im Leitgewebe der Pflanze erhitze sich und leitete die Wärme in die umgebende Zellstruktur weiter. Durch den Temperaturanstieg dehnte sich außerdem das vorhandene Wasser aus (bei einer Temperaturerhöhung von ca. 50 K um ca. 1 Vol.-%). In Abhängigkeit der eingekoppelten Energie wurden zwei Schädigungsarten verursacht. Bei geringen Wärmeenergien wurden temperaturbedingt Proteinstrukturen beeinträchtigt, da Proteine ab ca. 55 °C koagulieren. Die betroffenen Zellbereiche im Pflanzengewebe waren dann in ihrer Funktion eingeschränkt, sodass der Weiterwuchs der Zellstrukturen gestört war. Bei hohen wirksamen Wärmeenergien war die Wärmeausdehnung des Gewebewassers und die Erhitzung der Zellstrukturen stark, sodass das Gewebe zerriss. Darauf trat Zellwasser aus und die verbleibende, austrocknende Gewebestruktur wurde pyrolytisch zersetzt. Durch Beeinträchtigung eines sensiblen Bereiches (bspw. Meristem) konnte der Wuchs gehemmt sowie eine Welke induziert werden. In den Randbereichen der stark belasteten Flächen (direkte Laserbestrahlung) waren ebenfalls Temperaturerhöhungen wirksam, die wiederum zu den erstgenannten Schädigungen auf Proteinebene führen konnten.



### Einfluss der Laserstrahlposition auf die Schädigung

Basierend auf den Erkenntnissen zur Energieeinkopplung in das Pflanzenmaterial wurde angenommen, dass die Position der Laserbestrahlung großen Einfluss auf den erreichten Temperaturanstieg in sensiblen Bereichen des Pflanzengewebes und damit auf die schädigende Wirkung des Pflanzenwachstums hatte. Bei der Verwendung einer Fluoreszenzkamera zur Untersuchung einer veränderten Photosyntheseaktivität im Bereich der Laserstrahlapplikation zeigte sich, dass der Einfluss der Laserbestrahlung örtlich begrenzt war (Abb. 3.18).



**Abb. 3.18: Aufnahmen mit einer Fluoreszenz-Kamera von einer mehrfach laserbestrahlten Acker-Kratzdistel vor (A) und unmittelbar nach der Laserbestrahlung (B, C); (Marx et al. 2010)**

Die Grundfluoreszenz und damit die Photosyntheseaktivität der relativ großen Unkrautpflanzen blieb von den Laserbestrahlungen unbeeinflusst. An den Stellen, an denen die Laserbestrahlung das Pflanzengewebe stark belastet oder perforiert hatte, war die Fluoreszenz vermindert. Dennoch zeigte sich eine Restfluoreszenz, die einen begrenzten Gewebeschichtabtrag durch die Laserbestrahlung vermuten lässt. Rot gefärbte Bereiche, die eine hohe Aktivität anzeigten, wurden in der unmittelbaren Umgebung der laserbestrahlten Flächen festgestellt. Für eine umfassende Schädigung des laserbestrahlten Unkrautes war somit eine Bestrahlung von besonders sensiblen Bereichen sowie von juvenilen Pflanzen erforderlich, bei denen das Verhältnis von laserbestrahlten zu nicht-bestrahlten Bereichen größer war. Dementsprechend hatte die Treffsicherheit einer zukünftigen Applikation hohe Bedeutung.

### Einfluss der Laserwellenlänge auf die Schädigung

Bei der Bestrahlung von Unkrautpflanzen mit verschiedenen Lasersystemen (siehe Tab. 3.2, S. 13) wurde gezeigt, dass unterschiedliche Energien notwendig waren, um die entsprechenden Unkräuter wirksam zu schädigen (Tab. 3.5, S. 33). Dabei wurde eine Laserbestrahlung als letal gewertet, wenn die entsprechende Pflanze 14 Tage nach der Bestrahlung weniger als 10 % der Frischmasse einer gleichalten, unbehandelten Pflanze aufwies.

Auch bei einem relativ geringen elektro-optischen Wirkungsgrad begründete sich mit dem geringsten Energiebedarf je Unkrautpflanze der Einsatz von CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung für die lasergestützte Unkrautbekämpfung. Es wurde vermutet, dass der effektive Einsatz von CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung unmittelbar auf die Absorptionseigenschaften zurückzuführen war.



**Tab. 3.5: Einfluss der Laserwellenlänge auf die Mindestenergie zur letalen Bestrahlung von AMARE im Keimlingsstadium (BBCH 10); Laserdosen und Energiebedarfe sind Mittelwerte von 10 Wiederholungen, Absorptionswerte (siehe Abb. 3.11, S. 27), Wirkungsgrade laut Herstellerangaben [1] Rofin-Sinar Technologies Inc., Plymouth, MI, USA; [2] IPG Laser GmbH, Burbach, Deutschland [3] Laserline GmbH, Mülheim-Kärlich, Deutschland; [4] Coherent Inc., Santa Clara, CA, USA**

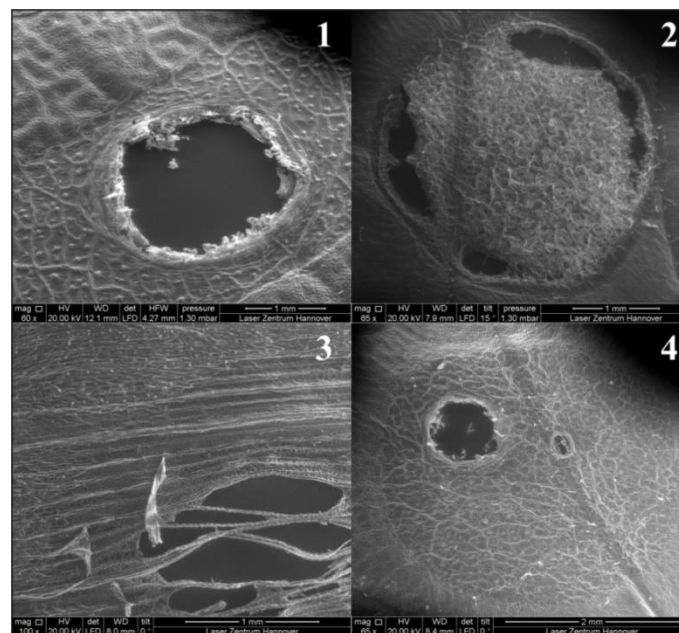
Laserwellenlänge (nm)	Lasersystem (-)	Absorption (-)	min. letale Laserdosis (J)	elektro-optischer Wirkungsgrad (-)	Energiebedarf je Pflanze (J)
10.600	48-5, Synrad Inc.	0,96*	10	0,08 <sup>[1]</sup>	125
1.908	TLM-50, IPG Laser GmbH	0,88	23	0,10 <sup>[2]</sup>	230
940	LDF 600-250, Laserline GmbH	0,07	71	0,30 <sup>[3]</sup>	237
532	Rapid, Lumera Laser GmbH	0,63	14**	0,05 <sup>[4]</sup>	280**

\* extrapoliert, da außerhalb des Messbereich des Spektralphotometers (siehe oben)

\*\* extrapoliert, da nur nicht letale Laserdosen beobachtet wurden

### Einfluss des Laserstrahlprofils auf die Schädigung

Der Einfluss unterschiedlicher Laserstrahlquellen mit verschiedenen Strahlprofilen auf die Schädigung von Pflanzengewebe zeigt sich auch bei der Bestrahlung von Blattmaterial (Abb. 3.19).



**Abb. 3.19: Laserbestrahlungen von Blattmaterial (REM-Aufnahme) (Marx et al. 2012b)**

[1] CO<sub>2</sub>-Laser ( $\lambda = 10.600 \text{ nm}$ ), Energie: 8,9 J, Spot  $\varnothing$  3 mm;

[2] CO<sub>2</sub>-Laser ( $\lambda = 10.600 \mu\text{m}$ ), Energie: 7,1 J, insgesamt  $\varnothing$  3 mm bei  $\varnothing$  200  $\mu\text{m}$  Laserfokus;

[3] Festkörperlaser ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ , gepulst), Pulsenergie (10 ns): 125 mJ, Spot  $\varnothing$  6 mm;

[4] Diodenlaser ( $\lambda = 940 \text{ nm}$ ), Energie: 70,8 J, Spot  $\varnothing$  6 mm

Mit der Intensitätsverteilung im Laserstrahl (Annahme: Profil der CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung folgt einer idealisierten Gaußverteilung  $f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}x^2}$ ; Eichler et al., 2004) konnte die erforderliche Intensität zur Auftrennung des Blattgewebes ermittelt werden. Dazu wurde die Nenn-Intensität der Laserbestrahlung bei der mittleren Bestrahlungsleistung angenommen, welche folglich

$$I_{\text{nenn}} = \frac{P}{A} = \frac{E/t}{A} = \frac{8,9 \text{ J} / 0,5 \text{ s}}{\frac{\pi}{4} \cdot (3 \text{ mm})^2} = 2,5 \text{ W mm}^{-2} \quad [3.4]$$

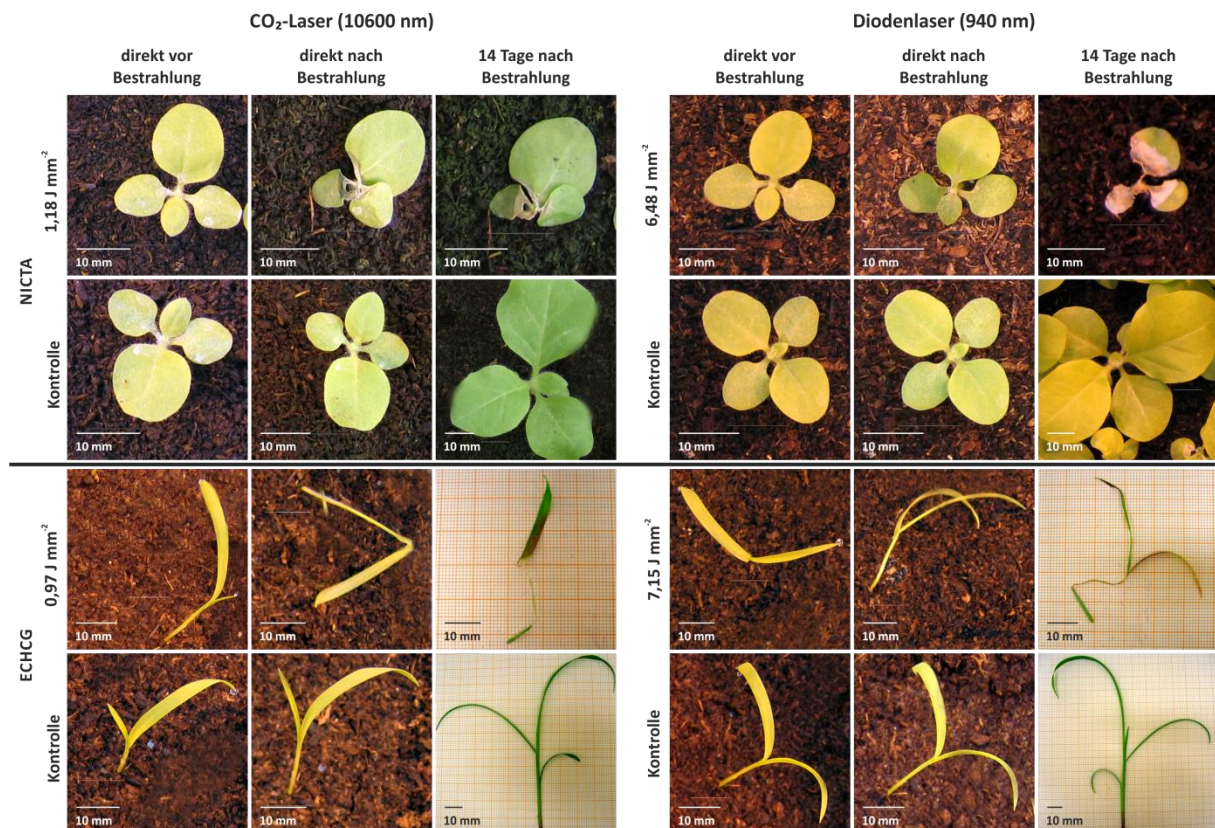
betrug. Die mittlere Bestrahlungsleistung repräsentierte dabei das halbe Flächenintegral im gaußverteilten Strahlprofil radial zur Ausbreitungsrichtung der Laserstrahlung. Das Blattgewebe wurde in einem Durchmesser von  $\varnothing$  1,7 mm um den Mittelpunkt der laserbestrahlten Fläche ( $\varnothing$  3 mm) aufgetrennt (Abb. 3.19, S. 33, Bild 1). Im angenommenen Laserstrahlprofil wurde dort eine Intensität von  $1,7 \text{ W mm}^{-2}$  erreicht. Bei der gepulsten Bestrahlung (Abb. 3.19, S. 33, Bild 3) wurde in Analogie eine Intensität von  $1,5 \text{ W mm}^{-2}$  ermittelt. Diese Intensität war somit zur vollständigen Pyrolyse eines ca.  $150 \mu\text{m}$  dicken Pflanzengewebes bei vergleichbar hoher Absorption der verwendeten Laserwellenlänge erforderlich. Bei der Bestrahlung mit einem Diodenlaser zeigte sich ein deutlich höherer Energiebedarf bis zu einer lokalen Auftrennung des Blattgewebes (Abb. 3.19, S. 33, Bild 4). Dies war einerseits auf die geringere Absorption (siehe Abb. 3.11, S. 27) und andererseits auf ein durch Defokussierung verzerrtes Strahlprofil zurückzuführen (beim Diodenlaser bedingt sich durch seinen Aufbau ein so genanntes Top-Hat-Profil). Mit fokussierter Laserstrahlung (Abb. 3.19, S. 33, Bild 2), die mittels Scanner über eine Fläche geführt wurde, zeigte sich eine gleichmäßige Belastung des Pflanzenmaterials. Nur am Rand der insgesamt bestrahlten Fläche wurde eine Auftrennung erreicht, was sich aus Laserintensitätsspitzen durch Ein/Ausschaltvorgänge sowie Wendepunkte in der Laserstrahlführung ableitete.

### 3.4.3 Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Unkrautpflanzen

#### Letale Schädigung von Unkrautpflanzen durch Laserbestrahlung

Die selektive Schädigung von Pflanzen mithilfe von Laserstrahlung bei optimaler Laserstrahlpositionierung auf dem Apikalmeristem wurde in Bestrahlungsversuchen untersucht. Im Vergleich zu unbehandelten Kontrollpflanzen war die letale Wirkung ab bestimmten Laserenergien bereits direkt nach der Laserbestrahlung sichtbar (Abb. 3.20, S. 35).

Unbehandelte Kontrollpflanzen konnten sich in einem Zeitraum von 14 Tagen deutlich weiterentwickeln, weshalb ein Vergleich der zu diesem Zeitpunkt erreichten Frischmassen zwischen bestrahlten und nicht-bestrahlten Pflanzen den wuchshemmenden Effekt der Laserbestrahlung bestätigen konnte. Zudem wurde gezeigt, dass bei Wellenlängen, die nur vermindert im Pflanzenmaterial absorbiert werden, höhere Laserdosen für vergleichbare Beschädigungen erforderlich waren. Laserbestrahlungen führten somit zu ganzheitlichen Schädigungen der behandelten Unkrautpflanzen (Abb. 3.20, S. 35, insbesondere in Bildzeile 1, Bildspalte 3 und 6).

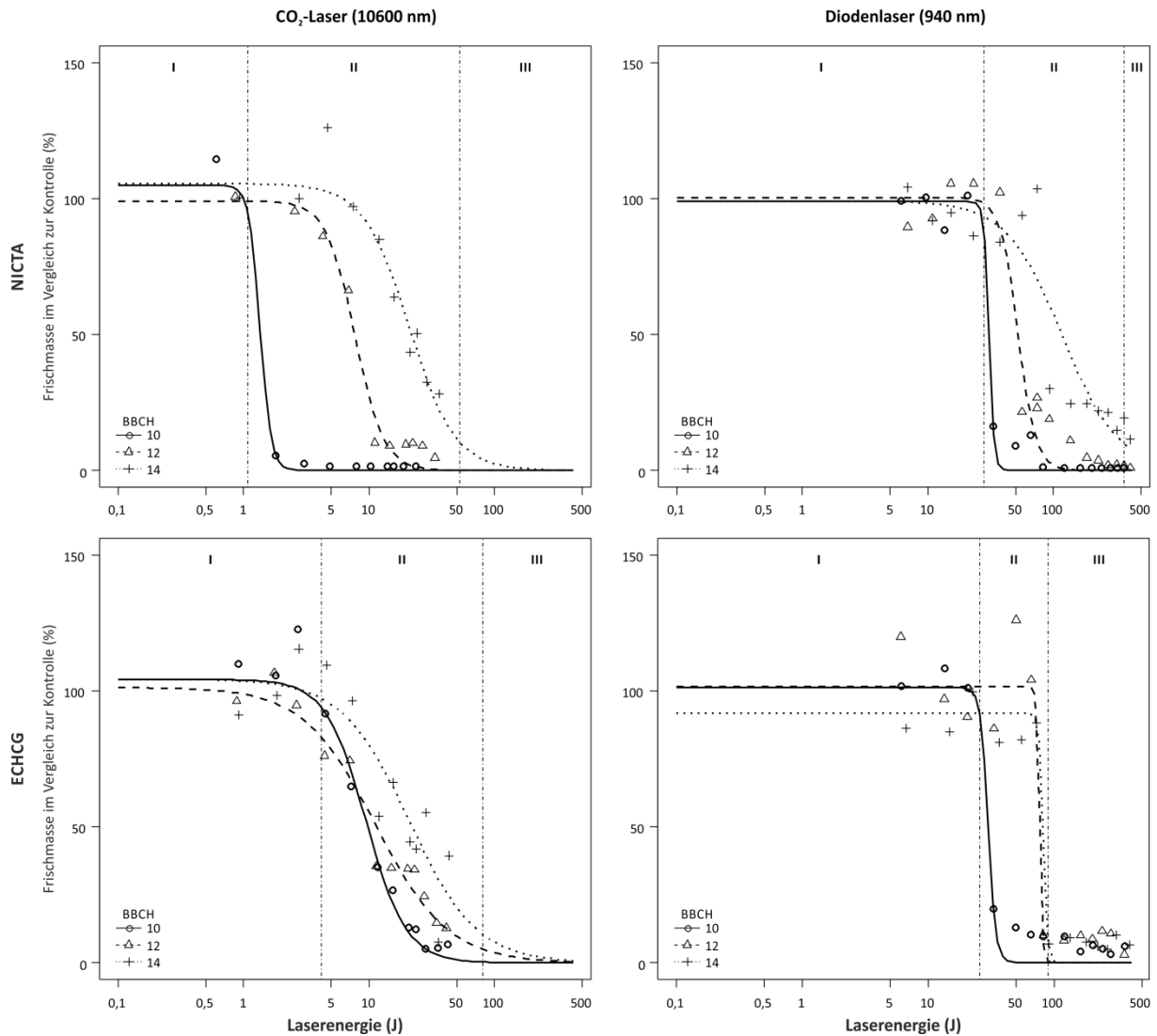


**Abb. 3.20: Schädigung von NICTA (oben) und ECHCG Pflanzen (unten) im Vergleich zu unbehandelten Kontrollpflanzen nach Laserbestrahlung mit unterschiedlichen Lasersystemen und Laserenergiedichten (Wöltjen et al. 2008a, verändert)**

#### Dosis-Wirkung-Beziehungen in Abhängigkeit der Laserwellenlänge

Durch Ermittlung der Frischmassen aller laserbestrahlten Pflanzen und in Bezug auf die jeweiligen Mittelwerte unbehandelter, gleichaltriger Pflanzen der Kontrollgruppen konnte die Schädigung in Abhängigkeit der Laserenergie und der Wuchsgröße (bonitiert zum Zeitpunkt der Laserbestrahlung) quantifiziert und mit der in Abschnitt 3.3.3 beschriebenen logistischen Regression modelliert werden (Abb. 3.21, S. 36). Mithilfe der Berechnung der ED<sub>10</sub>-Werte für Pflanzen der Wuchsgröße BBCH 10 und der ED<sub>90</sub>-Werte für Pflanzen der Wuchsgröße BBCH 14 wurden je Kombination von verwendeter Laserwellenlänge und bestrahlter Pflanzenart drei Bereiche definiert. In Bereich I blieb die Laserbestrahlung ohne Effekt auf das Wuchsverhalten der Pflanzen. Bereich II stellte einen Übergangsbereich dar, in dem ansteigende Laserenergien zunehmenden Einfluss auf den Pflanzenwuchs hatten. In Bereich III war jede verwendete Laserenergie letal für die bestrahlte Pflanze.

Mit diesen Teilergebnissen zeigte sich, dass beide Laserstrahlquellen effektiv zur Unkrautbekämpfung eingesetzt werden konnten. Jedoch wurden charakteristische Unterschiede der Reaktion der Pflanzen auf die Laserbestrahlung herausgestellt. Während sich die Reduzierung der Frischmasse bei Verwendung eines CO<sub>2</sub>-Lasers bei unterschiedlich großen Pflanzen unterschied und demzufolge der Übergangsbereich (II) breit war, zeigte sich bei Verwendung eines Diodenlasers bei allen Wuchsstadien ein nahezu zweistufiges Verhalten mit einem schmalen Übergangsbereich.



**Abb. 3.21:** Einfluss unterschiedlicher Laserenergien (Laserspot  $\varnothing$  6 mm) von 2 Lasersystemen auf die Wuchsschädigung von Tabak (*N. tabacum*, NICTA) und Hühnerhirse (*E. crus-galli*, ECHCG) im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen mit Unterteilung in drei Wirksamkeitsbereiche (I: kein Effekt, II: Übergangsbereich, III: letaler Effekt) (Wöltjen et al. 2008a, verändert)

Demnach hatte die Pflanzengröße bei CO<sub>2</sub>-Laserbestrahlung eine höhere Bedeutung als bei Bestrahlung mit einem Diodenlaser. Zudem waren mit dem Diodenlaser deutlich höhere Laserenergien für den Bereich III erforderlich. Bei Beachtung der logarithmischen Darstellung bedeutete dies einen um den Faktor 10 höheren Wert der Laserenergie bei Verwendung der Diodenlaserstrahlung. Ein Vergleich der Effekte bei den Unkrautarten zeigte, dass der Einfluss des Wuchsstadiums bei monokotylem ECHCG deutlich geringer war als bei dikotylem NICTA. Demgegenüber wurde hierbei der Einfluss der Laserwellenlänge beobachtet. Während die Werte der Laserenergie beim Übergang von Bereich II zu Bereich III bei der Bestrahlung von NICTA stark unterschiedlich zwischen den verwendeten Lasersystemen waren (ca. 50 J beim CO<sub>2</sub>-Laser gegenüber ca. 400 J beim Diodenlaser), waren bei der Behandlung von ECHCG ähnliche Laserenergien erforderlich (ca. 80 bis 90 J). Letztlich hat sich gezeigt, dass eine Laserbestrahlung von Pflanzen mit Energien über dem Wert ED<sub>90</sub> zu einer dauerhaften, letalen Schädigung ohne Durchwachsen führte.

### Fehler der Dosis-Wirkung-Beziehungen

Die Modellfehler der Dosis-Wirkung-Beziehungen (siehe Abschnitt 3.3.3) wurden als RMSE aus dem statistischen Vergleich der gemessenen zu den modellierten Daten berechnet (Tab. 3.6).

**Tab. 3.6: Modellfehler (RMSE-Werte) der prozentualen Frischmasse (Vergleich zur Kontrolle) für unterschiedliche Pflanzenarten, Wuchsgrößen und verwendete Lasersysteme**

Pflanzenart	Wuchsgröße (BBCH)	Lasersystem	
		CO <sub>2</sub> -Laser	Diodenlaser
NICTA	10	8,1 %	10,9 %
	12	18,4 %	12,4 %
	14	22,0 %	22,3 %
ECHCG	10	23,7 %	18,3 %
	12	20,4 %	19,6 %
	14	24,3 %	16,0 %

Die Abweichungen zur Skala 0 bis 100 % der Frischmasse von unbehandelten Kontrollpflanzen waren ausreichend zur Beurteilung der Schädigungswirkung der Laserstrahlung. Jedoch waren die Fehlerwerte der Dosis-Wirkung-Beziehungen relativ hoch, weshalb ein präziseres Schädigungsmodell auf Grundlage von Parameterstudien entwickelt wurde.

### Schädigungsmodell und Modellparameter

Wie in Abschnitt 3.3.4 beschrieben, wurden für das Schädigungsmodell die Wahrscheinlichkeiten letaler Schädigungen verwendet.

$$\ln \frac{p_{\text{letal}}}{p_{\text{nicht-letal}}} = \ln \frac{p_{\text{letal}}}{1-p_{\text{letal}}} = L \quad [3.5]$$

Durch Umformung konnten die Wahrscheinlichkeiten letaler Schädigungen extrahiert werden.

$$p_{\text{letal}}(L) = \frac{1}{2} \cdot (1 + \tanh \frac{L}{2}) \quad [3.6]$$

Entsprechend der Einflüsse auf die Schädigung der Pflanzen (siehe Abschnitt 3.4.2) wurden fünf Faktoren zur Modellierung bestimmt: die Unkrautart, das Wuchsstadium, die applizierte Laserenergie, die Laserspotfläche und der Deckungsgrad des Laserspots gegenüber der Meristemposition (siehe Tab. 3.3, S. 17). Dafür wurden folgende Begründungen herangezogen. Aufgrund des grundsätzlich unterschiedlichen Wuchsverhaltens wurde unterschiedliche Modelle für mono- und dikotyle Pflanzen angenommen. Das Wuchsstadium wurde als wichtiger Faktor angesehen, wobei angenommen wurde, dass die Schädigungswirkung einer Laserbestrahlung den gruppierten Wuchsstadien (BBCH Abstufungen) folgte und somit ein unkrautartspezifischer Versatz erwartet wurde. Bei der applizierten Laserenergie wurden Korrelationen sowohl mit dem Wuchsstadium als auch mit der Laserspotgröße vermutet, da jeweils das Verhältnis der bestrahlten zur nicht-bestrahlten Pflanzenbiomasse variierte. Für den Faktor Laserspotposition (gleichbedeutend mit dem Deckungsgrad des aktuellen gegenüber einem zentrierten Laserspot) wurde ein habitusabhängiger Einfluss der Unkrautart erwartet, da sich eine Positionsabweichung bei einem eher schmalen, vertikalen Wuchs der Monokotylen gegenüber einer fehlgesteuerten Bestrahlung bei einem eher flächigen Wuchs der Dikotylen stärker, d.h. durch eine weniger effektive Schädigung, auswirkte.

Aufbauend auf diesen Annahmen wurden folgende Modellgleichungen (generalisiert lineare Modelle) aufgestellt (siehe Tab. 3.3, S. 17):

$$L_i = a_j + b_{j,k} \cdot E + c_i \cdot D \quad [3.7]$$

mit:  $i = \{u1, u2\}$ : Unkrautart (-)

$j = \{w1, w2, w3\}$ : Wuchsgröße (BBCH-Code)

$k = \{s1, s2, s3\}$ : Laserspotfläche (mm<sup>2</sup>)

$E = \{d3, \dots, d8\}$ : Laserenergie (J)

$D = \{p1, p2, p3\}$ : Deckungsgrad der Laserspotfläche (%)

Mit speziellen Parameterstudien (siehe Abschnitt 3.3.4, S. 16) konnte die Schädigung von CO<sub>2</sub>-Laserbestrahlung auf Unkrautarten und Wuchsgrößen in Modellen abgebildet werden. Die Modellparameter wurden mit der Statistiksoftware R geschätzt, der Einfluss einzelner Modellparameter auf die Modellgüte intern mit F-Tests überprüft und als Signifikanzwert ausgewertet (Tab. 3.7).

**Tab. 3.7: Modellparameter der lasergestützten Unkrautschädigung (Modell: siehe Abschnitt 3.3.4) (Marx et al., 2012d)**

	u1 (ECHCG)	Signifikanz	u2 (AMARE)	Signifikanz
$a_{w1}$	- 3,954	***	- 2,564	***
$a_{w2}$	- 5,733	***	- 4,825	***
$a_{w3}$	- 21,611		- 6,628	***
$b_{w1,s1}$	0,063	***	0,072	***
$b_{w2,s1}$	0,040	*	0,050	**
$b_{w3,s1}$	$-4,98 \cdot 10^{-5}$		-23,364	
$b_{w1,s2}$	0,071	***	0,038	***
$b_{w2,s2}$	0,073	***	0,142	***
$b_{w3,s2}$	$-2,49 \cdot 10^{-5}$		0,056	***
$b_{w1,s3}$	0,026	***	0,025	***
$b_{w2,s3}$	0,032	***	0,051	***
$b_{w3,s3}$	$-1,41 \cdot 10^{-4}$		0,033	***
c	3,053	***	3,734	***

Signifikanz-Abkürzungen: '\*\*\*':  $p \leq 0,001$  | '\*\*':  $p \leq 0,01$  | '\*':  $p \leq 0,05$  | '.':  $p \leq 0,1$  | ':':  $p \leq 1$

Die hohen Signifikanzen der einzelnen Modellparameter wiesen auf eine hohe Modellgüte hin. Für die Modellparameter, die keine Signifikanzen erreichten, wurden zu wenige bzw. keine letalen Bestrahlungen beobachtet. Die Werte der Modellparameter  $a_j$  nahmen mit zunehmendem Wuchsstadium ab. Die Modellparameter  $b_{j,k}$  waren ebenfalls von den Wuchsstadien abhängig. Der Modellparameter c wies auf leichter zu schädigende dikotyle Pflanzen hin.

### Validierung des Schädigungsmodells

Mit den Modellparametern konnten Vorhersagen („modelliert“) für die nicht zur Modellierung genutzten Wertepaare („beobachtet“) berechnet und so die unkrautartspezifischen Modelle kreuzvalidiert werden (Tab. 3.8, S. 39).



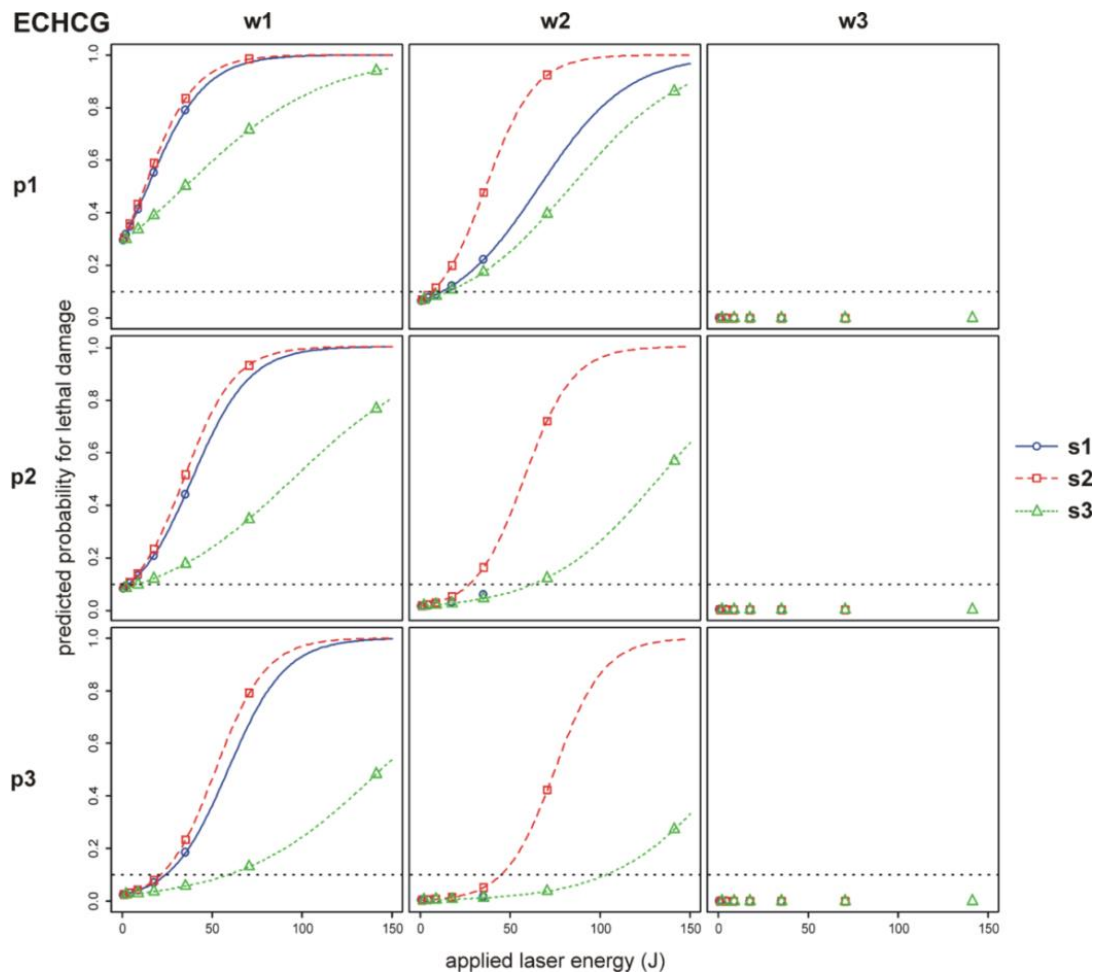
**Tab. 3.8: Kreuzvalidierung der unkrautartspezifischen Modelle (Marx et al. 2012d)**

modelliert	ECHCG		modelliert	AMARE	
	beobachtet			beobachtet	
	letal	nicht-letal		letal	nicht-letal
letal	8 %	1 %	letal	28 %	8 %
nicht-letal	6 %	85 %	nicht-letal	8 %	56 %

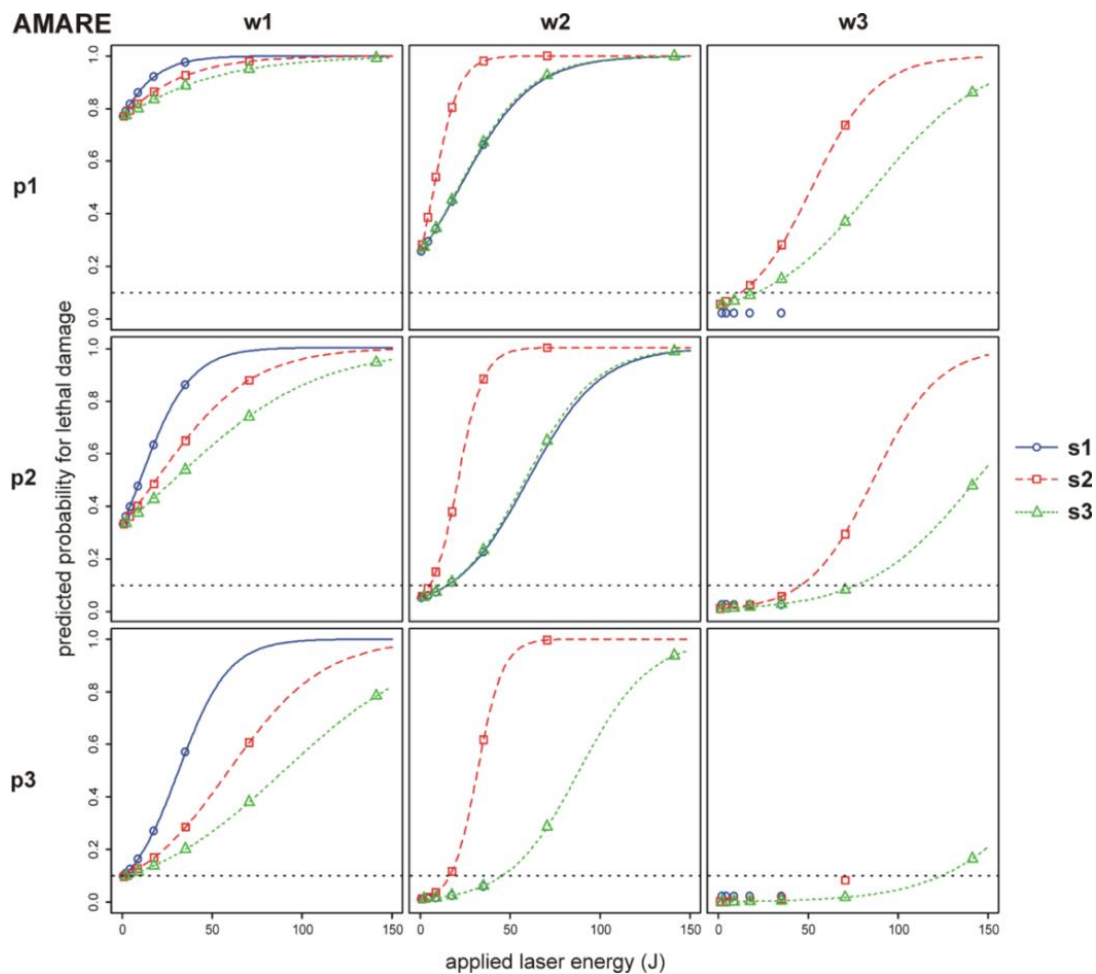
Der jeweilige Gesamtmodellfehler bei je 1890 Bestrahlungsversuchen betrug 7 % bei ECHCG und 16 % bei AMARE, was auch auf Variablenkombinationen basierte, für die nicht-signifikante Modellparameter ermittelt wurden (siehe Tab. 3.7, S. 38).

**Darstellung des Schädigungsmodells**

Mit den validierten Modellparametern konnten die Wahrscheinlichkeiten letaler Schädigungen in Abhängigkeit der Variablenkombination ermittelt werden (siehe Abschnitt 3.3.4, S. 16). Dabei musste minimal eine Wahrscheinlichkeit von 10 % erreicht werden (Abb. 3.22 und Abb. 3.23, S. 40).



**Abb. 3.22: Modellierte Wahrscheinlichkeiten letaler Unkrautschädigungen in Abhängigkeit der Wuchsgröße (w1 = BBCH 10, w2 = BBCH 12, w3 = BBCH 14), der Laserspotposition (p1 = 100 %, p2 = 49 %, p3 = 8 %), der Laserspotgröße (s1 = ø 3,0 mm, s2 = ø 4,2 mm, s3 = ø 6,0 mm) und der applizierten Laserenergie für ECHCG (Marx et al. 2012d)**



**Abb. 3.23: Modellierete Wahrscheinlichkeiten letaler Unkrautschädigungen in Abhängigkeit der Wuchsgröße (w1 = BBCH 10, w2 = BBCH 12, w3 = BBCH 14), der Laserspotposition (p1 = 100 %, p2 = 49 %, p3 = 8 %), der Laserspotgröße (s1 =  $\varnothing$  3,0 mm, s2 =  $\varnothing$  4,2 mm, s3 =  $\varnothing$  6,0 mm) und der applizierten Laserenergie für AMARE (Marx et al. 2012d)**

Die Wahrscheinlichkeit einer letalen Schädigung nahm mit ansteigender Laserenergie zu. Das Wuchsstadium der Pflanzen hatte einen wesentlichen Einfluss auf die Schädigungswahrscheinlichkeit, wobei die erforderliche Laserdosis mit dem Pflanzenalter zunahm. Die Vorhersage der Schädigungen gelang teilweise nicht, weil in den Bestrahlungsversuchen zu wenige oder keine letale Schäden an den mittleren (w2) und großen Unkrautpflanzen (w3) beobachtet wurden. Gleiches galt für Bestrahlungsversuche mit kleinen Spotdurchmessern (s1) oder geringen Deckungsgraden (p3).

#### Ableitung von Letaldosen

Zum Vergleich letaler Bestrahlungen wurden mit Abb. 3.22, S. 39 und Abb. 3.23 die Werte der minimal erforderlichen Laserenergien für Erfolgswahrscheinlichkeiten von 95 % ermittelt (LD90<sub>95</sub>, Tab. 3.9, S. 41).

Juvenile, monokotyle ECHCG Pflanzen wurden ab minimal 54 J bei einer bestrahlten Fläche von 14 mm<sup>2</sup> letal geschädigt. Dikotyle AMARE Pflanzen wurden ab minimal 25 J bei einer kleineren Laserspotfläche (7 mm<sup>2</sup>) letal geschädigt. Die erforderlichen Laserenergien stiegen sowohl mit abnehmender Treffsicherheit, d.h. geringen Deckungsgraden, und zunehmenden Wuchsstadien an.



**Tab. 3.9: Laserenergien (J) für eine zu 95 % wahrscheinliche, letale Schädigung (LD90<sub>95</sub>) unterschiedlicher Unkräuter mit einem CO<sub>2</sub>-Lasersystem bei verschiedenen Laserspotgrößen (s1 = ø 3,0 mm, s2 = ø 4,2 mm, s3 = ø 6,0 mm), Unkrautwuchsstadien (w1 = BBCH 10, w2 = BBCH 12, w3 = BBCH 14) und Deckungsgraden (p1 = 100 %, p2 = 49 %, p3 = 8 %)); (Marx et al., 2012d)**

		u1 (ECHCG)			u2 (AMARE)		
		p1 (100 %)	p2 (49 %)	p3 (8 %)	p1 (100 %)	p2 (49 %)	p3 (8 %)
s1 (7 mm <sup>2</sup> )	w1	61	86	106	25	51	72
	w2	139	n.a.	n.a.	81	119	n.a.
	w3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
s2 (14 mm <sup>2</sup> )	w1	54	76	93	46	96	137
	w2	77	98	115	28	42	53
	w3	n.a.	n.a.	n.a.	105	139	n.a.
s3 (28 mm <sup>2</sup> )	w1	149	210	258	71	146	207
	w2	176	225	264	79	116	146
	w3	n.a.	n.a.	n.a.	175	232	278

### Einfluss von Applikationsparametern auf die Letaldosen

Durch eine Analyse der letalen Laserenergien und bei Bezug auf eine minimale Laserenergie von 54 J für alle zu bestrahlenden Unkräuter konnten mithilfe von linearen Regressionen folgende Zusammenhänge zum Einfluss der einzelnen Variablen auf eine zu 95 % wahrscheinliche, letale Laserdosis, die zu einer Differenz von 90 % in der Frischmasse gegenüber unbehandelten Kontrollen führte (LD90<sub>95</sub>), abgeleitet werden:

- Deckungsgrad D (%):  $LD90_{95}(J) = 54 \cdot (1 + 1,656 \cdot (1 - D))$  [3.8]

- Laserspotfläche A (mm<sup>2</sup>):  $LD90_{95}(J) = 54 \cdot (1 + 0,119 \cdot (A - 7,1))$  [3.9]

- Wuchsgröße w (BBCH):  $LD90_{95}(J) = \begin{cases} 54 & \text{wenn } w = 10 \\ 54 \cdot 0,655 \cdot (w - 10) & \text{wenn } w \neq 10 \end{cases}$  [3.10]

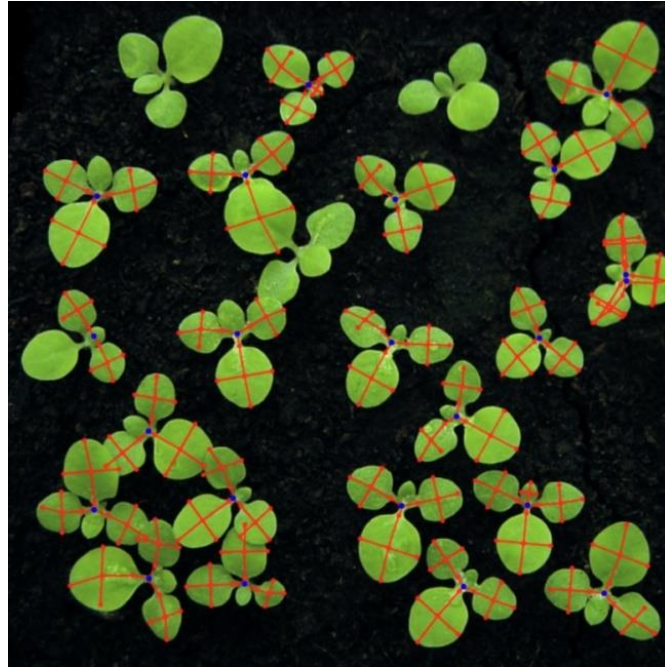
- Unkrautart u (-): Monokotyle Pflanzen zeigten 1,75fach höhere LD90<sub>95</sub> Laserenergien.

## 3.4.4 Einsatz von Bildverarbeitung zur Bestimmung von Zielpositionen

### Validierung der Bildverarbeitungsalgorithmen

Zunächst wurden, wie in Abschnitt 3.3.5 (S. 18) beschrieben, die Lerndaten in Form charakteristischer Landmarks anhand von Bildaufnahmen von Einzelpflanzen zur Erstellung der *Active-Shape*-Modelle verwendet (Details siehe Pastrana, 2012). Dadurch konnten 2-, 3- und 4-blättrige Modellpflanzen (siehe Abb. 3.6, S. 20) unterschieden werden. Eine Validierung erfolgte anhand von je 10 Bildern von Einzelmodellpflanzen, die nicht im Lerndatensatz verwendet wurden. Dabei wurden alle Modellpflanzen richtig erkannt.

Die Erfassung von Pflanzen und die Ermittlung von Zielpositionen für eine spätere Laserstrahlapplikation wurden auch an realen Pflanzen überprüft (Abb. 3.24, S. 42).

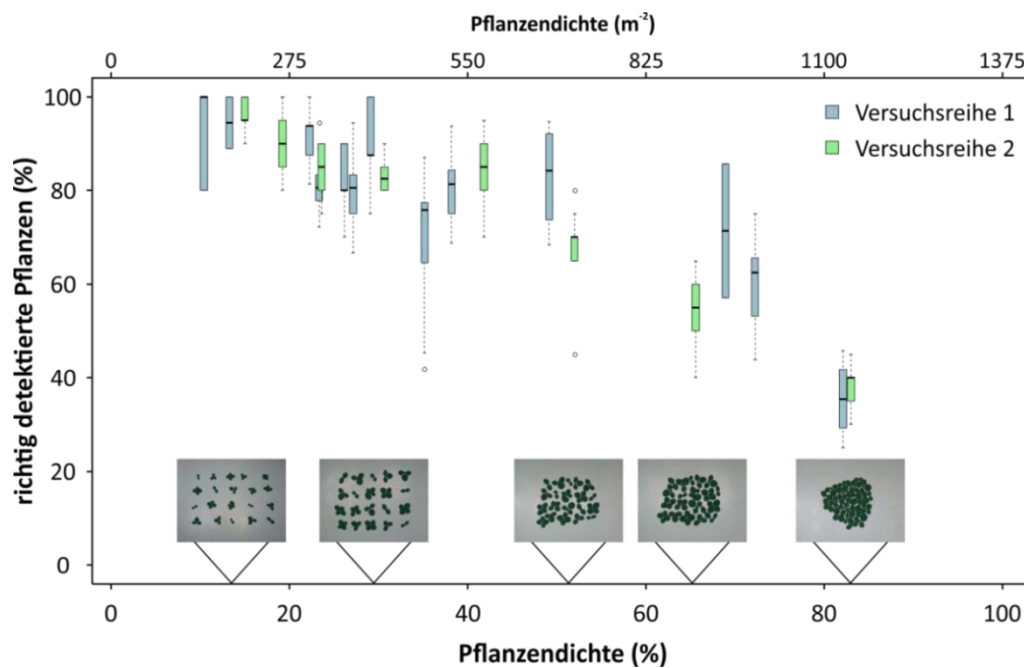


**Abb. 3.24: Bestimmung von Zielkoordinaten in einer unbekanntem Unkrautsituation mit realen Pflanzen unter Verwendung der Bildalgorithmen von Pastrana (2012); (Foto: C. Marx)**

Dabei wurden hohe Detektionsraten erzielt (Details siehe unten), wobei erstmals auch geringfügige Überlappungen bis ca. 10 % berücksichtigt werden konnten.

#### **Einfluss der Unkrautdichte auf die Detektion**

Die Bildverarbeitungsalgorithmen wurden mit unbekanntem Unkrautsituationen und ansteigenden Unkrautdichten getestet (Abb. 3.25).

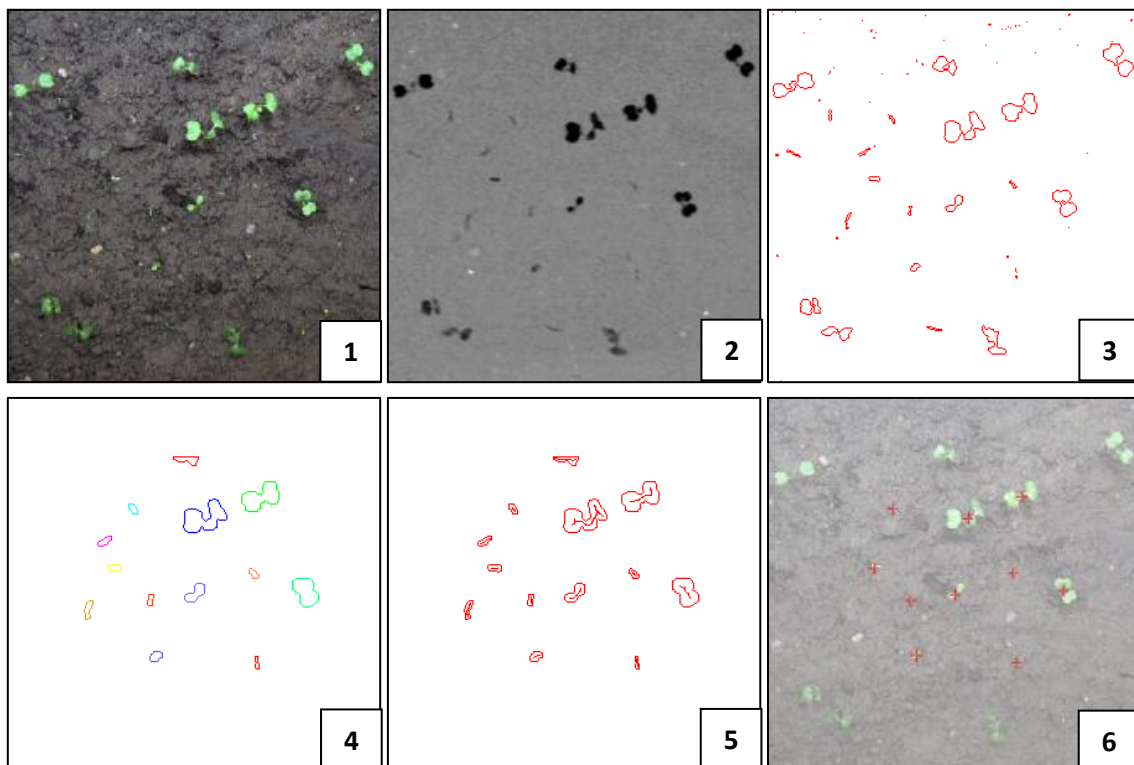


**Abb. 3.25: Abhängigkeit der Bestimmung von Zielpositionen von Modellpflanzen anhand von Bildverarbeitungsalgorithmen bei ansteigender Pflanzendichte (siehe Bilderfolge, Versuchsreihe 1: variierende Pflanzenanzahl, Versuchsreihe 2: feste Pflanzenanzahl); 20 Wiederholungen je Unkrautsituation; (Fotos: C. Bohlius)**

Während bereits bei geringen Pflanzendichten schwankende Detektionsraten ermittelt wurden, nahm die Erkennung bei Pflanzendichten größer 15 % Deckungsgrad (d.h. ungefähr 200 Pflanzen  $m^{-2}$ ) deutlich ab. Zwischen den Versuchsreihen wurden keine Unterschiede bezüglich der Detektionsrate festgestellt. Die geringsten Detektionsraten (ca. 33 %) wurden, wie erwartet, bei sehr hohen Pflanzendichten erreicht.

### Adaption der Bildverarbeitungsalgorithmen

Der bisher verwendete Bildverarbeitungsalgorithmus von Pastrana (2012) setzte die Erfassung von Lerndatensätzen und die Bestimmung von *Active-Shape-Models* voraus. Für eine Anwendung in einer unbekanntem Unkrautsituation innerhalb eines bekannten Kulturpflanzenbestandes wäre bei einer hohen Unterscheidbarkeit der Einzelpflanzen die Erkennung der Kulturpflanzen mit dem Bildverarbeitungsalgorithmus von Pastrana (2012) sinnvoll, da die anzuwendenden Pflanzenmodelle nur auf Wuchsstadien begrenzt wären. Folglich könnten die so erkannten Pflanzen generell von der Laserstrahlapplikation ausgeschlossen werden. Zur Erkennung der verbleibenden Unkrautpflanzen wurde ein vereinfachter Bildverarbeitungsalgorithmus entwickelt (Abb. 3.26).



**Abb. 3.26: Bildverarbeitung zur Bestimmung der Zielpositionen: [1] Originalfoto; [2] Farbraumtransformation (von RGB nach  $i1i2i3_{new}$ , Philipp 2004); [3] Schwellwertfilterung (-1,5...22 im Kanal  $i2_{new}$  & 55...82 im Kanal  $i3_{new}$ ); [4] Beschränkung auf Laserarbeitsbereich im Sichtfeld der Kamera sowie Größenfilterung und Dilatation (1 Pixel); [5] Skelettierung der Pflanzen; [6] Zielpositionen entsprechen den Schwerpunkten der Skelettierung; (Foto: C. Marx)**

Die Erkennung der Unkrautpflanzen gelang insbesondere durch die Farbraumtransformation von RGB nach  $i1i2i3_{new}$  (Philipp, 2004) mit anschließend vereinfachter Schwellwertfilterung. Mit den weiteren Bildverarbeitungsschritten konnten kleine Unkräuter im Keimlingsstadium erfasst und die Pflanzenmittelpunkte (vermutete Orte der Apikalmeristeme) zuverlässig bestimmt werden.

### Ableitung von Zielkoordinaten

Zur Übertragung der bildanalytisch ermittelten Zielkoordinaten an die Positionssteuerung des Lasersystems waren Transferfunktionen erforderlich. Diese waren von der jeweiligen Kalibrierung bei verschiedenen Abständen von Kamera, Lasersystem und Applikationsebene (Pflanzen im Boden) abhängig. Bislang konnten die Transferfunktionen nicht für unterschiedliche Höhenabstände verallgemeinert werden. Beim Testsystem wurden auf Basis der Kalibrierung (siehe Abb. 3.28, S. 45) die zu den Zielkoordinaten passenden Ansteuerwerte für die Servomotoren (Pulsweiten-Signal) durch Minimierung der Distanz zum nächstgelegenen Kalibrierpunkt ermittelt.

$$P_S(i) = \{x_{S,i}, y_{S,i}\} = \begin{cases} P_{KS}(j) & \text{für } j \mid \min\{\sum |P_B(i) - P_{KB}(j)| \forall j\} \leq 20 \\ \{0, 0\} & \text{sonst} \end{cases} \quad [3.11]$$

mit:  $P_S(i)$ : Servomotor-Stellwerte für den Ziel-Bildpunkt  $P_B(i)$

$P_{KS}(j)$ : Servomotor-Stellwerte bei der Kalibrierung an der Stelle  $j$

$P_B(i)$ : Koordinaten des Ziel-Bildpunkts  $\{x_{B,i}, y_{B,i}\}$

$P_{KB}(j)$ : Koordinaten bei der Kalibrierung an der Stelle  $j$

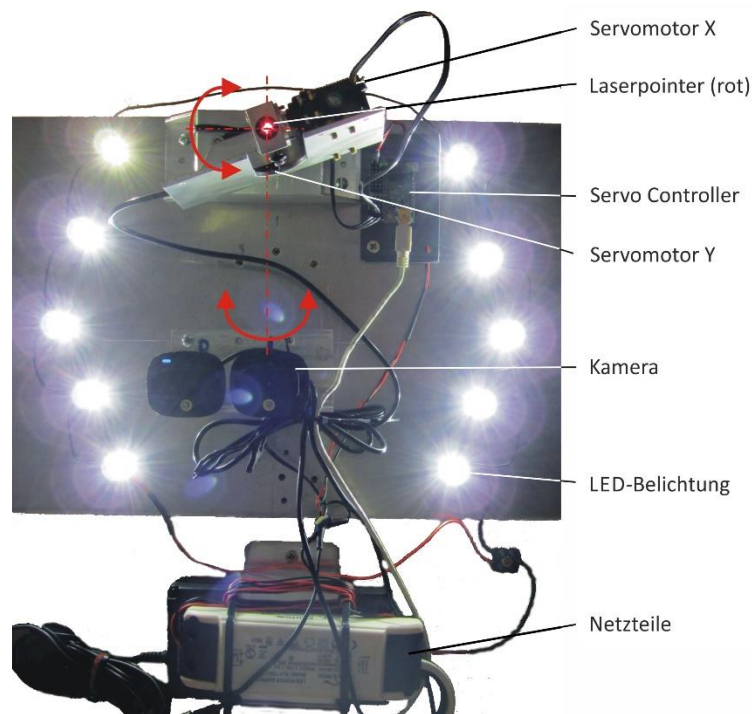
Beim Prototyp wurden die Zielkoordinaten in horizontaler und vertikaler Bildachse in Relation zum Bildmittelpunkt mit einem Skalierungsfaktor (Umrechnung von Pixelwerten auf Spannungswerte auf der Skala -5 bis 5 V) verrechnet und direkt an die Steuerung des Laserscanners übergeben. Dabei war eine Vorzeichenkorrektur gemäß der Ausrichtung der Koordinatensysteme erforderlich.

### 3.4.5 Einsatz des Testsystems und des Prototypen

#### Entwickeltes Testsystem

Das entwickelte Testsystem nutzte sichtbare Laserstrahlung (Laserpointer) und wurde zur Bestimmung der Erkennungs- und Positionierungsgenauigkeiten verwendet (Abb. 3.27, S. 45).

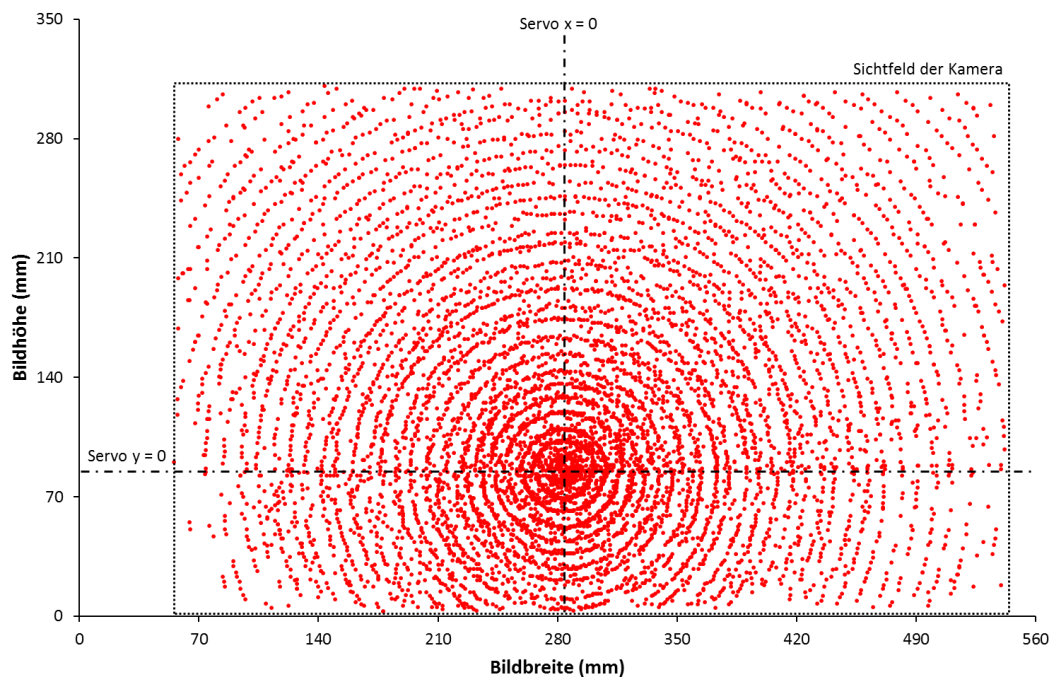
Bei der Konstruktion des Testsystems war eine hohe Stabilität erforderlich, um eine hohe Positionierungsgenauigkeit zu ermöglichen. Dies betraf sowohl die räumliche Anordnung der Servomotoren zueinander als auch die Position der verwendeten Kamera. Aufgrund der Drehbewegungen der Servomotoren musste ein Mindestabstand zur Kamera eingehalten werden. Dieser Versatz begrenzte letztlich den Arbeitsbereich der Laserstrahlapplikation. Mithilfe der Zusatzbelichtung waren gleichmäßige Lichtbedingungen in der Applikationsebene möglich.



**Abb. 3.27: Testsystem mit Kennzeichnung der Rotationsachsen und Drehrichtungen (Ansicht mit Blick vom Boden nach oben); (Foto: C. Marx)**

### Kalibrierung des Testsystems

Die Kalibrierung des Testsystems erfolgte bei inkrementeller Rotation der Servomotoren mit maximaler Winkelauflösung. Bei jeder Winkelstellung (Servomotor y war privilegiert) wurde der sichtbare Laserspot in der Applikationsebene mithilfe Bildverarbeitung im Sichtfeld der Kamera detektiert und dokumentiert. Mit allen Laserstrahlpositionierungen (Abb. 3.28) konnte zu jedem Zielpunkt im Bildausschnitt die zugehörigen Stellwerte der Servomotoren abgeleitet werden (siehe [3.11]).

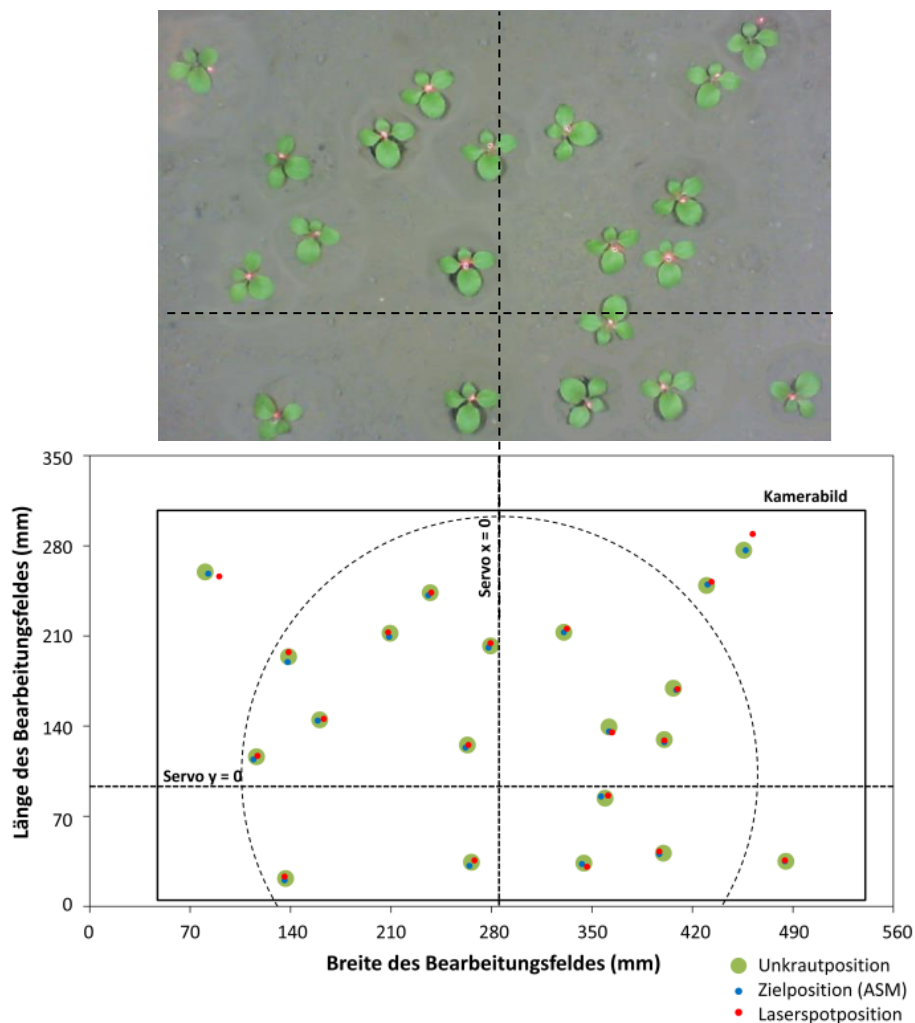


**Abb. 3.28: Kalibrierung des Testsystems anhand der Erkennung von Laserspotpositionen in Relation zu Bildkoordinaten der Kamera**

Durch die in Reihe geschalteten Servomotoren zeigten sich bei der Kalibrierung kreisförmige Strukturen zur Ausgangsstellung  $[x,y] = [0,0]$ , bei der der Laserstrahl vertikal zum Boden gerichtet war. Diese Strukturen waren auf die gleichmäßige Rotationsbewegung des Servomotors  $y$  bei gleichzeitiger Winkelanstellung des Servomotors  $x$  zurückzuführen (siehe Abb. 3.27, S. 45), wodurch der Laserstrahl auf Kreisbahnen geführt wurde. Durch den Versatz der Kamera und der Drehachse des Servomotors  $y$  befand sich der Ursprung der Laserstrahlpositionierung nicht im Bildmittelpunkt des Kamerasichtfeldes. Der Abstand zwischen benachbarten Kalibrierungspunkten nahm radialsymmetrisch gegenüber  $(0,0)$  stetig zu. Der Hintergrund war dabei, dass gleiche Anstellwinkeländerungen bei größerem Abstand zwischen Laserstrahlquelle und Auftreffpunkt des Laserstrahls zu größeren Punktabständen in der Applikationsebene führten. Es wurde vermutet, dass die Positionierungsgenauigkeit des Laserstrahls nur in Bereichen nahe dem genannten Ursprung hoch war.

### Validierung der Laserstrahlapplikation mit dem Testsystem

Bei der Verwendung des Testsystems in Unkrautsituationen mit realen Pflanzen wurde eine hohe Treffgenauigkeit ermittelt (Abb. 3.29).



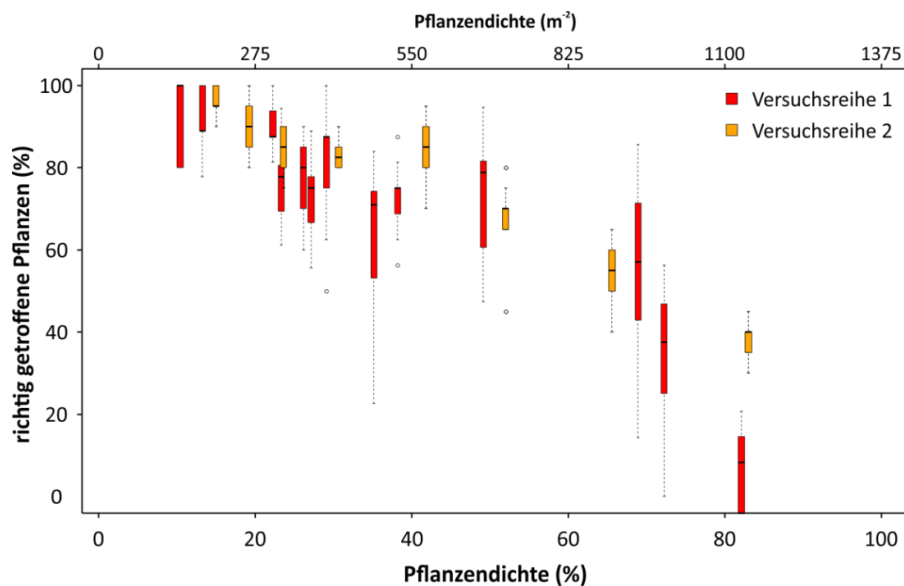
**Abb. 3.29:** Zufällige Positionierung von Testpflanzen im Sichtfeld des Testsystems mit Ansteuerung der automatisch erfassten Zielkoordinaten (Laserpointer) (*oben*) und Auswertung der Treffgenauigkeit von Bilderkennung und Laserstrahlpositionierung (*unten*); (Foto: T. Rath)



Während die Erfassung und die daraus abgeleitete Berechnung der Zielpositionen für 20 Pflanzen im Bild bei einer mittleren Abweichung von  $1,8 \pm 1,1$  mm gelang, betrug die Genauigkeit der Laserstrahlpositionierung in einem Radius von 210 mm um die Nullposition der laserstrahlführenden Servomotoren  $2,4 \pm 1,2$  mm. Durch die begrenzte Winkelauflösung der verwendeten Servomotoren war eine genauere Kalibrierung und folglich eine bessere Laserstrahlpositionierung in den Randbereichen der erfassten Unkrautsituation nicht möglich. Daher sollte zukünftig der Arbeitsbereich des Lasers entsprechend beschränkt werden.

### Einfluss der Unkrautdicke auf die Laserstrahlapplikation beim Testsystem

In Analogie zur Überprüfung der Bildalgorithmen zur Erfassung der Zielkoordinaten (siehe Abb. 3.25, S. 42) wurde das Testsystem auch auf die beschriebenen Unkrautsituationen mit Modellpflanzen eingesetzt. Nach Durchführung der Kalibrierung wurde die Position des sichtbaren Laserspots auf der jeweiligen Modellpflanze ausgewertet, wobei eine Abweichung von maximal 1 mm noch als richtig getroffen gewertet wurde (Abb. 3.30).

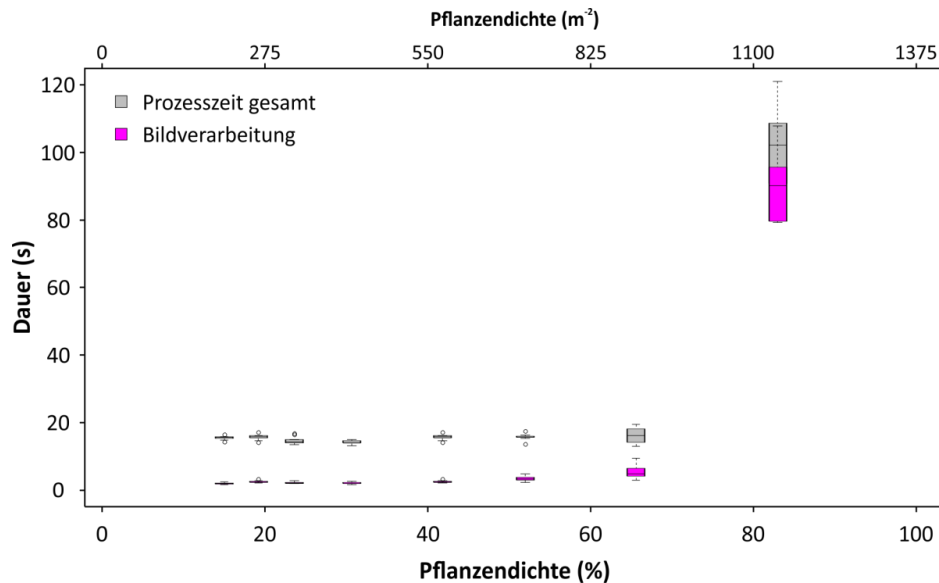


**Abb. 3.30: Abhängigkeit der Laserstrahlpositionierungen auf Modellpflanzen mit dem Testsystem bei ansteigender Pflanzendichte (Versuchsreihe 1: variierende Pflanzenanzahl, Versuchsreihe 2: feste Pflanzenanzahl); 20 Wiederholungen je Unkrautsituation**

Durch die abnehmende Detektionsrate von Zielpositionen bei ansteigender Pflanzendichte (siehe Abb. 3.25, S. 42) nahmen auch die richtigen Laserstrahlpositionierungen ab. Durch einen Vergleich linearer Regressionen der Detektionen und der Lasertreffer wurde deutlich, dass das Verhältnis von Lasertreffern bei ansteigender Pflanzendichte um den Faktor 1,5 stärker abnahm als die Detektionsrate. Ein Unkrautdicke-Applikationsgrenzwert konnte demnach für eine 95 %ige Treffgenauigkeit bei einer Pflanzendichte von ca. 15 % (entspricht 200 Pflanzen m<sup>-2</sup>) ermittelt werden.

### Einfluss der Unkrautdicke auf die Laserstrahlapplikationsgeschwindigkeit beim Testsystem

Der Geschwindigkeits-Applikationsgrenzwert wurde mit dem Testsystem anhand der Prozesszeit für Bildaufnahme, -analyse und Laseransteuerung ermittelt (Abb. 3.31, S. 48).



**Abb. 3.31: Zunahme der benötigten Prozesszeiten für Bilderfassung, Bildverarbeitung und Laserstrahlpositionierung mit dem Testsystem bei ansteigender Pflanzendichte; 10 Wiederholungen bei 8 Unkrautsituationen**

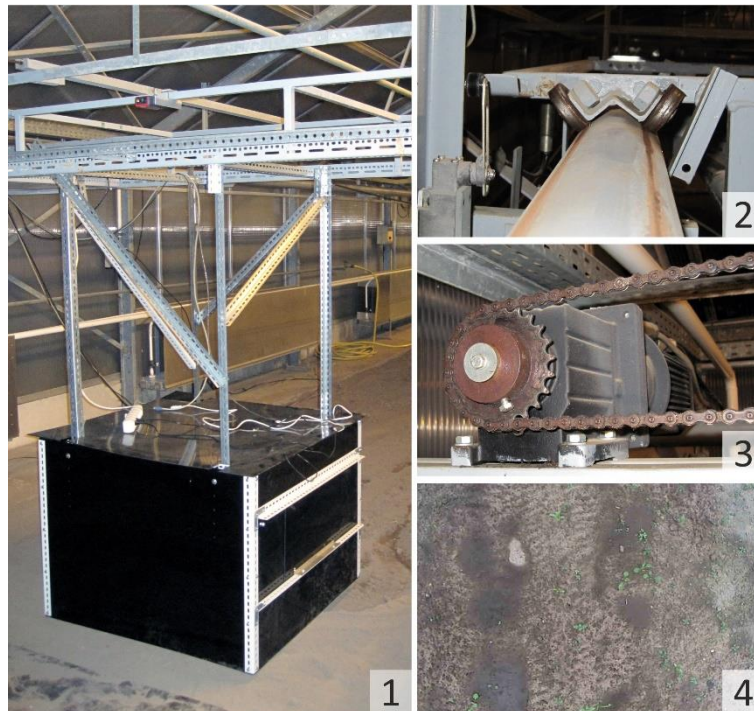
Während die Bildverarbeitungszeit bei ansteigender Pflanzendichte zunächst leicht zunahm, war die Gesamtprozesszeit nahezu konstant. Bei hohen Unkrautdichten war eine deutliche Erhöhung der Prozesszeit an die Bildverarbeitung der komplexen Unkrautsituation gebunden. Somit war der verwendete Bildverarbeitungsalgorithmus bei hohen Pflanzendichten nicht mehr effektiv einsetzbar.

### Entwickelter Prototyp

Der entwickelte Prototyp basierte auf der Verwendung einer CO<sub>2</sub>-Laserstrahlquelle (48-5, Synrad Inc., Mukilteo, USA), die eine unsichtbare Laserwellenlänge von 10.600 nm bei Leistungen bis 50 W emittierte. Die Kamera wurde wie beim Testsystem nahe der Laserstrahlführung montiert. Die auf Basis der Bildverarbeitung automatisierte Steuerung der Laserstrahlableitung im Laserscanner erfolgte wie bereits beschrieben (siehe Abschnitt 3.3.6, S. 21). Mit dem entwickelten Prototyp wurde ebenfalls die Laserstrahlapplikationsgenauigkeit untersucht. Der Prototyp war zudem an einem Schienenwagen in einem Gewächshaus montiert (Abb. 3.32, S. 49).

Die Lasersicherheit bei Betrieb des Systems in einem Gewächshaus war von hoher Bedeutung und wurde durch mehrere Maßnahmen gewährleistet. Am Eingang zum Gewächshaus waren Hinweisschilder und eine bei Laserbetrieb geschaltete Warnleuchte angebracht. Das System war in für CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung stark absorbierenden PMMA Kunststoffplatten (3 mm) eingehaust, um potentiell reflektierte oder gestreute Laserstrahlung abzuschirmen. Neben einem Notaus-Schalter wurde in die Steuerung des Lasers eine softwareseitige Sicherung integriert (Watchdog), die bei einer Unterbrechung eines getaktet, gesendeten Kontrollsignals des Regelrechners an den Laser alle Parameter auf den sicheren Ausgangszustand zurücksetzte. Der Zugang zum Gewächshaus war durch eine begrenzte Anzahl an Schlüsseln auf eine eingewiesene Personengruppe beschränkt. Das Einschalten des Lasers war zudem an einen Schlüsselschalter gebunden. Bei Fahrbetrieb des Schienenwagens wurde der Zugang zum Versuchsbereich weiter eingeschränkt. Während der Laserstrahlapplikationen wurden Laserschutzbrillen als persönliche Schutzausrüstung verwendet.





**Abb. 3.32: Entwickelter Prototyp zur Laserstrahlapplikation an einem Schienenwagen im Gewächshaus (1), Führung auf der Schiene (2), Kettenantrieb mittels Asynchronmotor (3), Unkrautsituation aus Sicht des Prototyps unter Zusatzbelichtung (4); (Fotos: C. Marx)**

### **Kalibrierung des Prototyps**

Da die CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung unsichtbar ist, wurde die Kalibrierung des Prototyps hinsichtlich der Laserstrahlpositionierung anhand von Einbränden in ebenes Testmaterial auf Höhe der Applikationsebene durchgeführt. Dazu wurde ein 5-Punkte-Raster verwendet, wobei die vier äußeren Punkte mit den jeweils maximalen Steuerwerten und der Mittelpunkt des Rasters mit den Steuerwerten (0,0) des Laserscanners angezielt wurden. Durch eine Planfeldoptik im Laserscanner war das Kalibrierungsmuster in der Ebene der Laserstrahlapplikation nicht verzerrt. Daher wurde angenommen, dass die Genauigkeit der Laserstrahlapplikation im gesamten Laserbearbeitungsfeld konstant war.

### **Validierung der Laserstrahlapplikation mit dem Prototyp**

Mit dem Prototyp wurden vergleichbare Treffgenauigkeiten auch bei schrittweiser Bewegung des Lasersystems und verschiedenen Unkrautsituationen erreicht. Nach Auswertung von Videoaufzeichnungen hinsichtlich der wahren Pflanzenpositionen und der anhand von Einbrand sichtbaren Laserstrahlpositionen konnte eine Genauigkeit von  $2,0 \pm 1,1$  mm ermittelt werden.

## 3.5 Diskussion

### 3.5.1 Eignung des Pflanzenmaterials

#### Eignung der ausgewählten Unkrautarten

Die ausgewählten Pflanzen Hühnerhirse (*Echinochloa crus-galli*) und Amaranth (*Amaranthus retroflexus*) gehören zu bedeutenden Unkrautpflanzen im Freilandanbau in Deutschland (Klaaßen & Freitag, 2004). In den verwendeten juvenilen Wuchsstadien wurden nur geringe Unterschiede zu anderen, ähnlich wachsenden (d.h. Keimung aus Samen) Unkrautarten beobachtet. Zwischen der monokotylen ECHCG und dem dikotylen AMARE zeigten sich jedoch wichtige Unterschiede, da die Wuchsformen sich bereits in juvenilen Wuchsstadien differenzierten (Tab. 3.4, S. 24). Während ECHCG aufrecht wächst und schnell große Wuchshöhen erreicht, ist der Wuchs von AMARE eher flächig. Eine Bestimmung von geeigneten Zielpositionen für eine Laserstrahlapplikation bei Verwendung der in Aufsicht sichtbaren Blattflächen war bei dikotylen Pflanzen daher einfacher. Die Blattflächen konnten zudem für eine Unterscheidung von Wuchsstadien verwendet werden (Abb. 3.9, S. 25).

#### Bedeutung von Pflanzenparametern für eine wirksame Laserbestrahlung

Die bis zum Erreichen der untersuchten Wuchsstadien gebildeten Frischmassen waren bei ECHCG höher als bei AMARE (Tab. 3.4, S. 24). Es wurde ein verstärkter Wuchs innerhalb der basalen Blattscheide von ECHCG vor der Anlage eines neuen Blattes vermutet. Für die monokotyle Pflanze war dies zur Erhöhung der Stabilität des aufrechten Wachses erforderlich. Dahingegen entwickelten sich bei AMARE stets Blattpaare, die den Stängel gleichmäßig belasteten und so die Stabilität der zunächst noch niedrig wachsenden Pflanze nicht beeinflussten. Bei AMARE nahm der Trockenmassanteil mit dem Wuchsstadium zu, was auf eine zunehmende Verholzung des Stängels zurückzuführen war. Dadurch wurde die Tragfähigkeit bei zunehmenden Blattflächen (Abb. 3.9, S. 25) gewährleistet. Der Frischmasseunterschied zwischen den monokotylen und den dikotylen Unkräutern war bei den Untersuchungen zur letalen Schädigung durch Laserbestrahlung der Grund für eine unterscheidbare Wirksamkeit gleicher Laserstrahlenergien (u.a. Tab. 3.9, S. 41). Bei jeder Laserbestrahlung wurde stets nur ein Teil der gesamten Frischmasse einer einzelnen Pflanze direkt beeinflusst. Bei einer höheren Frischmasse war somit der Anteil nicht belasteten Pflanzengewebes größer und eine letale Schädigung unwahrscheinlicher. Dies bestätigte sich auch innerhalb einer Pflanzenart, da bei zunehmenden Wuchsstadien und ebenfalls höheren Frischmassen ansteigende Letaldosen ermittelt wurden (Tab. 3.9, S. 41). Unterschiede in der Frischmassebildung bis zum Erreichen bestimmter Wuchsstadien beeinflussten daher auch die unterschiedlichen Letaldosen der in der Literatur untersuchten Unkrautarten (siehe unten, Tab. 3.10, S. 56). Da die Laserstrahlapplikationen stets auf einen Teilbereich der Unkrautpflanzen begrenzt waren, hatte nur der Teil der Frischmasse unterhalb der bestrahlten Pflanzenoberfläche einen Einfluss auf die Wirksamkeit. Unter diesem Aspekt war der Anteil der bestrahlten Frischmasse bei monokotylen Pflanzen höher als bei dikotylen Pflanzen, da die Blattmassen unterschiedlich weit vom Pflanzenzentrum (Meristem) entfernt waren. Machbarkeits-

versuche an Rübenpflanzen (Ergebnisse nicht dargestellt) hatten gezeigt, dass die Anlage der Hypokotylknolle in juvenilen Wuchsstadien zu einer deutlichen Erhöhung der zur Bekämpfung erforderlichen Letaldosis bei einer Laserbestrahlung führte. Der Grad der Konzentration von Frischmasse im Pflanzenzentrum war somit entscheidend für eine wirksame Laserstrahlanwendung.

### 3.5.2 Beurteilung der Schädigung von Unkrautpflanzen durch Laserbestrahlung

#### Absorption und Wirkung von Laserstrahlung auf Pflanzengewebe

Die schädigende Wirkung der Laserstrahlung auf Pflanzengewebe war auf die Absorption der Photonen in den Zellstrukturen und Gewebeflüssigkeiten zurückzuführen (Abb. 3.11, S. 27). In Abhängigkeit der Laserbetriebsart, vor allem in Bezug auf die Wechselwirkungsdauer eines Laserenergiepulses mit dem Gewebe, wurde die eingekoppelte Energie in Wärme überführt. Dies wird als lineare Absorption der Strahlungsenergie bezeichnet, die mit steigender Wechselwirkungszeit mit dem Gewebe zu Photoablation, Vaporisation, Koagulation und photochemischen Prozessen führen kann (Donner, 2012). Nur bei Pulsdauern im Bereich unter 1 ns und Intensitäten über  $10^9 \text{ W cm}^{-2}$  tritt nicht-lineare Absorption in Form von Photodisruption auf.

Mit den gemessenen Spektren (Abb. 3.10, S. 26 und Abb. 3.11, S. 27) wurde bestätigt, dass Pflanzenmaterial im Bereich ab 1250 nm der Absorption von Wasser folgt. Bei kleineren Wellenlängen war die Absorption im Pflanzengewebe an Zellbestandteile und besonders im Bereich photosynthetisch nutzbarer Strahlung an Photopigmente gebunden. Die später abgeleiteten Laserenergien zur letalen Schädigung bei Verwendung unterschiedlicher Lasersysteme (Tab. 3.5, S. 33) belegten den Einfluss der wellenlängenabhängigen Absorption durch ansteigenden Energiebedarf bei geringeren Absorptionswerten. Die oberflächennahe Absorption von  $\text{CO}_2$ -Laserstrahlung ist vielfach belegt (z.B. Blararu et al., 2003; Langner et al., 2006, etc.), wodurch eine lokale Schädigung des Gewebes möglich war. Es war eine Laserintensität von  $2,5 \text{ W mm}^{-2}$  erforderlich, um Pflanzengewebe aufzutrennen (Abb. 3.19, S. 33 ff.). Zur Beurteilung dieser Laserintensität wurde im Folgenden eine vollständige Pyrolyse eines bestrahlten Gewebes berechnet. Dazu wurden die Standardbildungsenthalpien von Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $286 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) und Glukose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ,  $1260 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) herangezogen (Atkins & de Paula, 2009). Unter den Annahmen, dass die Bildungsenthalpie von Zellulose ( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ) doppelt so hoch ist wie die von Glukose und dass eine Pflanze vereinfacht auf die Bestandteile 85 % Wasser und 15 % Zellulose reduziert werden kann, konnte die theoretische Pyrolyseenergie von Pflanzengewebe berechnet werden (Marx et al., 2012d):

$$0,85 \cdot 286 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}(\text{H}_2\text{O})} \cdot \frac{1}{18,02 \frac{\text{g}}{\text{mol}(\text{H}_2\text{O})}} + 0,15 \cdot 2520 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}(\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11})} \cdot \frac{1}{342,30 \frac{\text{g}}{\text{mol}(\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11})}} = 14,6 \frac{\text{kJ}}{\text{g}} \quad [3.12]$$

Nach einer Bestimmung von Blattflächen mit den zugehörigen Blattfrischmassen (Abb. 3.9, S. 25) konnte das Flächengewicht von Blattmaterial (bspw. AMARE) zu  $220 \mu\text{g mm}^{-2}$  ermittelt werden. Mit der Intensität  $2,5 \text{ W mm}^{-2}$  ( $\text{CO}_2$ -Laser) wurde eine Blattfläche von  $2,3 \text{ mm}^2$  pyrolysiert (Abb. 3.19, S. 33, Bild 1), was folglich einer Masse von ca.  $0,5 \text{ mg}$  entsprach. Die theoretische Pyrolyseenergie betrug demnach  $7,3 \text{ J}$ . Dieser Wert passte zu der tatsächlich applizierten Laserenergie von  $8,9 \text{ J}$ ,

wenn der Anteil der Bestrahlung des um das pyrolysierte Gewebe herum befindlichen Bereiches berücksichtigt wurde. Somit wurde die ermittelte Intensität ( $2,5 \text{ W mm}^{-2}$ ) zur Auftrennung von Blattgewebe bestätigt. Andere Untersuchungen hatten hingegen gezeigt, dass eine Pyrolyse durch Laserbestrahlung einen Wirkungsgrad von ca. 40 % gegenüber Messungen im thermischen Gleichgewicht hatte (Ostendorf et al., 2002). Vor diesem Hintergrund stellte die im Laserstrahlprofil eines  $\text{CO}_2$ -Lasers rasche Überhitzung des zentralen Pflanzenmaterials über die Zersetzungstemperatur hinaus einen Energieverlust dar, der durch eine optimierte Fokussierung mittels Flat-Top-Profil hätte verhindert werden können.

Bei Verwendung von KurzpulsLasern (SpitLight DPSS 250, InnoLas Laser GmbH, Krailling, Deutschland) wurden vergleichsweise geringe Laserenergien (hier bspw. 125 mJ) übertragen. Durch die kurze Bestrahlungszeit bei ca. 10 ns wurden jedoch hohe Intensitäten von ca.  $440 \text{ kW mm}^{-2}$  im Laserstrahl  $\varnothing 6 \text{ mm}$  erreicht. Indes war der Effekt auf das Blattmaterial mit dem einer  $\text{CO}_2$ -Laserbestrahlung vergleichbar (Abb. 3.19, S. 33, Bild 3). Gegenüber der bei  $\text{CO}_2$ -Laserbestrahlung stattfindenden Pyrolyse des Pflanzenmaterials mussten somit bei kurzen Einwirkzeiten andere Prozesse bei deutlich höheren Intensitäten ablaufen. Vermutlich handelt es sich um Photoablation, bei der das Material unter Entstehung eines Plasmas verdampft. Die Wirkung der Bestrahlung bliebe unmittelbar auf die Oberfläche der Gewebestruktur begrenzt. Durch wiederholte Bestrahlungen (Repetitionsrate des Lasersystems) wäre somit lediglich ein Schichtabtrag des Pflanzengewebes anstatt einer systemischen Wirkung möglich. Bestrahlungsversuche hatten bestätigt, dass auf diese Weise keine letalen Schädigungen erzeugt werden konnten (Ergebnisse nicht dargestellt).

### **Schädigung in Abhängigkeit der Laserbestrahlungsdauer**

In der Literatur ist der Einfluss der Bestrahlungsdauer auf die Effektivität der Bestrahlung nur anfänglich untersucht. Couch und Gangstad (1974) arbeiteten bereits mit einem 2.000 W  $\text{CO}_2$ -Laser, sie machten jedoch keine Angabe zur notwendigen Bestrahlungsdauer (vermutlich ca. 40 ms). Bayramian et al. (1992) extrapolierten lediglich anhand einer zur Schädigung notwendigen Energie ( $\text{CO}_2$ -Laser mit 10 W Leistung genutzt), dass ein Hochleistungslaser bei 1.000 W Leistung pro Pflanze ca. 17,3 ms eingesetzt werden müsste. Heisel et al. (2001) arbeiteten mit einer Intensität von  $33 \text{ W mm}^{-2}$  ( $\text{CO}_2$ -Laser), mit der sie Stängel von Unkrautpflanzen ( $\varnothing 1 \text{ mm}$ ) bei einer Schneidenergie von ca.  $1 \text{ J mm}^{-1}$  trennten, d.h. die Applikationszeit pro Stängel betrug ca. 30 ms. Mathiassen et al. (2006) nutzten ein cw-Lasersystem (532 nm, maximal 5 W Leistung) und stellten fest, dass eine Bestrahlungszeit von 1 s wirksam war. Auch sie machten keine Angaben über den Einfluss gleicher Laserenergie bei unterschiedlichen Bestrahlungszeiten. Bei Langner et al. (2006) waren 6 Pulse mit je 10  $\mu\text{s}$  Pulsdauer und jeweils 5 J Pulsenergie eines  $\text{CO}_2$ -Lasers letal wirksam. Angaben über die Pulsfrequenz fehlten jedoch. Rosenberg (2006) ging für die Auslegung eines mobilen Fahrsystems von ca. 20 ms als verfügbarer Bestrahlungsdauer pro Unkrautpflanze aus. Gude (2012) verwendete Bestrahlungszeiten zwischen 25 ms und 100 ms wobei letale Schädigungen auch bei kurzen Applikationszeiten auftraten (4 kW Faserlaser (1.070 nm), 600 W  $\text{CO}_2$  Laser (10.600 nm)). Zusammenfassend war eine ganzheitliche Schädigung der Pflanzen scheinbar nicht an die Applikationszeit gebunden, solange die Pulsdauer größer 10  $\mu\text{s}$  und die Pulsenergie größer 1 J war.

Bei Verwendung von Lasersystemen zur Unkrautbekämpfung in Fahrsystemen mit einer Arbeitsgeschwindigkeit von  $6 \text{ km h}^{-1}$ , einer durchschnittlichen Unkrautdichte von  $200 \text{ Pflanzen m}^{-2}$  (entspricht bei einem Reihenabstand von  $30 \text{ cm}$  und einem um die Reihe zu bearbeitenden Bereich von  $10 \text{ cm}$  ca.  $20 \text{ Pflanzen}$  auf einem Meter Pflanzreihe) und unter der Annahme einer sicheren Zielpositionierung bei der gegebenen Geschwindigkeit wäre die Applikationszeit auf ca.  $30 \text{ ms}$  pro Unkrautpflanze beschränkt. Mit den Erkenntnissen zum Einfluss der Bestrahlungsdauer war für diese Zeitintervalle noch eine lineare Absorption der Laserstrahlung mit ganzheitlicher Wirkung möglich. Für eine effektive Nutzung der applizierten Laserenergie waren jedoch längere Bestrahlungszeiten sinnvoll, da dann eine Verteilung der Wärme im Pflanzengewebe und somit eine größere Schädigung bevorzugen wurde.

Die Möglichkeiten der Messungen mit der Fluoreszenz-Kamera waren durch ihre geringe Auflösung begrenzt (Abb. 3.18, S. 32). Daher konnten beobachtbare Effekte der Strahlungsabsorption auf die Photosyntheseaktivität bei juvenilen Unkrautpflanzen nicht ermittelt werden. Auch bei der Untersuchung laserbestrahlter Blattflächen großer Unkrautpflanzen zeigten sich Probleme. Vor der Fluoreszenz-Messung mussten die zu untersuchenden Pflanzen dunkeladaptiert werden. Die Dauer und der erreichte Grad der Dunkeladaption waren für bereits gestresste Pflanzen jedoch nicht eindeutig zu bestimmen. Nach der Fluoreszenz-Aufnahme wurde in und neben laserbestrahlten Flächen hohe Chlorophyllfluoreszenz nachgewiesen (siehe Abb. 3.18, S. 32). Da das bestrahlte Pflanzengewebe jedoch sichtbar geschädigt und teilweise welk war, waren die Beobachtungen auf eine Reflexion der Anregungsstrahlung durch die veränderte Pflanzenoberfläche zurückzuführen. Der Einsatz der Fluoreszenz-Kamera zum selektiven Nachweis von letalen Schädigungen juveniler Unkrautpflanzen durch Laserbestrahlung (z.B. innerhalb eines Kulturpflanzenbestandes) war daher mit dem verwendeten System nicht möglich.

### **Schädigung in Abhängigkeit der Laserdosis**

Bei Verwendung ausreichender Laserenergien wurde auch bei stationärer Bestrahlung anhand von Dosis-Wirkung-Beziehungen prinzipiell bestätigt, dass eine effektive Unkrautbekämpfung mit den verwendeten Lasersystemen möglich war. Dabei wurden Unterschiede in der Wirksamkeit deutlich, die mit der Pflanzenart zusammenhängen (siehe Abb. 3.20, S. 35). Der als offen zu bezeichnende Wuchs dikotyler Pflanzen war dabei für die Laserstrahlung zugänglicher als der eher geschlossene Wuchs monokotyler Pflanzen. Somit war bei monokotylen Pflanzen eine geringere Treffsicherheit und somit zur Kompensation ein höherer Bedarf an Laserenergie zur letalen Schädigung gegeben. Dies zeigte sich bei Verwendung von  $\text{CO}_2$ -Laserstrahlung, die in jedem Pflanzenmaterial ähnlich gut absorbiert wurde, wobei bei der Bestrahlung von ECHG höhere Laserenergien erforderlich waren. Diese unterschiedliche Sensibilität der behandelten Pflanzen könnte in zukünftigen Applikationssystemen berücksichtigt werden. Bei der Verwendung von Diodenlaserstrahlung zeigten mono- und dikotyle Pflanzen ein unterschiedliches Absorptionsverhalten (Ergebnisse nicht dargestellt). Während die dikotylen Pflanzen die Strahlung zu ca.  $10 \%$  absorbierten, erreichten monokotyle Pflanzen Werte bei ca.  $40 \%$ . Dadurch drang die Strahlung unterschiedlich tief in das Pflanzengewebe ein bzw. transmittierte bis zur Bodenoberfläche. Ein solcher Effekt wurde oftmals bei hohen Laserenergien

beobachtet, wobei transmittierte Laserstrahlung an der Bodenoberfläche zu Verbrennungen führte. Dadurch waren Effekte auf den Wurzelraum der bestrahlten Pflanzen nicht auszuschließen. Prinzipiell wurde es als nachteilig erachtet, wenn die Laserenergie maßgeblich über eine Erwärmung des Bodens wirkte, da entsprechend hohe Laserenergien eingesetzt werden müssten.

In den Grundlagenuntersuchungen (siehe Abb. 3.21, S. 36) wurde bereits gezeigt, dass die Wachstadien der behandelten Pflanzen einen entscheidenden Einfluss auf die  $ED_{90}$ -Werte hatten. Während große Pflanzen nur mit hoher Laserenergie behandelt werden konnten, wurden kleine Pflanzen bereits bei geringen Laserenergien geschädigt. Entsprechend waren die Dosis-Wirkungs-Beziehungen zu höheren Laserdosen verschoben, weshalb ein zukünftiges Applikationssystem auf möglichst kleine Pflanzen fokussieren sollte.

Neben der schädigenden Wirkung bei hohen Laserenergien wurde in Ansätzen auch eine Wachsförderung durch Laserbestrahlung beobachtet, insbesondere bei Laserenergien, die kleiner als die ermittelten  $ED_{10}$ -Werte waren (siehe Abb. 3.21, S. 36). Solche Effekte, bei denen eine geringe Dosierung einer eigentlich schädigenden Maßnahme zu einer positiven biologischen Wirksamkeit führt, werden als Hormesis bezeichnet. Wachsfördernde Effekte wurden bereits bei bestimmten Dosierungen von Herbiziden kurz vor Übergang in wuchsdepressive Phasen festgestellt (z.B. Belz & Piepho, 2012). Die bei der Laserbestrahlung von Unkrautpflanzen beobachteten Fallzahlen mit vermuteter Hormesis reichten für eine statistische Analyse nicht aus. Die Photonenenergie der langwelligen Laserstrahlung konnte nicht direkt in den Photosystemen des Photosynthesekomplexes verwendet worden sein. Dennoch wurde beobachtet, dass das Pflanzenwachstum offenbar nachhaltig begünstigt wurde, auch wenn die Laserbestrahlung einmalig und kurzzeitig war. Der Applikationsort am Meristem könnte die systemische Wirkung nicht-letaler Laserbestrahlung begründen. Vergleichbare Wuchsvorteile durch temporäre Temperaturerhöhungen, die lokal beschränkt auf bestimmte Pflanzenteile einwirkten, konnten in anderen Studien nachgewiesen werden (z.B. Bewurzelung des basalen Endes von Stecklingen; Shibuya et al., 2013) Bezüglich wuchsfördernder Wirkungen durch Laserbestrahlung ist daher weiterer Forschungsbedarf erforderlich. Im Sinne des Einsatzes von Laserstrahlung zur Unkrautbekämpfung ist es somit für zukünftige Applikationen notwendig, dass die eingekoppelten Laserenergien mindestens die ermittelten  $ED_{10}$ -Werte übertreffen, damit nicht eine Wachsförderung des Unkrauts begünstigt wird.

### **Schädigung in Abhängigkeit des Temperaturanstieges**

In der Literatur sind erforderliche Temperaturen zur Zerstörung von Pflanzengewebe durch Laserbestrahlung belegt. Griepentrog et al. (2006) gaben an, dass eine Zerstörung von Pflanzenzellen ab Temperaturen von 55 °C beginnt, da dann die Denaturierung von Proteinen einsetzt. Als Hintergrund wurde ein Wärmetransportmodell zur Berechnung der masseabhängigen Temperaturerhöhung bei thermischer Belastung (Abflammen) angeführt. Zur sicheren, letalen Schädigung wurden Temperaturerhöhungen auf 94 °C genannt. Izard (2008) untersuchte den Einfluss ansteigender Bestrahlungsdauern auf die mittels Thermographie gemessene Oberflächentemperatur von Pflanzen. Bei einer Laserleistung von 12 W ( $CO_2$ -Laser) und einer Bestrahlungsdauer von 500 ms (6 J appliziert) wurde die Pflanzentemperatur auf ca. 45 °C erhöht. Bei einer Bestrahlungsdauer von 2500 ms (30 J) wurden

ca. 80 °C erreicht. Wie bei den anderen Untersuchungen auch wurden keine Experimente bei konstanten Energieeinträgen und unterschiedlichen Bestrahlungsdauern durchgeführt.

Mit den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen mittels Thermographie wurden an der Oberfläche des bestrahlten Pflanzenmaterials laserleistungs- und ortsabhängige Temperaturgradienten ermittelt (siehe Abb. 3.13, S. 28 und Abb. 3.14, S. 29). Letale Schädigungen korrelierten dabei mit Gradienten zwischen mindestens 1 und 2,5 K ms<sup>-1</sup> in einem radialen Abstand bis 2 mm zur Mitte der laserbestrahlten Fläche. Für eine geforderte Temperaturerhöhung von ca. 50 K könnte bei einer Bestrahlungsdauer von ca. 20 ms bereits ein Laser mit 70 W Laserleistung eingesetzt werden. Die Temperaturerhöhung wäre kurzzeitig gegeben, jedoch wäre die insgesamt eingekoppelte Energie mit 1,4 J deutlich zu gering, um eine ganzheitliche Schädigung hervorzurufen.

Für die thermographischen Messungen war eine Kalibrierung hinsichtlich des Emissionskoeffizienten der Blattoberfläche und der Winkelanstellung zwischen Thermokamera und der betrachteten Fläche erforderlich (Minkina & Dudzik, 2009). Die Genauigkeit dieses Verfahrens für Messungen während Laserbestrahlungsversuchen war jedoch aus vier Gründen beschränkt. (1) Die Laserbestrahlung führte schnell zu hohen Temperaturen der Pflanzenoberflächen, die nicht mehr im untersuchten Kalibrierungsbereich lagen. (2) Die hinsichtlich Ausrichtung und Abstand variierenden Pflanzenoberflächen wurden aus einem Blickwinkel aber nicht orthogonal gemessen. (3) Reflexionen und der Einfluss von Strahlquellen aus der Umgebung auf die beobachtete Fläche (auch Menschen sind thermische Strahler) konnten nicht ausgeschlossen werden. (4) Eine fortschreitende Laserbestrahlung konnte zu einer Veränderung der Gastemperatur und der Gaszusammensetzung in der Messstrecke zwischen Kamera und bestrahlter Pflanze führen. Dadurch war auch eine Veränderung der Emissionskoeffizienten bei fortschreitender Bestrahlung durch Verdampfung von Pflanzenmaterial wahrscheinlich (Marek & Nitsche, 2007). In jedem genannten Fall wurde das thermographisch aufgezeichnete Bild gestört und die Messung entsprechend verfälscht. Mit Thermographie waren daher Aussagen über Absoluttemperaturen nicht möglich, wohingegen lokale Temperaturänderungen bei aktiven Prozessen (Laserbestrahlung) gemessen werden können. Die beobachteten Effekte (Denaturierung der Proteinstrukturen auf der Oberfläche des Pflanzengewebes (weißliche Verfärbung) ab ca. 60 °C oder das Aufplatzen von Zellstrukturen mit Austritt von Zellwasser ab ca. 90 °C) passten jedoch mit den gemessenen Temperaturerhöhungen überein. Die generelle Einsetzbarkeit von Thermographie zur Messung von Blatttemperaturen war in der Literatur auch an Kulturpflanzen belegt (López et al., 2012). Alternative Verfahren zur Messung der Temperaturgradienten im Pflanzengewebe waren nicht praktikabel. Die invasive Einbringung von Thermoelementen in das laserbestrahlte Gewebe scheiterte an der direkten Beeinflussung der Pflanzenvitalität. Kontaktthermometer waren aufgrund der besonders kleinen, bestrahlten Flächen nicht anwendbar.

Bei Messung der Oberflächentemperaturen konnten auch Effekte auf die Wärmeverteilung bei unterschiedlicher Laserstrahlführung beurteilt werden. Eine stationäre Bestrahlung (Laserstrahl verweilt für eine bestimmte Dauer an einem Ort) wurde mit einer pendelgeführten Bestrahlung (Laserstrahl wird in dicht aneinander liegenden Kreisbahnen achszentrisch zum anvisierten Punkt geführt, so genanntes Wobbeln) verglichen (siehe Abb. 3.15, S. 30). Es zeigte sich einerseits, dass ähnlich hohe Temperaturen erreicht werden konnten, und andererseits, dass die Temperaturverteilung zu den

Rändern der bestrahlten Fläche begrenzt war. Der wesentliche Vorteil des Wobbelns war daher die Möglichkeit, bei vergleichbarer Schädigungswirkung in der Fokusslage des Lasers zu arbeiten. Dadurch wäre die Verwendung hoher Intensitäten bei vergleichsweise geringer Laserleistung möglich. Für ein zukünftiges Applikationssystem wäre dieser Vorteil jedoch mit einem höheren Aufwand und Zeitbedarf für die Laserstrahlführung am Zielort verbunden. Da das Laserstrahl-Wobbeln zur Pflanzenschädigung erstmalig untersucht wurde, war kein Vergleich zu anderen Untersuchungen möglich. Der Einsatz von pendelgeführten Lasersystemen ist aufgrund der gleichmäßigen Bestrahlung aber bereits in anderen Bereichen z.B. der Metall- und Kunststoffverarbeitung verbreitet.

### Beurteilung der Wirksamkeit von Laserbestrahlungen

Mit den durchgeführten Untersuchungen und der Modellierung der letalen Schädigung durch Laserbestrahlung konnte das Verständnis zur Wirkung von Laserstrahlung auf Pflanzen erweitert werden. So war zunächst ein Vergleich der eigenen sowie der in der Literatur beschriebenen Mindestlaserenergien zur Bekämpfung von Pflanzen möglich (Tab. 3.10).

**Tab. 3.10: Vergleich der LD<sub>90</sub> Laserenergien (in J) zur wirksamen Schädigung von Pflanzen in juvenilen Wuchsstadien (Literaturquellen und eigene Untersuchungen)**

Laserwellenlänge (nm)	Laserspottdurchmesser (mm)	Pflanzenart in juvenilen Wuchsstadien										Quelle		
		monokotyl			dikotyl									
		Acker-Fuchsschwanz, <i>A. myosuroides</i>			zurückgeb. Amaranth, <i>A. retroflexus</i>									
		Flug-Hafer, <i>A. fatua</i>			Acker-Hundskamille, <i>A. arvensis</i>									
		Hühnerhirse, <i>E. crus-galli</i>			Raps, <i>B. napus</i>									
					Weißer Gänsefuß, <i>C. album</i>									
					Kleine Wasserlinse, <i>L. minor</i>									
					Virginischer Tabak, <i>N. tabacum</i>									
					Klatschmohn, <i>P. rhoeas</i>									
					Gewöhnliche Vogelmiere, <i>S. media</i>									
					Geruchlose Kamille, <i>T. inodorum</i>									
					Gewöhnlicher Löwenzahn, <i>T. officinale</i>									
					Feldsalat, <i>V. olerifolia</i>									
					Persischer Ehrenpreis, <i>V. persica</i>									
532	0,9				10*				1	2				Mathiassen et al., 2006
	1,8				10				1	3				Mathiassen et al., 2006
810	1,2				181*				68*	45				Mathiassen et al., 2006
	2,4				452*				59	45*				Mathiassen et al., 2006
940	6,0		34					34						Wöltjen et al., 2008
1.064	50,0											98		Langner et al., 2006
1.070	2,0	400			200									Gude, 2012
	n.a.							20*						Couch & Gangstad, 1974
	n.a.											30		Langner et al., 2006
	0,6	17												Bayramian et al., 1992
10.600	2,0	38			25									Gude, 2012
	3,0								30	30			60*	Izard, 2008
	5,2								27	17			46*	Izard, 2008
	5,2					6								Griepentrog et al., 2006
	6,0		21					2						Wöltjen et al., 2008
10.600	3,0		61		25									modelliert (siehe oben),
	4,2		54		46									Marx et al. 2012d
	6,0		149		71									

\*: geschätzt; n.a.: nicht angegeben



Es wurden insgesamt drei monokotyle und zwölf dikotyle Pflanzenarten mit unterschiedlichen Lasersystemen bestrahlt. Bei den in der Literatur angegebenen Werten waren Wuchsstadien nur für den Bereich junger Pflanzen deklariert. Eine Zuordnung zur BBCH Skala war daher nicht möglich. Es zeigte sich, dass die für letale Schädigungen notwendige Laserenergie abhängig war von der verwendeten Laserwellenlänge mit besonders hohen Werten im Bereich 810 nm bis 1.070 nm. Bei den verwendeten Laserspotdurchmessern wurde die Tendenz beobachtet, dass bei größeren Flächen, über die die Laserenergie in das Pflanzenmaterial eingekoppelt wurde, geringere Laserenergien letal wirkten. Es zeigte sich auch, dass die erforderlichen Laserenergien stark von der bestrahlten Pflanzenart abhingen, wobei die tatsächlichen Wuchsgrößen nicht herangezogen werden konnten. Lediglich die in der vorliegenden Arbeit ermittelten letalen Laserenergien waren mit einem statistischen Schädigungsmodell abgesichert, wodurch sich die Unterschiede zu anderen Untersuchungen begründeten.

### Vergleich der Wirksamkeit und der Wirkungsgrade

Um ein geeignetes Lasersystem auf Basis der erforderlichen Laserenergien (siehe Tab. 3.10, S. 56) herauszustellen, wurden die Letaldosen hinsichtlich von Wirkungsgraden bewertet. Der Gesamtwirkungsgrad einer letalen Laserbestrahlung ( $\eta_{\text{gesamt}}$ ) setzte sich dabei aus der Wirksamkeit auf das Pflanzengewebe ( $\eta_{\text{w}}$ ), gemessen an den ermittelten Absorptionskoeffizienten (siehe Abb. 3.10, S. 26 und Abb. 3.11, S. 27), und aus dem elektro-optischen Wirkungsgrad ( $\eta_{\text{eo}}$ ) zwischen elektrischer Anschlussleistung und Laserausgangsleistung des Lasersystems zusammen. Für die Wirksamkeit der CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung wurde ein Wert von  $\eta_{\text{w}} = 0,96$  angenommen, da langwellige Strahlung im Pflanzengewebe aufgrund des hohen Wasseranteils nahezu vollständig absorbiert wird. Die Wirksamkeiten ( $\eta_{\text{w}}$ ) der weiteren Laserstrahlquellen wurden im Verhältnis der Absorptionskoeffizienten zu dem von CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung bei 10.600 nm ( $10^5 \text{ m}^{-1}$ ) berechnet. Die elektro-optischen Wirkungsgrade waren abhängig von dem verwendeten Lasersystem und konnten nach Herstellerangaben ermittelt werden. Daraus wurden die Gesamtwirkungsgrade berechnet (Tab. 3.11).

**Tab. 3.11: Vergleich der maximalen Effizienz hinsichtlich Absorption bei der Bestrahlung von Pflanzen ( $\eta_{\text{w}}$ , siehe Abschnitt 3.4.2) sowie der elektro-optischen Wirkungsgrade ( $\eta_{\text{eo}}$ ) unterschiedlicher Lasersysteme (Herstellerangaben)**

[1] Coherent Inc., Santa Clara, CA, USA; [2] Laserline GmbH, Mülheim-Kärlich, Deutschland;  
[3] Trumpf GmbH + Co. KG, Ditzingen, Deutschland; [4] Rofin-Sinar Technologies Inc., Plymouth, MI, USA  
[5] IPG Laser GmbH, Burbach, Deutschland

Lasersystem	$\eta_{\text{w}}$	$\eta_{\text{eo}}$	$\eta_{\text{gesamt}}$
Festkörperlaser, Nd:YAG (SHG) Stab (532 nm) [1]	0,63	0,05	0,032
Diodenlaser, InGaAs (810 nm, 940 nm) [2]	0,07	0,30	0,021
Festkörperlaser, Yb:YAG Scheibe (1.030 nm) [3]	0,08	0,25	0,020
Festkörperlaser, Nd:YAG, Stab (1.064 nm) [1]	0,06	0,10	0,006
Faserlaser, Yb (1.070 nm) [5]	0,06	0,30	0,018
Faserlaser, Tm (1.908 nm) [5]	0,90	0,10	0,090
Gaslaser, CO <sub>2</sub> (10.600 nm) [4]	0,96	0,15	0,144

Demnach war der Einsatz eines CO<sub>2</sub>-Lasersystems gegenüber anderen Laserstrahlquellen vorteilhaft. Auch könnten Diodenlasersysteme bei stärker absorbierten Wellenlängen für zukünftige Applikationssysteme eingesetzt werden. Insbesondere wären dabei eine kompakte Bauweise und eine vereinfachte Laserstrahlführung mittels Lichtleitfasern von Bedeutung.

Mit den elektro-optischen Wirkungsgraden (Tab. 3.11, S. 57) konnte der minimale Gesamtenergiebedarf je Unkrautpflanze im Vergleich zu ersten Abschätzungen (Tab. 3.5, S. 33), der modellierten Werte (Tab. 3.9, S. 41) und den Literaturangaben (Tab. 3.10, S. 56) dargestellt werden (Tab. 3.12). Dabei wurde ein Dieselgenerator-Wirkungsgrad (Annahme bei suboptimaler Auslastung:  $\eta_{el} = 0,3$ ) zur Bereitstellung der erforderlichen elektrischen Energie an einem fiktiven Einsatzort eines zukünftigen Laserapplikationssystems berücksichtigt. Als mäßig hohe Verunkrautung wurde eine Unkrautdichte von 200 Pflanzen m<sup>-2</sup> angenommen, d.h. bei Annahme eines zu säubernden Bereichs von je 5 cm zu beiden Seiten der Pflanzreihe (Reihenabstand 0,33 m) waren ca. 60 Pflanzen m<sup>-2</sup> und somit ca. 20 Unkrautpflanzen pro 1 m Pflanzreihe zu behandeln.

**Tab. 3.12: Vergleich des geschätzten Energiebedarfs zur Unkrautbekämpfung mittels Laserstrahlung (eigene Messwerte und Literaturangaben, vgl. Tab. 3.5, S. 33, Tab. 3.9 und Tab. 3.10)**

Wellenlänge (nm)	Lasertyp (-)	Mittelwert minimale Letaldosen (J)	elektro-optischer Wirkungsgrad (-)	Energiebedarf je Pflanze (J)	Energiebedarf bei 60 Pfl. m <sup>-2</sup> (MJ ha <sup>-1</sup> )
532	Diodenlaser	2	0,20	9	18
532	Festkörperlaser	14	0,05	280	560
810	Diodenlaser	54	0,30	180	360
940	Diodenlaser	34	0,30	113	247
1.064	Festkörperlaser	98	0,10	980	1.960
1.070	Faserlaser	300	0,30	1.000	2.000
1.908	Faserlaser	23	0,10	230	460
10.600	Gaslaser	26	0,15	173	347
10.600	Gaslaser	50*	0,15	333	666

\* laut Schädigungsmodell für mittlere Wuchsgrößen

Aufgrund der unterschiedlichen Letaldosen in Kombination mit lasersystembedingten elektro-optischen Wirkungsgraden wurden variierende Gesamtenergiebedarfe von 18 bis 2.000 MJ ha<sup>-1</sup> berechnet. Dies war auf die Verwendung von minimalen Letaldosen zurückzuführen, die bei unterschiedlichen Unkrautarten, Wuchsstadien und Laserstrahlapplikationsparametern (insbesondere Laserspotdurchmesser) ermittelt wurden. Unter der Annahme, dass die CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung nahezu vollständig absorbiert wurde, waren die teils geringeren Letaldosen bei anderen Laserstrahlssystemen für vergleichbare Versuchsbedingungen aufgrund der ermittelten Absorptionscharakteristik nicht wahrscheinlich. Zudem fehlte anderen Untersuchungen eine statistische Absicherung durch Schädigungsmodelle. Ein realistischer Gesamtenergiebedarf liegt somit zwischen 1.000 und 2.000 MJ ha<sup>-1</sup> für eine selektive Unkrautbekämpfung mittels Laserstrahlung.

### **3.5.3 Bewertung der Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Unkrautpflanzen**

Unter Berücksichtigung der statistischen Absicherung und der damit verbundenen Erhöhung der LD<sub>90</sub>-Werte passten die modellierten Laserenergien (Tab. 3.9, S. 41) gut zu den Literaturwerten. Daher wurde angenommen, dass das entwickelte Schädigungsmodell generalisierbar für die laser-gestützte Unkrautbekämpfung war.

Die Modellgüte war durch Fehler 1. und 2. Art begrenzt, die in Summe maximal 16 % des vorhergesagten Validierungsdatensatzes ausmachten (Tab. 3.8, S. 39). Die Modellfehler könnten auf Fehlern beruhen, die bei der Erstellung des Trainingsdatensatzes aufgetreten waren. Dazu gehörte etwa eine Fehlklassifizierung der Unkrautwuchsgrößen zum Zeitpunkt der Laserbestrahlung. Jede individuelle Pflanze zeigte dabei kleine Wuchsunterschiede, sodass das Wuchsverhalten zwischen dem Zeitpunkt der Laserbestrahlung und der Auswertung auch innerhalb der 10 Wiederholungen variieren konnte. Darüber hinaus konnte sich bei der manuellen Positionierung der Pflanzen im Arbeitsbereich des Lasers die Zielgenauigkeit auf das Meristem bedingt durch unterschiedliche Wuchsformen abweichen. Bei kleinen Laserstrahldurchmessern auf Höhe der Meristeme konnten bereits kleine Positionsabweichungen während der Laserbestrahlung zu einem Fehltreffer führen, sodass keine ganzheitliche Wirkung möglich war. Bei hohen Intensitäten konnte zudem das Pflanzengewebe schnell perforiert werden, sodass nicht die gesamte Energiemenge eingekoppelt wurde. Darüber hinaus konnte ein Teil der Laserstrahlung bis zur Substratoberfläche transmittieren, sodass Effekte auf den Wurzelbereich nicht ausgeschlossen werden konnten. Zukünftige Versuche zur Laserbestrahlung von Pflanzen sollten daher mit noch höheren Fallzahlen durchgeführt werden, um pflanzenindividuelle und handhabungstechnische Einflüsse weiter zu mindern.

### **3.5.4 Verwendbarkeit der Bildverarbeitung zur Bestimmung von Zielpositionen**

Die eingesetzten technischen Maßnahmen und bildverarbeitenden Verfahren zur Erfassung und Analyse der Unkrautsituation im Arbeitsbereich der Testsysteme erreichten hohe Genauigkeiten von < 1,8 mm bei Positionsbestimmungen (Abb. 3.29, S. 46). Auch bei ansteigenden Unkrautdichten wurde ein Großteil der vorhandenen Pflanzen erkannt und die richtigen Zielkoordinaten abgeleitet (Abb. 3.25, S. 42). Zudem nahm die benötigte Prozesszeit der Bildverarbeitungsalgorithmen erst ab hohen Pflanzendichten merklich zu (Abb. 3.31, S. 48). Für eine zukünftige Applikation wäre jedoch eine sichere und schnelle Erkennung > 95 % aller tatsächlich vorhandenen Unkräuter gefordert, da dies entscheidend für eine einmalig durchgeführte Laserstrahlapplikation wäre. Durch eine Optimierung der verfügbaren Rechenleistung sowie einen Transfer des softwarebasierten Programmes in eine Hardwarelösung könnte die benötigte Bildverarbeitungszeit verringert werden. Auf dem Gebiet der automatischen Unkrauterkenkung unter Freilandbedingungen wurden und werden weiterhin viele Untersuchungen durchgeführt, um teilflächenspezifische oder selektive Unkrautbekämpfungsmaßnahmen zu verbessern. Da die Optimierung der Bildverarbeitung zur Unkrauterfassung nicht der Kern der vorliegenden Arbeit war, sei für Hinweise zu aktuellen Trends auf Pastrana (2012) verwiesen.

### 3.5.5 Eignung des Testsystems und des Prototypen

#### Genauigkeit der Laserstrahlapplikation

Neben der Erfassung der Unkrautsituation und der Ableitung von Zielpositionen war die Positionierung des Laserstrahls für einen Bekämpfungserfolg entscheidend. Die Ergebnisse mit beiden Testsystemen zeigten hohe Positionierungsgenauigkeiten  $< 2$  mm (Abb. 3.29, S. 46). Die verbleibende Unsicherheit war auf mögliche Fehler bei der Kalibrierung der Laserstrahlführung zurückzuführen. Dabei wurde die Reflexion bzw. der Einbrand des Laserstrahls auf einer ebenen Oberfläche verwendet, um bildanalytisch aus den Soll- und Ist-Werten der Lasersteuerung eine Transferfunktion abzuleiten (Abb. 3.28, S. 45). Diese Art der Kalibrierung galt jedoch nur für eine bestimmte Applikationshöhe (Abstand der Laserstrahlführung und der Kamera zur Bodenoberfläche). Bei unebener Bodenoberfläche und somit variierendem Abstand zur erfassten Unkrautsituation würde der Laserstrahl fehlpositioniert. Eine Verbesserung könnte mit der Erfassung eines 3D-Datensatzes gelingen, in dem die Kalibrierung in mehreren Ebenen in unterschiedlichen Abständen zum Lasersystem durchgeführt würde. Mithilfe eines Abstandssensors zur Bestimmung der aktuellen Entfernung detektierter Unkräuter zum Lasersystem könnten die entsprechenden Kalibrierungsdaten geladen und die Positionierung der Laserstrahlung optimiert werden. Alternativ könnte die Unkrautsituation auch mithilfe von Stereokameras oder einer 3D-Kamera erfasst werden, um direkt Höheninformationen zu erhalten. Das derzeitige Auflösungsvermögen solcher Techniken muss jedoch noch verbessert werden, um Höhenabweichungen im Millimeterbereich zu detektieren. Beim Lasersystem könnte darüber hinaus ein optisches System hinzugefügt werden, um die Fokussierung der Laserstrahlung bei der Feststellung einer Höhenabweichung entsprechend nachzuführen.

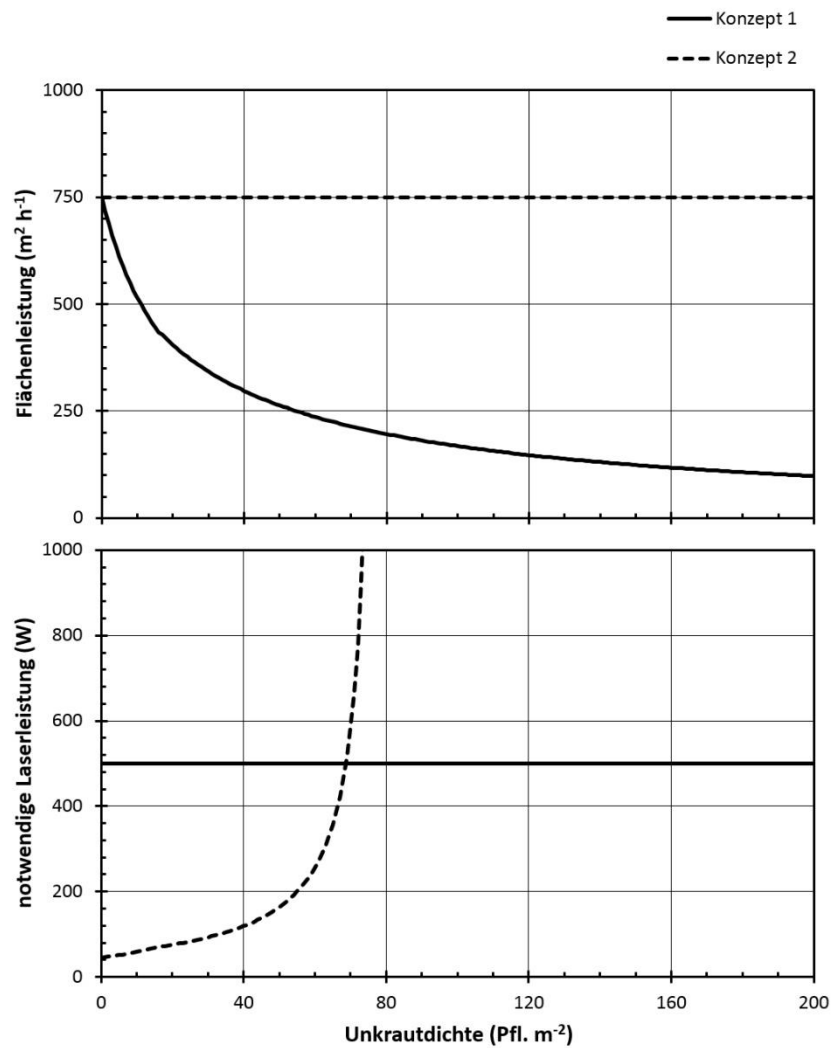
Die erreichte Applikationsgenauigkeit war im Vergleich zu anderen Verfahren der Unkrautbekämpfung gut. Bei Mikro-Spray Techniken zur selektiven Herbizidapplikation betrug der minimale Sprühbereich  $1,27 \cdot 0,64$  cm<sup>2</sup> (Søgaard & Lund, 2005). Gabor (2007) erreichte mit einer sensor-gesteuerten Hacke eine Bekämpfung bis 25 mm an die Kulturpflanze heran. Bei den genannten Untersuchungen war eine Applikation in Bewegung möglich. Rosenberg (2006) untersuchte wiederum die genaue Positionierung eines Laserstrahls auf einer Unkrautpflanze und führte umfangreiche Korrekturverfahren zur Berücksichtigung von Positions- und Geschwindigkeitsfehlern ein. Stationär wurde eine Genauigkeit von 1 % in Abhängigkeit der Kameraauflösung und des Abstandes zum Zielobjekt erreicht. Durch Übertragung auf die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Systeme würde dies einer Genauigkeit von ca. 3,2 mm entsprechen, einer um 160 % höheren Ungenauigkeit gegenüber dem entwickelten Testsystem. Bei Bewegung des Systems von Rosenberg mit  $0,05$  m s<sup>-1</sup> verdoppelte sich der Wert auf ca. 6 mm. Nadimi et al. (2009) führten die Untersuchungen bei Erfassung und Bestrahlung von bewegten Pflanzen (Versuchsstand mit Förderbändern) fort. Obwohl keine genauen Angaben über die erreichte Genauigkeit vorlagen, wurde eine zu hohe Ungenauigkeit festgestellt. Vor diesem Hintergrund müssen zukünftige Untersuchungen die Genauigkeit der Bildalgorithmen von Pastrana (2012) bei Bewegung der beobachteten Objekte eruieren. Durch Nachverfolgung der zu bestrahlenden Zielpositionen wären eine Erhöhung der Bestrahlungsdauer und damit eine bessere Energieeinkopplung in das Pflanzengewebe möglich.

### **Applikationsgrenzwerte des Prototypen**

Die Applikationsgrenzwerte der Unkrautdichte (Abb. 3.30, S. 47) und der Prozessgeschwindigkeit (Abb. 3.31, S. 48) waren nur dann entscheidend, wenn eine Applikation unter zeitkritischen Bedingungen erfolgen musste. In allen Freilandkulturen treten jedoch stets unterschiedliche, jährlich variierende Unkrautverteilungen und Unkrautdichten auf (vgl. z.B. Häusler, 2002 oder Philipp, 2004). Nur bei den höchsten Unkrautdichten müsste eine Laserstrahlapplikation daher an zeitintensiven Grenzen arbeiten. Eine Erhöhung der Prozessgeschwindigkeit gegenüber den ermittelten Werten wäre dabei unbedingt erforderlich. Besonders in komplexen Unkrautsituationen mit hohen Bedeckungsgraden hat sich gezeigt, dass die Erkennungsdauer exponentiell ansteigt, da eine Vielzahl von Möglichkeiten zum Fitten von Pflanzenmodellen getestet werden müssen. Dies könnte durch den Einsatz von Hochleistungsrechnern oder aber den Transfer der softwarebasierten Bildverarbeitung auf festverdrahtete Hardwarelösungen gelingen. In der Regel kann dies die Datenverarbeitungsgeschwindigkeit um den Faktor 10 bis 100 beschleunigen.

### **Konzepte zur Unkrautbekämpfung mittels Laserstrahlung**

Zur Beurteilung der ermittelten Applikationsgrenzwerte wurden Konzepte einer zukünftigen, laser-gestützten Unkrautbekämpfung als Teil des strategischen Unkrautmanagements in der Intensivproduktion evaluiert. Die Konzepte basierten dabei auf einem schrittweise bewegten Feldroboter (Konzept 1) oder auf einem kontinuierlich fahrenden Schlepper mit Anbaugeräten (Konzept 2). Die Abschätzung der Abhängigkeit der Flächenleistung sowie der notwendigen Laserausgangsleistung von der Unkrautdichte und dem jeweiligen Konzept beruhten auf folgenden Annahmen. Die notwendige Laserletaldosis betrug 50 J. Die Applikationszeit pro Unkraut betrug 100 ms bei Konzept 1 (bei Verwendung eines 500 W CO<sub>2</sub>-Lasers) während sie bei Konzept 2 variabel war. Die Zeit zur bildanalytischen Erfassung einer einzelnen Zielposition wurde auf 15 ms geschätzt, wenn eine entsprechende Beschleunigung der softwarebasierten Programme durch eine Hardwarelösung vorausgesetzt werden konnte. Für die Laserstrahlpositionierung wurde der Einsatz moderner Laserscanner mit Geschwindigkeiten von 10 m s<sup>-1</sup> angenommen. Die mittlere Fahrgeschwindigkeit der Fahrsysteme betrug 1,5 km h<sup>-1</sup>, wobei der Feldroboter im Stop & Go Betrieb arbeitete während der Schlepper mit Anbaugeräten kontinuierlich fuhr. Das Arbeitsfeld der Laserstrahlpositionierung betrug 0,25 m<sup>2</sup>. Somit konnten die Fahrzeiten, die Bildverarbeitungszeiten, die Laserstrahlpositionierungszeiten und zusätzliche Verzögerungszeiten berücksichtigt und die Flächenleistung bei Stop & Go (Konzept 1) sowie die erforderliche Laserausgangsleistungen bei kontinuierlichem Betrieb (Konzept 2) geschätzt werden (Abb. 3.33, S. 62).



**Abb. 3.33: Konzepte einer lasergestützten Unkrautbekämpfung mit mobilen Systemen in Abhängigkeit der Unkrautdichte; Konzept 1: begrenzte Laserleistung verfügbar, Konzept 2: konstante Flächenleistung gefordert (Marx et al. 2012d, verändert)**

Unter Berücksichtigung der getroffenen Annahmen sank die Flächenleistung des Feldroboters bei Unkrautdichten bis 200 Pflanzen m<sup>-2</sup> auf ca. 100 m<sup>2</sup> h<sup>-1</sup>. Für höhere Flächenleistungen mit einem kontinuierlich fahrenden Schlepper (ca. 750 m<sup>2</sup> h<sup>-1</sup>) waren ab ca. 70 Pflanzen m<sup>-2</sup> stark ansteigende Laserleistungen über 500 W hinaus erforderlich. Durch eine Beschränkung der Laserstrahlapplikation auf den Bereich der Pflanzreihen, die geschätzt nur 40 % der Kulturfläche beträgt, würden sich die Flächenleistungen um den Faktor 2,5 erhöhen.

Durch den Einsatz von mehreren Laserscannern an einer Laserstrahlquelle könnte der Arbeitsbereich des Lasers deutlich erhöht und so die Arbeitsgeschwindigkeit verbessert werden. Dennoch sind die erreichbaren Arbeitsgeschwindigkeiten auf einer Kulturfläche (siehe Abb. 3.33) gegenüber den konventionell chemischen Verfahren (maximale Flächenleistung bis zu 18 ha h<sup>-1</sup>; KTBL, 2009) als kritisch zu beurteilen. Da jedoch weltweit eine Reduktion des Einsatzes von Pflanzenschutzmitteln gefordert wird, werden alternative Applikationssysteme erforscht, die teilflächenspezifische und selektive Maßnahmen zur Unkrautbekämpfung ermöglichen. Ein Konzept beinhaltet bspw. den Einsatz einer Flotte von autonomen Feldrobotern, deren Arbeitsleistung sich entsprechend addiert (RHEA, 2010).

Daher wäre für eine zukünftige Applikation auch der Transfer einer lasergestützten Unkrautbekämpfung auf kleine Mobileinheiten (Feldroboter oder Multicopter) denkbar. Dies kann jedoch nur gelingen, wenn lasersicherheitsrelevante Maßnahmen (siehe Abschnitt 1.2, S. 2) getroffen und entsprechende Zulassungen vorhanden sind. Dadurch könnte die Automatisierung der Unkrautbekämpfung erhöht und somit die Konkurrenzwirkung der Unkräuter auf Kulturpflanzen frühzeitig vermindert werden.

Beim Einsatz einer lasergestützten Unkrautbekämpfung müssen eventuell wiederholte Anwendungen bis zum Bestandesschluss (Kulturpflanzen bedecken die Anbaufläche nahezu vollständig und verhindern somit die Keimung von Unkraut durch Beschattung) vorgenommen werden als bei Herbizidapplikationen. Denn bei der Verwendung von Herbiziden ist eine gewisse Langzeitwirkung auf den Unkrautwuchs durch die Verweildauer der Herbizide im oberen Bodenkompartment gegeben (so genannte wurzelwirksame Herbizide), was wiederum mit der Gefahr einer Anreicherung von Herbizidwirkstoffen und –metaboliten im Grundwasser nach Auswaschung verbunden ist. Eine Laserapplikation kann dahingegen nur die aktuell aufgelaufenen Unkräuter bekämpfen. Dabei wird aber eine Belastung von Nicht-Ziel-Objekten sowie des Bodens verhindert.

### **3.5.6 Energetischer Vergleich der thermisch wirkenden Unkrautbekämpfung**

Beim thermischen Abflammen wird Propangas in einer Aufwandmenge von ca.  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  zur wirksamen Unkrautschädigung eingesetzt (Bertram, 1996). Dies entspricht einem Energieeinsatz von ca.  $2.300 \text{ MJ ha}^{-1}$ . Die selektive Laserbestrahlung einzelner Unkrautpflanzen bietet daher Potenzial zur Energieeinsparung, etwa beim Einsatz eines  $\text{CO}_2$ -Lasersystems bis zu 45 %. Beim Einsatz anderer Strahlquellen wären teilweise noch höhere Einsparpotentiale möglich (Tab. 3.12, S. 58). Die auf Grundlage von Literaturangaben berechneten Werte gingen ebenfalls aus Versuchen hervor, jedoch waren keine Schädigungsmodelle hinterlegt, die z.B. Trefferfehler, d.h. der Laserstrahl trifft die Unkrautpflanze nicht vollständig, berücksichtigten, die bei den angegebenen kleinen Laserspotdurchmessern sehr wahrscheinlich waren. Wie sich auch bei den eigenen Untersuchungen zeigte, wurden bei Absicherung der Bestrahlungsergebnisse durch das Schädigungsmodell die notwendigen Letaldosen erhöht (vgl. Tab. 3.5, S. 33 und Tab. 3.9, S. 41). Eine abschließende Beurteilung der Eignung diverser Laserstrahlensysteme zur Unkrautbekämpfung wird daher nur mit der Aufstellung von wellenlängenspezifischen Schädigungsmodellen in weiterführenden Untersuchungen ermöglicht.

### 3.6 Schlussfolgerung und Ausblick

In den durchgeführten Untersuchungen an den Modellunkräuter Hühnerhirse (*Echinochloa crus-galli*), Tabak (*Nicotiana tabacum*) und Amaranth (*Amaranthus retroflexus*) konnten die Möglichkeiten einer lasergestützten Unkrautbekämpfung aufgezeigt werden. Mehrere Lasersysteme wurden erfolgreich getestet, um durch die Bestrahlung der Apikalmeristeme eine dosisabhängige, nachhaltige Schädigung der Pflanzen zu erzielen. Die Schädigung war dabei vorwiegend abhängig von der unmittelbaren Absorption der Laserenergie in sensiblen Bereichen des Pflanzengewebes, wodurch sich eine lokale Temperaturerhöhung ergab. Eine systemische Schädigungswirkung dieses Temperaturanstiegs war abhängig von der Bestrahlungsdauer und optimal bei Laserspotdurchmessern  $> \varnothing 4$  mm. Durch die Modellierung der Schädigungscharakteristik konnten mit statistischer Absicherung letale Laserenergiedosen für unterschiedliche Pflanzen- und Laserparameter berechnet und validiert werden. Der Pflanzenhabitus, die Wuchsgröße, die Laserwellenlänge, der Laserspotdurchmesser auf Höhe des Meristems sowie die Laserstrahlposition und die applizierte Laserenergie wurden als Haupteinflussfaktoren identifiziert. Die Schädigung der bestrahlten Pflanzen war dabei signifikant, sodass unbehandelte Pflanzen deutlich im Wuchs bevorteilt waren.

Der Einsatz von bildgestützten Lasersystemen war an Bedingungen, wie bspw. ausreichende und konstante Belichtung der Unkrautsituation, Bereitstellung einer ausreichenden Laserleistung, etc. gebunden. Während verschiedene Lasertypen (im Puls- oder Dauerstrichbetrieb) ebenfalls effektiv eingesetzt werden konnten, erreichten CO<sub>2</sub>-Lasersysteme hohe Behandlungserfolge bei einem erforderlichen Energiebedarf von 50 J pro Unkrautpflanze. Für zukünftige Applikationen (bspw. im Freilandanbau) könnten weitere Kriterien an das Lasersystem, wie etwa der Platzbedarf, die Art der Kühlung, eine vereinfachte Laserstrahlführung oder erforderliche Handhabungssysteme hohe Bedeutung gewinnen, sodass andere Strahlquellen bevorzugt werden könnten.

Neben den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Hochleistungslasern sind für zukünftige Applikationssysteme auch Laser kleiner Bauformen mit geringen Leistungen (bspw. 1 W Laserdioden aus BluRay-Playern) interessant. Solche Laser könnten durch ihr geringes Gewicht und einfache Ansteuerung vereinfacht in mobile Kleinsysteme (z.B. Feldroboter oder Multicopter) integriert werden. Dabei könnten auch die Erkenntnisse zur lasersystemabhängigen und selektiven Schädigung von Pflanzenmaterial genutzt werden, um die Einsatzmöglichkeiten von Laserstrahlung in der Pflanzenproduktion zu erweitern, so z.B. in geräuscharmen Rasenmähern oder an Robotern zur automatischen, sterilen Entnahme von Gewebeprobe.

Zukünftige Untersuchungen sollten deshalb auf den Einsatz von Lasersystemen im Freiland fokussieren und den Einfluss von dynamischen Störfaktoren (Verwackelungen, Verkippungen, Wetter) auf die Erkennungs- und Treffgenauigkeit eruieren. Bei weiterer Verbesserung einer sicheren Applikation können bereits Keimpflanzen behandelt werden, wodurch der Energiebedarf bei hoher Flächenleistung verringert wird. Letztlich wird so eine ökologisch und ökonomisch interessante Alternative zur konventionellen Herbizidapplikation geschaffen.



## 4 Untersuchungen zur letalen Laserlichtwirkung auf Pflanzenschädlinge am Beispiel Blattläuse

### 4.1 Einleitung und Stand des Wissens

#### 4.1.1 Chemische, biotechnologische und biologische Schädlingsbekämpfung

Die Bekämpfung von Pflanzenschädlingen in der Agrar- und Gartenbauproduktion ist von hoher Bedeutung für den Ertrag und die Qualität der Produkte. Dennoch sind Pflanzenschädlinge für ca. 15 % der weltweiten Vorernteverluste bei wichtigen Kulturen wie Reis, Weizen und Mais verantwortlich (Bayer CropScience, 2008b). Sie verursachen dadurch einen erheblichen wirtschaftlichen Schaden. Allein Heuschrecken können Schäden von bis zu 1 Milliarde Dollar jährlich verursachen (Shulman, 1990). Um diese Pflanzenschädlinge zu bekämpfen, werden Pestizide, die so genannten Insektizide, in hohen Aufwandmengen eingesetzt (Bedlan & Kahrer, 2002). Zum Beispiel wurden allein in Marokko von 2003 bis 2004 auf einer Fläche von 110.000 km<sup>2</sup> zur Bekämpfung von Heuschrecken 11 Millionen Liter Pestizide versprüht (Enserink, 2004). Die Insektizid-Applikationen sind sehr effektiv, verursachen aber Umweltbelastungen von Oberflächengewässern, Nicht-Ziel-Organismen und Kulturpflanzen (Kovach et al., 1992). Darüber hinaus entwickeln Schädlinge bei langzeitiger wiederholter Pestizidanwendungen Resistenzen. So ist zum Beispiel der Einsatz von Organophosphaten, Carbamaten und Pyretroiden gegen die Grüne Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae*) nach 20 bis 25 Jahren der Anwendung wirkungslos (Bayer CropScience, 2012b). Zudem sind chemische Verfahren aufgrund vermuteter Produktbelastungen nur in bestimmten zeitlichen Abständen zur Produktvermarktung zugelassen. Dennoch liegt der Inlandsabsatz von Insektiziden in Deutschland bei ca. 1.000 t pro Jahr (BMELV, 2011).

Alternative Verfahren der Schädlingsbekämpfung basieren einerseits auf biologischen Maßnahmen wie etwa der massenhaften Freisetzung von natürlichen Fressfeinden, wie Marienkäfern (*Coccinellidae*) und deren Larven gegen Blattläuse (Schmutterer & Huber, 2005). Darüber hinaus können Naturprodukte wie Neem oder Pyrethrum eingesetzt werden (van Lenteren, 2012). Diese Biopestizide werden ebenso wie chemische Pestizide auf die Kulturpflanzen gesprüht, wirken aber als Schutzmittel (*repellent*). Andererseits werden präventive, biotechnologische Maßnahmen ergriffen, um die chemische oder visuelle Kommunikation zwischen den Schädlingen oder zwischen den Schädlingen und den Pflanzen zu stören und so eine Verwirrung der Orientierung der Pflanzenschädlinge (Kumar & Poehling, 2006; Diaz & Fereres, 2007) oder eine Veränderung des Fress- und Vermehrungsverhaltens zu induzieren. Die Schädlinge fliegen oder laufen dann in Lockfallen, die spezielle Pheromone ausgasen (Welter et al., 2005) oder sie mit wahrnehmbaren Färbungen anlocken (Gelbtafeln (Yee, 2011) und steuerbare LED Tafeln (Oh et al., 2011; Katasuki et al., 2012)). Meist kleben die Schädlinge dann fest, sodass sie nicht mehr entkommen können.

#### 4.1.2 Schädlingsbekämpfung mittels Laserstrahlung

Bereits seit den 1970er Jahren wurden verschiedene Untersuchungen zum Einsatz von Laserstrahlung gegen Pflanzenschädlinge durchgeführt. Samoiloff et al. (1973) untersuchten inwiefern das Verhalten von Nematoden durch Laserbestrahlung beeinflusst wurde. Eine sub-letale Laserbestrahlung führte zu einer Veränderung des Schwimm-, Orientierungs- und Paarungsverhaltens adulter Nematoden sowie der Reaktion auf bestimmte Lockstoffe. Conconi (1983) untersuchte den Einsatz von Laserstrahlung auf Schädlinge bei gelagerten Lebensmitteln (Korn und Mehl). Conconi beobachtete dabei letale Wirkungen durch thermische Effekte bei der Laserbestrahlung von fünf Käferarten. Eine hohe Sterblichkeitsrate konnte in Abhängigkeit der Parameter Laserwellenlänge, Energiedichte und Schädlingsart sowie der Zugänglichkeit des Insekts erreicht werden. Die überlebenden Schädlinge wurden über 200 Tage weiter beobachtet. Conconi ermittelte sub-letale Effekte, die zu einer Abnahme der Lebensdauer, zu einer leichten Immobilität, zu Veränderungen der Entwicklungsphasen, zu einer Behinderung der Eiablage und des Schlüpfens sowie einer geringeren Größe und Sterilität der F1-Generation führten. Franken und Letokhov (Shulman, 1990) befassten sich damit, Lasertechnik zur Bekämpfung von Heuschrecken einzusetzen. Dabei sollten Lasersysteme an Hubschraubern befestigt werden, die bei geringen Laserleistungen die Flügel der Insekten verletzen sollten. Allerdings wurde festgestellt, dass für eine effektive Bekämpfung mehrere hundert Hubschrauber notwendig gewesen wären. Zhang (1997) untersuchte den Einfluss von Laserstrahlung auf Fruchtfliegen. Neben der sofortigen letalen Wirkung reduzierte eine Bestrahlung der Fruchtfliegen und ihrer Larven die Anzahl und das Gewicht ihrer Nachkommen (F2 bis F4). Außerdem waren die Körper der Fruchtfliegen-Nachkommen in Abhängigkeit der Strahlungsintensität verformt. Auch unter marinen Bedingungen wurden Schädlinge mit Laserstrahlung bekämpft. Nandakumar et al. (2002) ermittelten, dass Seepocken im zweiten Larvenstadium mit Energiedichten von  $0,1 \text{ J cm}^{-2}$  letal geschädigt wurden. Sub-letal geschädigte Seepocken waren nicht mehr in der Lage, sich anzusiedeln bzw. sich zu orientieren. Nandakumar et al. (2003) untersuchten weiterhin die Säuberung von mit Kieselalgen befallenen Oberflächen in Kühlsystemen. Bei Bestrahlungsdauern von 2 s bis 300 s nahm die Sterblichkeitsrate und somit die Abnahme des Algenbestandes stetig zu. Auch auf Wirbeltiere (Wildgänse) wurden sub-letale Laserbestrahlungen angewendet, um die Tiere von Agrarflächen zu vertreiben (Sherman & Barras, 2004). Bestrahlte Gänse verließen ihren Aufenthaltsort spätestens nach 4,6 min, während sich die Anzahl der Gänse auf der Zielfläche nach einer fünftägigen Bestrahlungsperiode von 92 auf 14 Tiere reduzierte. Ren et al. (2006) untersuchten wiederum die Laserbestrahlung von Fruchtfliegen. Hohe Sterblichkeiten erzielten sie mit hohen Laserleistungen bei kurzen Applikationszeiten. Eine 99 %ige Sterblichkeit der Larven wurde bei einer applizierten Laserenergie von 77 J erreicht. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass sub-letale Bestrahlungen (unterhalb 40 mW) das Wachstum der Larven förderten. Yao et al. (2008, 2009) befassten sich mit der Bekämpfung von Heuschrecken mittels Laserbestrahlung. Sie konnten bis zu 80 % zweier Heuschreckenarten in unterschiedlichen Wuchsgrößen letal schädigen. Als wirksame Trefferzone stellte sich der Kopfbereich gefolgt von den Flügeln heraus (letale Intensität:  $10 \text{ W cm}^{-2}$ ). In den Versuchen blieb die Wirtspflanze (Grüne Borstenhirse, *Setaria viridis*) unbeschädigt. Mhyrvold (2010) untersuchte die Bekämpfung von humanpathogenen Schädlingen am Beispiel der Malaria-Krankheit

übertragenden Stechmücke. Es sollte ein System zur Erkennung der weiblichen Mücken mittels Bildverarbeitung und Detektion eines reflektierten Laserstrahls (Bestimmung der Flügelschlagzahl) entwickelt werden. Nach der Lokalisation der Mücke würde ein letaler Laserstrahl appliziert werden, die Forschung befindet sich jedoch noch am Anfang.

Die bisherigen Untersuchungen auf dem Gebiet der lasergestützten Schädlingsbekämpfung mit Einordnung nach den verwendeten Laserstrahlquellen und den bestrahlten Schädlingen sind in Tab. 4.1 zusammenfassend dargestellt. Demnach fehlen Kenntnisse zur Applikation von Laserstrahlung auf eine wichtige Gruppe von Pflanzenschädlingen, den Blattläusen. Darüber hinaus wurden bislang keine Hochleistungslaser für flächige und schnelle Bestrahlungen (< 1 s) eingesetzt. Außerdem wurden Schäden auf Nicht-Ziel-Flächen durch Laserbestrahlung (im Fall der Blattläuse sind dies die Blätter der Wirtspflanzen) nicht untersucht.

**Tab. 4.1: Überblick zum Einsatz von Lasertechnik zur Bekämpfung von Schädlingen**

$\lambda$ (nm)	Schädling	Literatur	Schwerpunkt
	<b>Gans</b> <i>Branta canadensis maxima</i> <b>Käfer</b> <i>Tribolium confusum</i> Duv. <i>Tribolium castaneum</i> Herbst. <i>Sitophilus zeamais</i> Motsch. <i>Prostephanus truncatus</i> Horn. <i>Oryzaephilus surinamensis</i> L. <b>Heuschrecke</b> <i>Locusta Migratoria</i> <b>Seepocke</b> <i>Balanus amphitrite</i> <b>Mücke</b> <i>Anopheles Mosquito</i> <b>Fruchtliege</b> <i>Drosophila melanogaster</i> <b>Nematode</b> <i>Panagrellus silusiae</i>		
405		Myhrvold, 2010	Machbarkeit
488		Conconi, 1983	Dosis-Wirkung
532		Nandakumar et al., 2002	Wirkung
		Nandakumar et al., 2003	Wirkung
632,8		Conconi, 1983	Dosis-Wirkung
		Zhang, 1997	Dosis-Wirkung
650		Sherman & Barras, 2004	Machbarkeit
694,3		Samoiloff et al., 1973	Wirkung
808		Ren et al., 2006	Dosis-Wirkung
		Yao et al., 2008	Dosis-Wirkung
		Yao et al., 2009	Dosis-Wirkung

## 4.2 Zielsetzung

Vor dem Hintergrund der bisherigen Untersuchungen zum Einsatz von Laserstrahlung gegen Schädlinge sollen unterschiedliche Blattlausarten wirksam mittels Laserstrahlung geschädigt aber gleichzeitig die befallenen Wirtspflanzen geschont werden. Der Bekämpfungserfolg ist demnach dann am größten, wenn entweder die Schädigung der Schädlinge bei geringen Energiedichten hoch ist oder die Vitalität des Blattes auch bei ansteigenden Energiedichten nicht beeinträchtigt wird. Auch Mehrfachbestrahlungen bei kleinen Energiedichten sind möglich.

Ziel ist es, die spektralen Eigenschaften ausgewählter Blattläuse und ihrer Wirtspflanzen zu untersuchen, um geeignete Laserwellenlängen zur Schädigung von sesshaften Blattläusen zu ermitteln. Außerdem soll in Laserparameterstudien (Wellenlänge, Leistung und Bestrahlungsdauer) die letale Schädigungsdosis der Blattläuse durch Laserbestrahlung ermittelt werden. Mit den Erkenntnissen sollen die Einsatzmöglichkeiten der lasergestützten Bekämpfung von Pflanzenschädlingen eruiert werden.

## 4.3 Material und Methoden

### 4.3.1 Pflanzenschädlinge und Wirtspflanzen

#### Ausgewählte Pflanzenschädlinge

Pflanzensaftsaugende Schädlinge attackieren Wirtspflanzen meist auf den Blattunterseiten. Hier sind sie vor Umgebungseinflüssen (Einstrahlung, Niederschlag, Fressfeinde) weitestgehend geschützt und können leicht die weiche Blattunterhaut penetrieren. Dabei dringen sie mit einem Saugrüssel in die Schwamm- und Palisaden-Zellschichten ein und saugen die inter- und intrazellulären Flüssigkeiten heraus. Durch hohe Populationsdichten der Pflanzenschädlinge werden Kulturpflanzenbestände während der Wachstums- und Reifephase geschädigt.

Als Pflanzenschädlinge wurden daher Blattläuse ausgewählt. Diese wurden Stammpopulationen des Instituts für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz (Leibniz Universität Hannover) entnommen. Unterschiedliche Entwicklungsstadien wurden dabei nicht selektiert und auch bei der späteren Laserbestrahlung nicht differenziert, da die erreichten Populationsdichten hoch und viele Entwicklungsstadien vorhanden waren. Es wurden vier Pflanzenschädlinge auf unterschiedlichen Wirtspflanzen verwendet (Abb. 4.1, S. 69).



**Abb. 4.1: Pflanzenschädlinge auf ihren Wirtspflanzen (Fotos: T. Kiesow);**  
 (v.l.n.r.): Mehliges Kohlblattlaus (*Brevicornye brassica*), Kohlmottenschildlaus (*Aleyrodes proletella*),  
 Große Getreideblattlaus (*Sitobion avenae*), Schwarze Bohnenlaus (*Aphis fabae*)

Die Mehliges Kohlblattlaus (*Brevicornye brassica*) ist ca. 1,5 mm lang und von grau-grüner Farbe. Sie saugt an Blättern in Kolonien, die handtellergroß werden können. Sie ist ein wichtiger Schädling im Anbau von Kohlgemüse. Als Schadbild kommt es zu Wuchsdepressionen. Darüber hinaus werden Läuse auch im Kopffinneren geernteter Kohlköpfe gefunden. Beim Saugen des unter hohem Druck stehenden Pflanzensaftes scheiden die Blattläuse den so genannten Honigtau aus, eine stark zuckerhaltige, zähe Flüssigkeit, die an der Blattoberfläche haftet. Der Honigtau wird oftmals von Rußtaupilzen befallen, die die Pflanze nicht direkt schädigen, aber durch Beschattung die Photosyntheseleistung beeinträchtigen können (Böhmer & Wohanka, 2008).

Die Kohlmottenschildlaus (*Aleyrodes proletella*), auch bekannt als Weiße Fliege, ist ca. 1,5 mm lang und weiß. Die Larven werden 1 mm groß und sind bräunlich. Die Kohlmottenschildlaus ist in Deutschland heimisch und überwintert auch im Freien. Beim Saugen scheidet sie ebenfalls Honigtau aus, der die Bildung von Rußtau begünstigt. Zur konventionellen Bekämpfung werden Insektizide eingesetzt, die gegen Adulte wirksamer sind als gegen Larven (Bedlan & Kahrer, 2002).

Die Große Getreideblattlaus (*Sitobion avenae*) gehört zur Familie der Röhrenläuse, die wiederum aufgrund ihrer kurzen Entwicklungszeit und hohen Vermehrungsraten zu den bedeutenden Schädlingen an Kulturpflanzen gehören. Die Große Getreideblattlaus ist 2 bis 3 mm lang, schmal und grün bis rötlichbraun gefärbt. Sie scheidet ebenfalls Honigtau aus, wodurch Rußtaubildung begünstigt ist. Die Getreideblattlaus ist zudem ein Überträger von phytopathogenen Viren. Zur konventionellen Bekämpfung können neben chemischen Insektiziden auch Populationen von Marienkäfern, Schwebfliegenlarven, Florfliegenlarven und Schlupfwespen eingesetzt werden (Baumjohann & Baumjohann, 2006).

Die Schwarze Bohnenlaus (*Aphis fabae*) sitzt auf Trieben, Stängeln, Hülsen und Blättern. Sie bildet Kolonien und saugt bevorzugt an der Blattunterseite. Als Schadbild verbleiben gekräuselte Pflanzenteile. Auch bei der Schwarzen Bohnenlaus ist durch die Ausscheidung von Honigtau die Rußtaubildung begünstigt. Die Schwarze Bohnenlaus überträgt zudem zahlreiche phytopathogene Viren. In der konventionellen Bekämpfung sollten befallene Pflanzenteile entfernt, Nützlinge wie die Larven von Florfliegen, Marienkäfern und Schwebfliegen oder Insektizide eingesetzt werden (Baumjohann & Baumjohann, 2006).

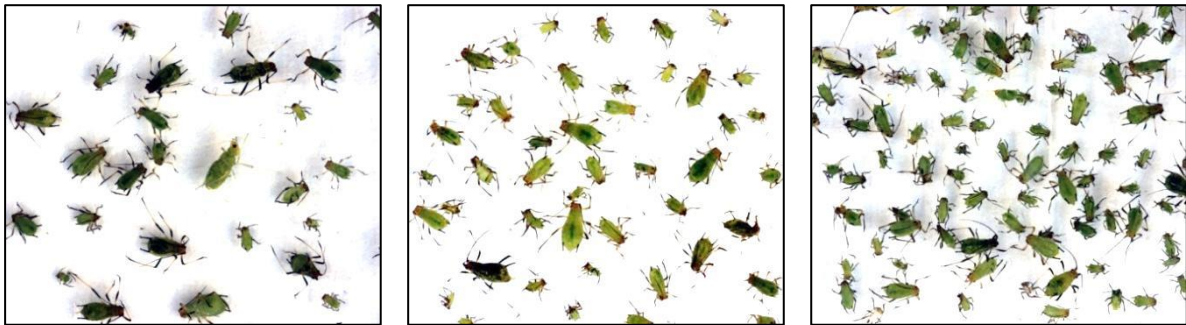
Die Populationsdichten der Pflanzenschädlinge und die Verteilung der Entwicklungsstadien wurden nicht bestimmt. Bei allen Bestrahlungsversuchen wurden sowohl juvenile sowie adulte Individuen verwendet. Nur bei der Kohlmottenschildlaus waren auch beflügelte Blattläuse vorhanden.

### Verwendete Wirtspflanzen

Die Mehligke Kohlblattlaus sowie die Kohlmottenschildlaus wurden auf Rosenkohl (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*), die Getreideblattlaus auf Weichweizen (*Triticum aestivum*) und die Schwarze Bohnenlaus auf Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris*) vermehrt. Vor, während und nach der gezielten Infizierung mit Schädlingspopulationen wurden die Pflanzen unter Gewächshausbedingungen (18/10 °C) kultiviert. Zur Abschirmung der einzelnen Varianten und Verhinderung des Zu-/Abflugs von Pflanzenschädlingen wurden Vliese und Folien verwendet.

### Spektraluntersuchungen der Blattläuse und Wirtspflanzen

Zur Bestimmung geeigneter Laserwellenlängen zur Schädigung der Pflanzenschädlinge bei idealerweise geringer Schädigung des Pflanzenmaterials wurden Spektraluntersuchungen durchgeführt. Vor den Messungen wurden die entsprechenden Proben wie folgt vorbereitet. Während ausgeschnittene Blattproben der Wirtspflanzen groß genug waren, um den Messstrahl von  $8 \cdot 15 \text{ mm}^2$  abzudecken, wurden lebende Blattläuse auf Klebestreifen fixiert (Abb. 4.2).



**Abb. 4.2: Beispiele verschiedener Deckungsgrade der Großen Getreideblattlaus (*Sitobion avenae*) fixiert auf Klebestreifen zur Ermittlung spektraler Eigenschaften; (Fotos: T. Kiesow)**

Aufgrund ihrer unterschiedlichen Größen, Formen und ihrem Fluchtbestreben, war es nicht möglich, eine geschlossene Schicht von Blattläusen herzustellen. Daher wurden je Schädlingsart zunächst drei unterschiedliche Schädlingsdichten bei Platzierung einzelner Blattläuse auf den transparenten Klebestreifen mithilfe einer Pinzette erstellt. Die erreichten Deckungsgrade wurden anhand von Fotos (CCD Kamera (DBK41BU02.H, The Imaging Source GmbH, Bremen, Deutschland) mit Makroobjektiv (MR05/8, Linos Photonics GmbH & Co. KG, München, Deutschland)) und anschließender Bildverarbeitung (Halcon® 10, MVTec GmbH, München, Deutschland) ermittelt. Dabei wurde eine Schwellwertfilterung vorgenommen und so der Anteil an von Blattläusen bedeckten Flächen von der Messfläche differenziert. Es wurden Deckungsgrade bis 35 % erreicht.

Da mit dem beschriebenen Verfahren keine geschlossenen Einschichtproben erstellt werden konnten, waren Transmissionsmessungen und somit die Ableitung von Absorptionsspektren nicht möglich. Zum Rückschluss auf das Absorptionsverhalten wurde die diffuse Reflexion (%R) von Blatt- und Schädlingsproben mit einem Spektrometer (Lambda 900 UV/VIS/NIR, PerkinElmer Inc., Rodgau, Deutschland) im Bereich 250 nm bis 2.500 nm gemessen. Dazu wurden die Proben in einem achs-zentrisch zum Messstrahlengang angeordneten Fenster direkt in der Wand einer Ulbricht-Kugel im Spektrometer platziert (hinter der jeweiligen Probe wurde das Spektrometer durch ein schwarzes

Gehäuse verschlossen). Das resultierende Messsignal (%R) aus der Ulbricht-Kugel wurde bei 1 nm Auflösung und einer zuvor durchgeführten Referenzmessung ohne Probe zum parallellaufenden Referenzstrahl in Beziehung gesetzt.

### Bestimmung geeigneter Laserwellenlängen

Die ermittelten Spektren der Pflanzenschädlinge und Wirtspflanzen wurden genutzt, um geeignete Laserwellenlängen in den Bereichen abzuleiten, bei denen große Differenzen zwischen den Reflexionswerten ermittelt wurden. Dies galt insbesondere dann, wenn die spektrale Reflexion eines Pflanzenschädlings deutlich unter der eines Wirtspflanzenblattes lag.

## 4.3.2 Lasersysteme und Laserbestrahlungsversuche

### Verwendete Laserstrahlquellen

Bei der Untersuchung der Wirkung von Laserstrahlung auf Pflanzenschädlinge war die verwendete Laserwellenlänge aufgrund der Annahme unterschiedlicher Absorptionscharakteristiken entscheidend. Daher wurde ein weiterer Wellenlängenbereich mit verschiedenen Lasersystemen untersucht (Tab. 4.2).

**Tab. 4.2: Einsatz unterschiedlicher Lasersysteme zur Bestrahlung der Blattläuse**

<b>Hersteller</b>	Synrad Inc.	IPG Photonics	Rofin Sinar	Coherent Inc.
<b>Type</b>	Series 48-5	TLR-50	RS Marker 100D	AVIA 355-23
<b>Lasermedium</b>	CO <sub>2</sub>	Tm	Nd:YAG	Nd:YVO <sub>4</sub>
<b>Wellenlänge (nm)</b>	<b>10.600</b>	<b>1.908</b>	<b>1.064</b>	<b>354,7</b>
<b>Betriebsart</b>	quasi-cw (5 kHz)	quasi-cw (5 kHz)	gepulst, 5 kHz	gepulst, 90 kHz
<b>max. Leistung (W)</b>	50	50	100	23
<b>Wirkungsgrad (%)</b>	6	8	3	3
<b>Fokus <math>\phi</math> (<math>\mu</math>m)</b>	250	25	250	30
<b>Kühlung</b>	Wasser	Luft + Wasser	Wasser	Wasser

### Ausgewählte Laserparameter

Eine erste Abschätzung von Laserparametern gelang nach Wiedemann et al. (2005), wobei Laserstrahlung zur oberflächlichen Bearbeitung organischer Materialien (Holzwerkstoffe) eingesetzt wurde. Darüber hinaus zeigte sich in wiederholten Voruntersuchungen, dass bei Einsatz eines UV-A-Lasers auch bei sehr geringen, aber minimal zur Schädigung der Blattläuse erforderlichen Laserstrahlintensitäten stets das Pflanzenmaterial stark geschädigt wurde. Deshalb wurde dieses Lasersystem nur begrenzt eingesetzt. Zudem wurden vorab lasersystemspezifische Parameterfenster ermittelt, die eine wirksame Bestrahlung begünstigten. In den entsprechenden Bereichen wurden die Laserparameter für die Folgeuntersuchungen variiert (Tab. 4.3, S. 72), wobei je fünf Wiederholungen durchgeführt wurden.

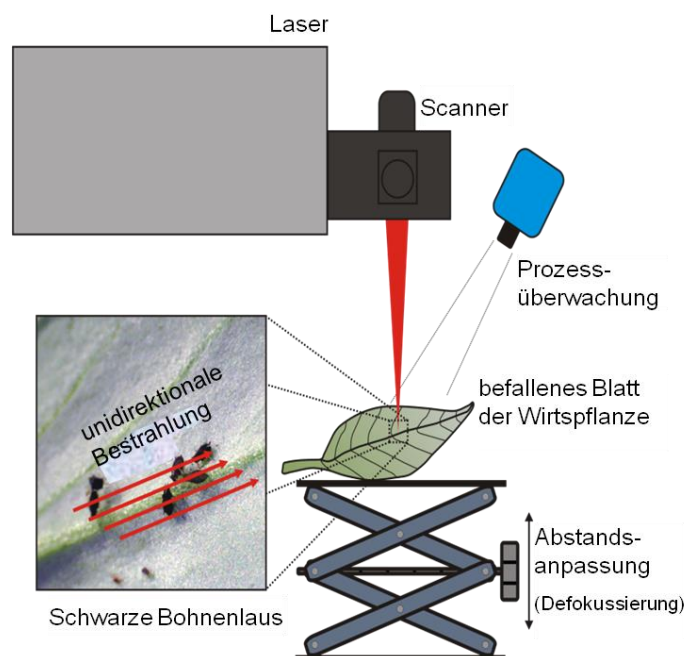
**Tab. 4.3: Verwendete Laserparameter bei einer Pulsweitemodulation von 5 kHz**

Lasertyp (-)	Wellenlänge (nm)	Spot $\phi$ (mm)	Vorschub (mm s <sup>-1</sup> )	Energiedichte (J mm <sup>-2</sup> )
Festkörperlaser (Nd:YAG)	1.064	0,25 ... 0,39	20 ... 30	3,55 ... 12,00
Faserlaser (Tm)	1.908	1,20	50	0,09 ... 0,16
Gaslaser (CO <sub>2</sub> )	10.600	2,25 ... 3,50	5 ... 15	0,05 ... 0,20

Im Anschluss an die ersten Parameterstudien (Tab. 4.3) wurde für die Wellenlängen 1.064 nm und 10.600 nm untersucht, welchen Einfluss einerseits geringere Bestrahlungszeiten durch höhere Vorschübe und andererseits größere Laserspotdurchmesser bei jeweils konstanter Energiedichte hatten. Dazu wurden die Laserleistungen entsprechend den bestgeeigneten Einstellungen aus den vorangegangenen Untersuchungen angepasst. Es konnten Aussagen über den Einfluss der erforderlichen Wechselwirkungsdauer sowie der Wirksamkeit einer punktuellen gegenüber einer flächigen Bestrahlung getroffen werden. Auch hier wurde jede Versuchsvariante fünfmal wiederholt.

#### Durchführung der Laserbestrahlungsversuche

Zur Bestimmung wirksamer Laserleistungen zur letalen Schädigung der Blattläuse bei geeigneter Bestrahlungsdauer wurden die Parameter Laserleistung, Vorschub (Relativgeschwindigkeit des Laserstrahls auf dem befallenen Blattmaterial) und Laserspotdurchmesser variiert (siehe Tab. 4.3). Dabei wurden die befallenen Blätter einzeln und mit der Blattunterseite nach oben im Bearbeitungsfeld des Lasers positioniert (Abb. 4.3).

**Abb. 4.3: Versuchsaufbau zur Durchführung der Parameterstudien; (Skizze: C. Marx)**

Der Laserstrahl wurde über einen Galvanometerscanner mit Planfeldoptik in einer Ebene über dem Zielbereich (50 mm<sup>2</sup>) auf parallelen Bahnen unidirektional geführt. Der Vorschub wurde über die Ansteuerung des Scanners variiert. Die Laserspotdurchmesser wurden mittels Defokussierung durch eine Anpassung des Abstandes der Blattprobe zur Fokusslage (Scherentisch) verändert.



### 4.3.3 Auswertung der Laserbestrahlungen

#### Auswertung der Laserbestrahlungen von Blattläusen

Jede Laserbestrahlung wurde in Videos mit einer Mikroskop-Kamera (DigiMicro 2.0 Scale, DNT GmbH, Dietzenbach, Deutschland) dokumentiert. Zusätzlich wurde ein Stereo-Mikroskop (Stemi 2000-C, Carl Zeiss GmbH, Jena, Deutschland) und Rasterelektronenmikroskope (REM) (Series 2, CamScan Electron Optics Ltd., Cambridge, UK; Quanta 400 F, FEI Comp., Hillsboro, USA) verwendet.

#### Klassifizierung der Schädigungen durch Bonituren

Die Bilder vor und nach der Laserbestrahlung wurden genutzt, um die Schädigungen der Blattläuse und der Pflanzen auf der bestrahlten Fläche wie folgt zu bewerten. Beim Pflanzenmaterial wurden vier visuell unterscheidbare Schädigungskategorien angewendet: (1) keine Schädigung, (2) leichte Beschädigung der Oberfläche, (3) geringfügige Beschädigung der Blattstruktur mit leichtem Zellwasser- austritt und (4) starke Beschädigung mit deutlichem Zellwasserverlust. Den Kategorien wurden die Prozentwerte (1) 0 %, (2) 33 %, (3) 67 % und (4) 100 % zugeordnet. Bei den Blattläusen wurden im Zielbereich die letal geschädigten sowie die vitalen Individuen gezählt und ins Verhältnis gesetzt.

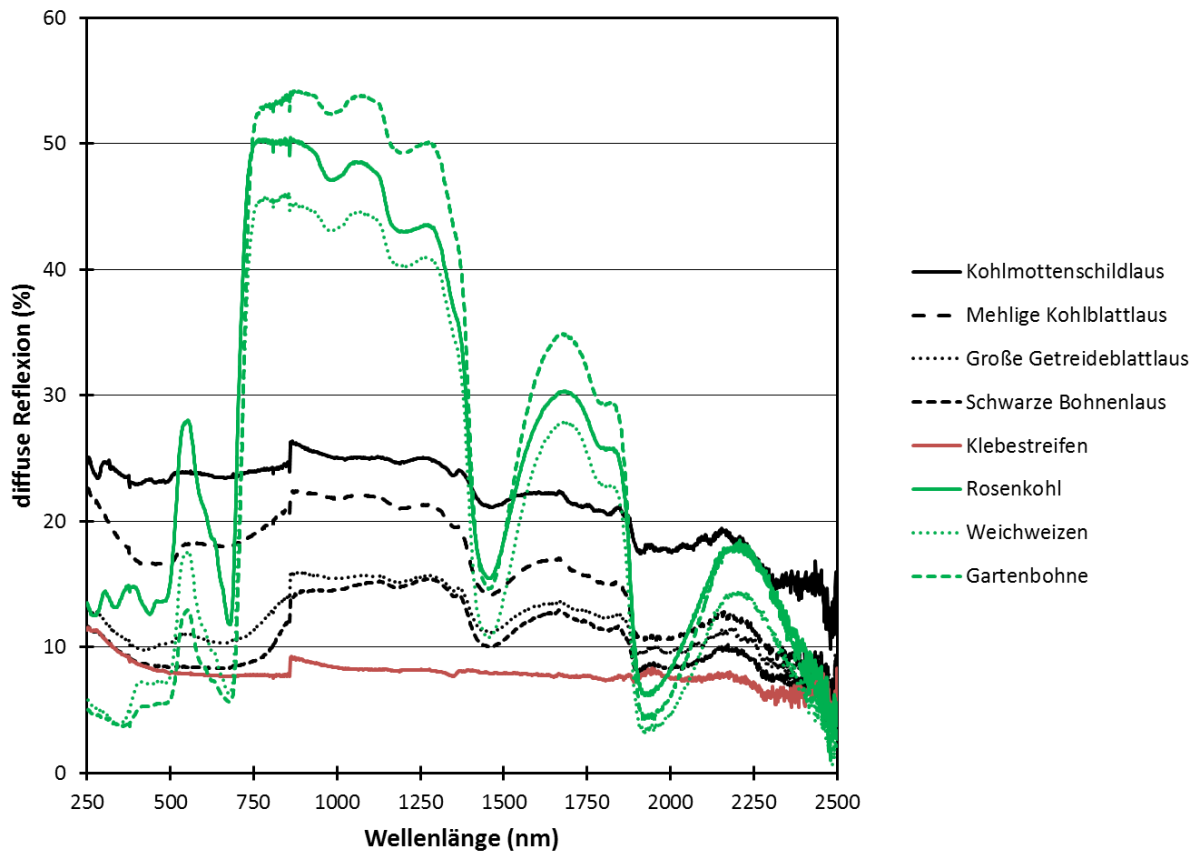
## 4.4 Ergebnisse

### 4.4.1 Spektrale Eigenschaften von Blattläusen

#### Spektraluntersuchungen von Blattläusen und deren Wirtspflanzen

Die gemessenen Reflexionsspektren erlaubten aufgrund der eingeschränkten Ableitung des Absorptionsverhaltens nur qualitative Aussagen. Jedoch zeigten sich Hinweise auf geeignete Laserwellenlängenbereiche zur letalen Bestrahlung von Blattläusen bei gleichzeitiger Schonung des Pflanzenmaterials (Abb. 4.4, S. 74).

Da sowohl das pflanzliche als auch das tierische Gewebe zu hohen Anteilen aus Wasser besteht, zeigten sich die charakteristischen Wasserbanden bei 976 nm, 1.200 nm, 1.450 nm und 1.930 nm (vgl. Abb. 3.10, S. 26). Auch zeigte sich die charakteristische Erhöhung der Reflexion im Bereich grünen Lichtes (verminderte Absorption im Chlorophyll a und b). Die mit dem beschriebenen Messverfahren ermittelten spektralen Eigenschaften der unterschiedlichen Kulturpflanzen ähnelten sich bei einem maximalen Unterschied von 10 %R und variierten im Bereich 5 bis 55 %R. Die Blattläuse zeigten dahingegen weniger starke Schwankungen (jeweils ca. 5 %R) mit abnehmenden Werten zu langwelliger Strahlung.



**Abb. 4.4:** Diffuse Reflexionsspektren der Mehliges Kohlblattlaus, der Kohlmottenschildlaus, der Großen Getreideblattlaus sowie der Schwarzen Bohnenlaus und deren Wirtspflanzen Rosenkohl, Weichweizen und Gartenbohne; Mittelwerte aus 3 Wiederholungen (Marx et al. 2013b, verändert)

#### Ableitung geeigneter Laserwellenlängen zur Schädigung von Blattläusen

Die diffuse Reflexion der Blattläuse war im Übergang von VIS zum NIR Bereich bis ca. 1.400 nm deutlich geringer als bei den Pflanzenblättern. Somit war die Differenz der Reflexion hoch und im Bereich 764 nm bis 772 nm maximal (Tab. 4.4).

**Tab. 4.4:** Kennwerte der diffusen Reflexionsspektren bei unterschiedlichen Laserwellenlängen

	Mehliges Kohlblattlaus	Kohlmottenschildlaus	Große Getreideblattlaus	Schwarze Bohnenlaus	Rosenkohl	Weichweizen	Gartenbohne
Nd:YVO <sub>4</sub> (355 nm)	18 %R	24 %R	11 %R	10 %R	14 %R	4 %R	4 %R
Nd:YAG (1.064 nm)	22 %R	25 %R	16 %R	15 %R	48 %R	44 %R	54 %R
Tm (1.908 nm)	11 %R	18 %R	10 %R	8 %R	7 %R	4 %R	5 %R
CO <sub>2</sub> (10.600 nm)	4 %R*	4 %R*	4 %R*	4 %R*	4 %R*	4 %R*	4 %R*
<b>max. Differenz der Reflexion zu den Wirtspflanzen bei ... (nm)</b>	<b>764</b>	<b>768</b>	<b>765</b>	<b>772</b>	-	-	-

\* auf Basis von H<sub>2</sub>O Spektren (Wieliczka et al., 1989) geschätzt

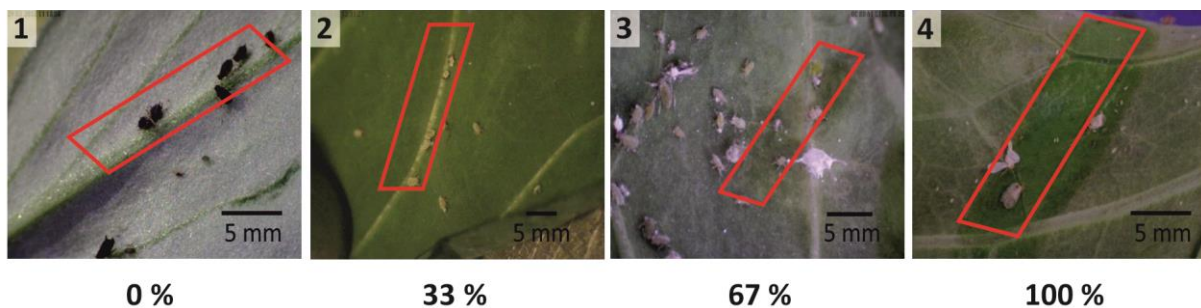
Unter der Annahme, dass die Transmission vergleichsweise gering war, waren somit Laserwellenlängen an der Grenze zum Infrarot-Bereich geeignet zur Schädlingsbekämpfung auf Kulturpflanzen, da dann vielfach stärkere Absorptionen im Pflanzenschädling als im Pflanzenmaterial vorlagen. Eine mögliche Laserstrahlquelle für diesen Wellenlängenbereich wäre bspw. ein Alexandrit-Laser (755 nm). Eine solche Laserstrahlquelle stand für weiterführende Versuche nicht zur Verfügung.

Für die verfügbaren Laserstrahlquellen (siehe Tab. 4.2, S. 71) zeichnete sich ab, dass diese bedingt geeignet waren. So zeigten die Blattläuse bei 1.064 nm (Nd:YAG-Laser) eine deutlich geringere Reflexion (und damit eine vermutet höhere Absorption) als das Pflanzenmaterial. Für die Laserwellenlängen 355 nm (Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser), 1.908 nm (Tm-Laser) und 10.600 nm (CO<sub>2</sub>-Laser) zeigten sich dahingegen kaum Unterschiede im Reflexionslevel zwischen Blattlaus und Pflanzenmaterial, wobei das Pflanzenmaterial teilweise weniger reflektierte, d.h. vermutlich stärker absorbierte, als die Blattläuse.

#### 4.4.2 Schädigung von Wirtspflanzen und Blattläusen durch Laserbestrahlung

##### Schädigung laserbestrahlter Blattflächen

Zur Auswertung der Schäden an den Pflanzenblättern, auf denen die Pflanzenschädlinge während der Laserbestrahlung platziert waren, wurde ein visuelles Boniturschema mit Zuordnung fiktiver Prozentwerte angewendet (Abb. 4.5).



**Abb. 4.5: Bonitur des Schädigungsgrades des Pflanzenmaterials: keine Schädigung nach Laserbestrahlung im rot umrandeten Feld (1), Aufhellung der Blattoberfläche (2), dunkle Verfärbung lässt auf Zellschäden schließen (3), eindeutige Zellschäden nach Laserbestrahlung (4); (Fotos: T. Kiesow)**

Bei der flächigen Applikation traten sichtbare Schäden am Blattgewebe als leichte Aufhellungen und bei stärkeren Schäden als Dunkelfärbungen auf. Dabei wurde zunächst die Oberflächenstruktur des Blattmaterials thermisch belastet. Sowohl eine Zerstörung von Oberflächenstrukturen (bspw. Blatthaare), ein begrenzter Zellabtrag sowie eine begrenzte Denaturierung von Proteinen waren möglich. Eine stärkere Belastung führte zum Platzen von Pflanzenzellen mit einer Zellwasserverdampfung und Zellwasseraustritt. Derart geschädigte Bereiche führten zu einer lokal begrenzten Welke. Hinsichtlich der Pflanzenvitalität sollten diese Schädigungen vermieden werden.

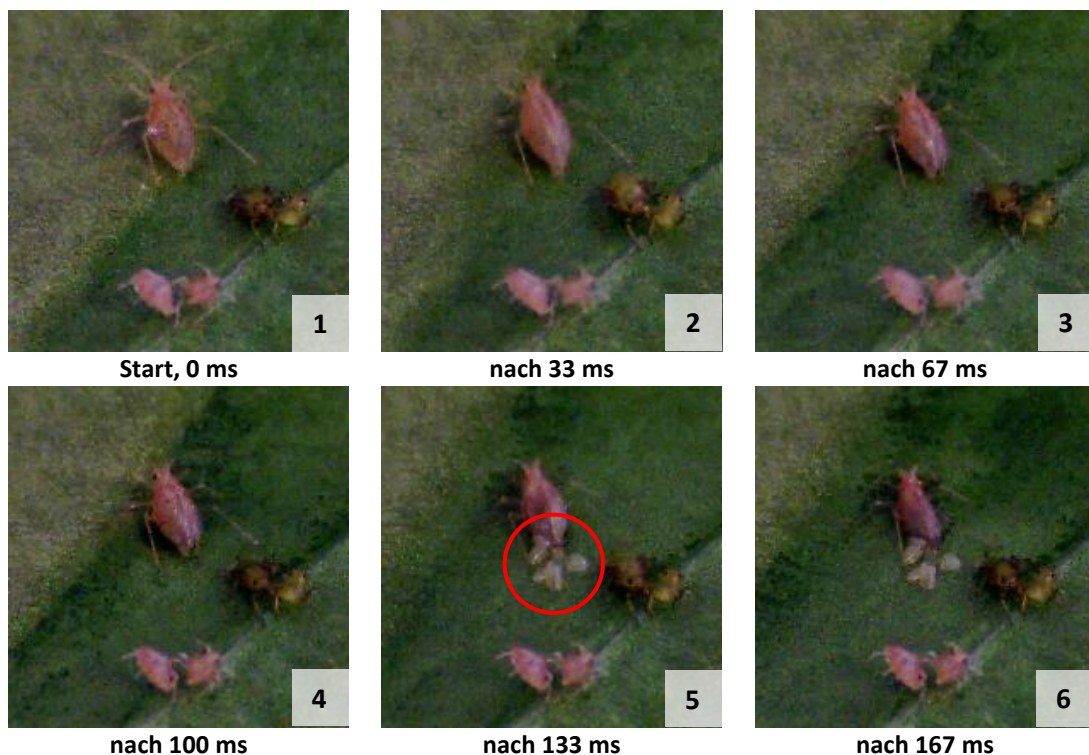
### Schädigung laserbestrahlter Blattläuse

Ungeachtet spezifischer Absorptionscharakteristiken sowie wellenlängen- und dosisabhängiger Wirkungen der Laserbestrahlungen zeigten sich durchgehend ähnliche Effekte bei den bestrahlten Blattläusen (Abb. 4.6).



**Abb. 4.6: Letal geschädigte Blattläuse nach Laserbestrahlungen (vgl. Abb. 4.1, S. 69); v.l.n.r.: Mehligke Kohlblattlaus, Kohlmottenschildlaus, Große Getreideblattlaus und Schwarze Bohnenlaus; (Marx et al. 2013b)**

Die Laserbestrahlung führte einerseits zu einer teilweisen oder vollständigen Dunkelfärbung der Blattlauskörper. Bei der Mehligen Kohlblattlaus schien insbesondere der Kopfbereich sensibel, während bei den anderen Läusen auch Thorax und Abdomen verfärbt waren. Anhand der Dunkelfärbung wurde ein thermischer Effekt durch die eingekoppelte Laserenergie vermutet, wobei das Gewebe nach Übertreten einer Zerstörschwelle und weiterer Energiezufuhr karbonisierte. Gleichzeitig zeigten sich deutliche Deformationen und Verkrüppelungen der Blattlauskörper und Extremitäten. In Videoaufnahmen wurde der Verlust der Körperflüssigkeit (Haemolymphe) nach Aufplatzen der Körperhülle deutlich (Abb. 4.7, Bild 5), eine wesentliche Ursache für das Versagen der Körperstabilität. Auch bei den Extremitäten trat der Verlust an Zellflüssigkeit auf.



**Abb. 4.7: Videosequenz einer durch unidirektionales Scannen flächigen Laserbestrahlung (Tm-Laser,  $\lambda = 1.908 \text{ nm}$ ,  $\varnothing 25 \text{ }\mu\text{m}$ ,  $P = 13 \text{ W}$ ) mit letaler Schädigung einer Blattlaus; (Fotos: C. Marx)**

Auch bei diskontinuierlicher Bestrahlung durch die unidirektionale Laserstrahlführung über eine Fläche von 50 mm<sup>2</sup> wurde eine einzelne Blattlaus sehr schnell letal geschädigt, sodass eine Flucht aus dem bestrahlten Bereich nicht möglich war.

In REM-Aufnahmen zeigte sich, dass die Körperoberfläche neben dem Zusammenfallen durch den Verlust der Körperflüssigkeit aufgeraut wurde (Abb. 4.8).

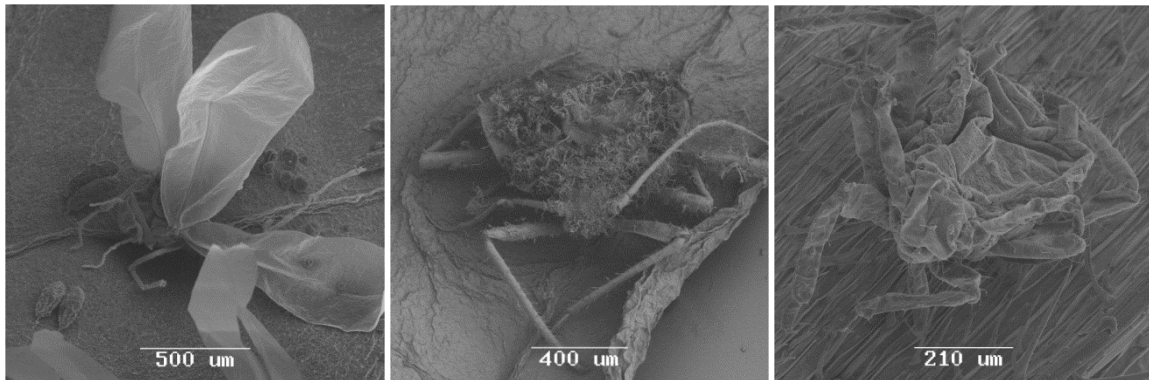


Abb. 4.8: REM-Aufnahmen einer letal geschädigten Kohlmottenschildlaus, einer Mehligen Kohlblattlaus und einer Großen Getreideblattlaus; (Fotos: C. Marx)

### 4.4.3 Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Blattläusen

#### Wellenlängen- und dosisabhängige Wirkung der Laserbestrahlung

Die Pflanzenschädlinge und das Blattmaterial wurden in Abhängigkeit der Energiedichte der Laserstrahlung zunehmend geschädigt (Abb. 4.9).

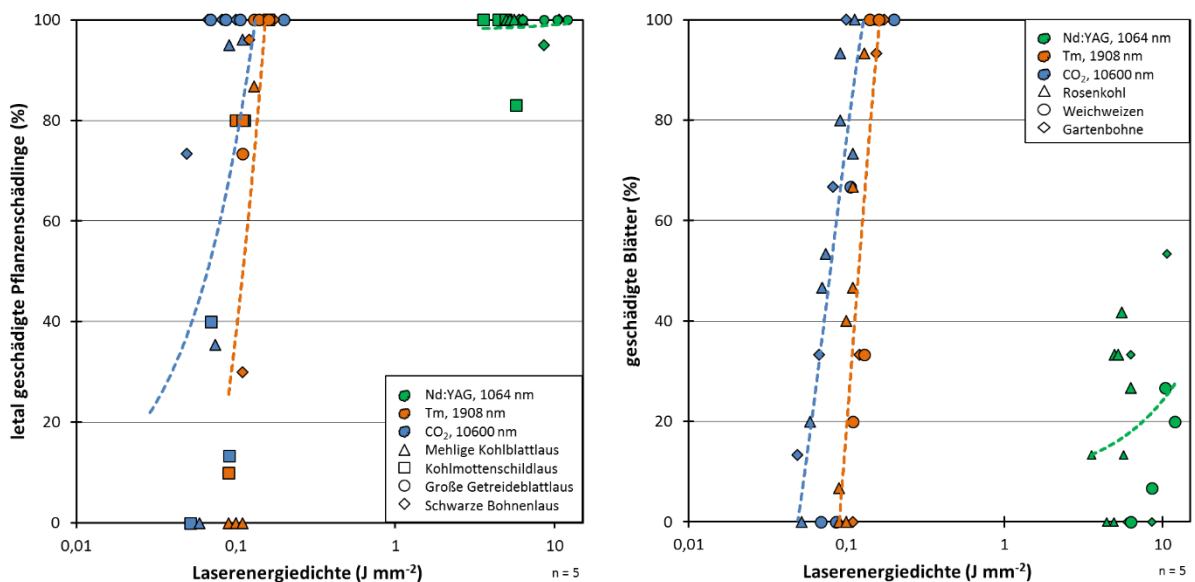


Abb. 4.9: Letale Schädigung unterschiedlicher Blattläuse mit verschiedenen Laserwellenlängen (*links*) sowie Blattschädigung der zugehörigen Wirtspflanzen (*rechts*); Mittelwerte aus je 5 Wiederholungen; (Marx et al. 2013b, verändert)

Bedingt durch vermutlich hohe Absorptionen für 1.908 nm und 10.600 nm Laserstrahlung waren geringere Energiedichten erforderlich als bei 1.064 nm (Nd:YAG-Laser). Jedoch überlappten bei



1.908 nm und 10.600 nm die Schädigungen der Blattläuse sowie des Blattmaterials. Bei 1.064 nm wurden die Schädlinge deutlich stärker durch die Bestrahlung belastet als das Blattmaterial. Dies hatte sich bereits in den Spektraluntersuchungen abgezeichnet (vgl. Abschnitt 4.4.1, S. 73).

In Voruntersuchungen wurde der Bereich der verwendeten Energiedichten bei Laserstrahlung der Wellenlänge 1.064 nm (Nd:YAG-Laser) offensichtlich zu stark eingeschränkt, sodass bereits bei den minimal verwendeten Energiedichten hohe Schädigungsgrade erzielt wurden. Jedoch zeigte sich in Übereinstimmung mit den Erwartungen aus Abschnitt 4.4.1, dass einzig für Laserstrahlung bei 1.064 nm ein signifikanter Unterschied im Schädigungsgrad zwischen Pflanzenschädling und -material erreicht wurde.

#### Ableitung von Letaldosen für flächige Laserstrahlapplikationen

Mit Hilfe linearer Regressionen (siehe Abb. 4.9, S. 77) konnten die zu einer 90 %igen Letalität gehörigen Energiedichten ( $LD_{90}$ ) für die unterschiedlichen Blattläuse ermittelt werden (Tab. 4.5).

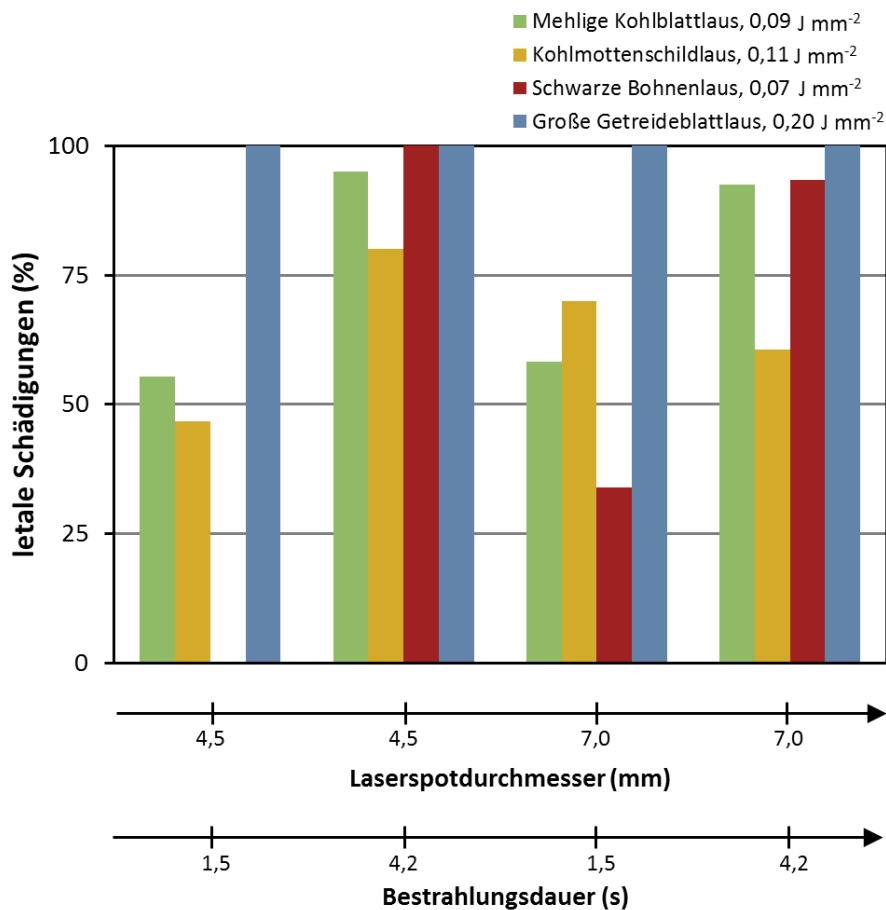
**Tab. 4.5: Ermittelte  $LD_{90}$  Energiedichten (in J) für Blattläuse und  $LD_{10}$  Energiedichten (in J) für Pflanzenmaterial**

	$LD_{90}$ (J mm <sup>-2</sup> )				$LD_{10}$ (J mm <sup>-2</sup> )		
	Mehlige Kohlblattlaus	Kohlmottenschildlaus	Gr. Getreideblattlaus	Schwarze Bohnenlaus	Rosenkohl	Weichweizen	Gartenbohne
Nd:YAG (1.064 nm)	< 4,98	< 3,55	< 6,29	< 5,97	3,87	8,54	6,12
Tm (1.908 nm)	0,14	0,14	0,13	0,15	0,09	0,11	0,11
CO <sub>2</sub> (10.600 nm)	0,10	0,14	< 0,07	0,07	0,05	0,07	0,05

Demnach wurden bei CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung die geringsten Energiedichten benötigt, auch wenn Mehliges Kohlblattläuse und Kohlmottenschildläuse im Vergleich zu den anderen Blattläusen mit höheren Energiedichten bestrahlt werden mussten. Bei Tm-Laserstrahlung (1.908 nm) war dahingegen eine Energiedichte für alle Schädlinge effektiv. Bei Nd:YAG-Laserstrahlung (1.064 nm) war einerseits ein höheres Level der Energiedichte für letale Effekte erforderlich (ca. Faktor 30), andererseits mussten insbesondere auf die Große Weizenlaus und die Schwarze Bohnenlaus höhere Energiedichten appliziert werden. Darüber hinaus konnten auch die Minimalschädigungen ( $LD_{10}$ ) des Pflanzenmaterials ermittelt werden (Tab. 4.5). Dabei zeigte sich, dass nur bei Nd:YAG-Laserstrahlung (1.064 nm) die  $LD_{90}$  Werte der Blattläuse über den  $LD_{10}$ -Werten des Pflanzenmaterials lagen und somit eine effektive Schädlingsbekämpfung bei gleichzeitiger Schonung der Blätter möglich war.

#### Einfluss des Laserstrahldurchmessers und der Bestrahlungsdauer

In den Versuchsreihen mit konstanten Energiedichten bei Variation von Spotdurchmesser und Bestrahlungsdauer zeigten sich bei allen Nd:YAG-Laserbestrahlungen nur minimale Unterschiede in der Wirkung. Bei den CO<sub>2</sub>-Laserbestrahlungen blieben die Blattschädigungen bei den gewählten Energiedichten unverändert hoch. Jedoch zeigte sich bei den Blattläusen, dass der Anteil letaler Schädigungen mit der Bestrahlungsdauer korrelierte (Abb. 4.10, S. 79).



**Abb. 4.10: Letale Schädigungen unterschiedlicher Blattläuse nach CO<sub>2</sub>-Laserbestrahlungen bei konstanten Energiedichten und variierten Laserspotdurchmessern und Bestrahlungsdauern (Zielfläche: 50 mm<sup>2</sup>); Mittelwerte aus je 5 Wiederholungen**

Je länger die Laserstrahlung aktiv auf die Zielfläche (50 mm<sup>2</sup>) wirkte, desto mehr Schädigungen wurden erreicht. Eine größere Laserspotfläche beim Scannen der Zielfläche hatte keinen Einfluss auf die Blattlausschädigung. Obwohl es nicht beobachtet wurde, war davon auszugehen, dass größere Laserspotdurchmesser sich negativ auf das Pflanzenmaterial auswirkten, da tendenziell mehr Laserstrahlung die Blattläuse trifft und der Leistungsbedarf für gleiche Energiedichten höher ist, weshalb lokale Schäden wahrscheinlicher sind.

#### **Ableitung von Letaldosen für selektive Laserstrahlapplikationen**

Mit den für die LD<sub>90</sub>-Energiedichten erforderlichen Laserstrahlleistung sowie der Vorschubgeschwindigkeit, dem Laserspotdurchmesser und der Blattlaus-Körperlänge von 2 mm wurden die Einwirkzeiten der Laserstrahlung auf einzelne Individuen berechnet. Dadurch ließen sich die applizierten Energien ermitteln und mit einem Sicherheitsfaktor von 2 multiplizieren. Unter Berücksichtigung der spektralen Charakteristiken (siehe Tab. 4.4, S. 74) konnten die letal wirkenden Energien berechnet werden (Tab. 4.6, S. 80). Demnach waren die Laserwellenlängen 10.600 nm, 1.908 nm und 1.064 nm ungefähr im Verhältnis 1 : 2,4 : 5,5 wirksam.

**Tab. 4.6: Wirksame Laserenergien (J) zur letalen Schädigung unterschiedlicher Blattlausindividuen**

		Mehlige Kohl- blattlaus	Kohlmotten- schildlaus	Getreide- blattlaus	Schwarze Bohnenlaus
CO <sub>2</sub>	(10.600 nm)	0,9	1,3	0,6	0,6
Tm	(1.908 nm)	1,8	1,7	1,7	2,0
Nd:YAG	(1.064 nm)	3,6	6,0	5,3	8,2

## 4.5 Diskussion

### 4.5.1 Analyse der spektralen Eigenschaften von Blattläusen

#### Ermittlung der spektralen Eigenschaften von Blattläusen

Das vorgestellte Verfahren zur qualitativen Bestimmung der spektralen Eigenschaften von Blattläusen muss kritisch beurteilt werden. Ungeschlossene Messflächen mit zufällig positionierten Blattlausindividuen (mittlere Deckungsgrade bis 35 %, Abb. 4.2, S. 70) auf einer Klebeunterlage in Kombination mit der Platzierung vor bzw. am Rand einer Ulbricht-Kugel bei der Messung von Reflexionsspektren waren unumgänglich. Dabei konnten folgende Fehler aufgetreten sein. Durch die Lücken zwischen einzelnen Blattläusen wurde ein Teil der Messstrahlung ungehindert transmittiert. Zudem waren bei zur Messstrahlachse winkelliger Orientierung der Blattlausoberflächen Mehrfachreflexionen zwischen Blattläusen und dem klebenden Trägermaterial orthogonal zur Achse des Messstrahls möglich. Dadurch konnte die Intensität der auftreffenden und transmittierten Messstrahlung in unbekannter Weise abgeschwächt worden sein. Darüber hinaus variierte die Schichtdicke auf dem Trägermaterial mit der altersbedingten Größe der einzelnen Blattläuse. Es wurde vermutet, dass sich dieser Effekt durch die jeweils hohe Anzahl unterschiedlich großer Blattläuse im Mittel ausglich. Auch wenn die Blattläuse in einer geschlossenen Schicht angeordnet gewesen wären, wäre zur Vergleichbarkeit der Spektren mit dem Pflanzenmaterial bezüglich des Lambert-Beerschen Gesetzes eine Korrektur hinsichtlich des Wassergehalts und der Schichtdicke erforderlich.

Ein Grund für die Schwierigkeiten bei der Platzierung der Blattläuse und der Einstellung der Schichtdicke auf dem Trägermaterial war die Anforderung, die Spektren von lebenden Blattläusen zu dokumentieren. Dabei stand eine zukünftige Anwendung der Laserstrahlung an befallenen Pflanzen im Vordergrund. Jedoch zeigten die Blattläuse einen ausgeprägten Fluchttrieb, sodass eine sehr dichte Anordnung nicht möglich war. Eine Verbesserungsmöglichkeit wäre daher die kontinuierliche Betäubung (dosierte CO<sub>2</sub>-Flutung) der Blattläuse bei der Positionierung auf dem Trägermaterial sowie bei der Aufzeichnung der Spektren.

Alternativ wäre die Verkleinerung der abzudeckenden Messfläche hilfreich, um den Aufwand der Probenvorbereitung sowie die Gefahr potentieller Messfehler (siehe oben) gering zu halten. Als kleinstmögliche Lösung zur Aufzeichnung von Reflexionsspektren könnten lichtleiterbasierte Spektro-



meter (z.B. USB2000+, Ocean Optics, Dunedin, USA) verwendet werden. Bei einer angepassten Positionierung des Messkopfes zum Objekt können kleine Messflächen realisiert und so eventuell einzelne Blattläuse vermessen werden. Wenn die Messungen darüber hinaus in einer Ulbricht-Kugel durchgeführt würden, wären die Reflexionssignale zuverlässig. Durch Verwendung einer geeigneten Lichtquelle auf der Gegenseite der Blattlaus wären auch Transmissionsmessungen möglich. Dazu müsste jedoch die Fixierung der Blattläuse gegeben sein.

### **Verwendung spektraler Eigenschaften zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen**

Untersuchungen zur Bestimmung von Absorptionsspektren tierischer Pflanzenschädlinge waren nicht bekannt. In der Literatur waren jedoch Untersuchungen zu Veränderungen von Reflexionsspektren der Kulturpflanzen in Abhängigkeit des Befalls durch tierische (Mirik et al., 2012) oder durch pilzliche Schaderreger (Moshou et al., 2011) zu finden. Der Fokus lag dabei auf der Detektion und der Beurteilung eines Befalls anhand von wenig aufgelösten Erkundungsbildern und Hyperspektralaufnahmen. Schädlingsbefall führte dabei gegenüber nicht befallenen Kontrollflächen zu artspezifischen Veränderungen (meist Abschwächung) der Reflexion im VIS- sowie NIR-Bereich. Auch die Veränderung von Fluoreszenzspektren nach Schädlingsbefall wurde untersucht (Sui et al., 2012). Diese Signale wurden daraufhin für die Steuerung von Pflanzenschutzmaßnahmen verwendet.

Die qualitativ verwertbaren Spektren (Abb. 4.4, S. 74) zeigten Einsatzmöglichkeiten einer lasergestützten Schädlingsbekämpfung über den beschriebenen Anwendungsfall hinaus. In einigen Wellenlängenbereichen war die abgeleitete Absorption hoch, etwa im UV-Bereich. Entsprechend einsetzbare Lasersysteme sind Xenon-Fluor-Excimer-Laser (351 nm), frequenzgedoppelte Alexandrit-Laser (360...400 nm), frequenzgedoppelte Titan-Saphir-Laser (360...460 nm) und Indium-Gallium-Nitrid-Laser (370...493 nm). Auch im NIR/MIR-Bereich wurden hohe Absorptionen vermutet. Da in diesem Bereich jedoch auch die teils wasserbedingte Absorption im Pflanzenmaterial hoch war, wären entsprechende Laserwellenlängen nur begrenzt einsetzbar (siehe Abschnitt 4.4.1, S. 73). Ein Ansatz zur Nutzung hochabsorptiver und somit effizienter Laserstrahlung wäre eine punktuelle Bestrahlung einzelner Blattläuse. Dazu wären Untersuchungen zur bildgestützten, zielgenauen Bestimmung der Schädlingsposition auf einer Pflanze sowie einer anschließenden Laserstrahlpositionierung (vergleichbar den Untersuchungen in Kapitel 3) erforderlich. Dabei wäre die Zugänglichkeit der Schädlingsposition eine große Herausforderung. Pflanzenschädlinge aus der Gruppe der Blattläuse halten sich meist saugend an den Blattunterseiten ihrer Wirtspflanzen auf, sodass ein Bilderfassungs-, ein Spektrometer- sowie ein Laserapplikationssystem unterhalb der Blattebenen geführt werden müsste.

## **4.5.2 Beurteilung der Schädigung von Blattläusen durch Laserbestrahlung**

### **Bewertung der Schädigung der Wirtspflanzen**

Die aufgetretenen Schädigungen am Pflanzenmaterial waren mit den Beschreibungen in Kapitel 3 bei der Laserbestrahlung von Unkrautpflanzen vergleichbar. Die Wirkung war hierbei jedoch auf oberflächliche Zellschichten begrenzt, wobei maximal einzelne Zellen zerstört wurden (Abb. 4.5, S. 75).

### Bewertung der letalen Schädigung von Blattläusen durch Laserbestrahlung

Bei den durch Laserbestrahlung bedingten Schäden der Blattläuse zeigten sich ähnliche Effekte wie beim Pflanzenmaterial. Die absorptionsabhängige Einkopplung der Laserenergie führte nach einer zunächst reversiblen Erwärmungsphase zu einem starken Temperaturanstieg. In der Folge trat eine irreversible Denaturierung mit anschließender Koagulation von Proteinstrukturen auf (sichtbar in einer Verbleichung und oberflächlichen Aufrauung des Gewebes, Abb. 4.8, S. 77). Zu diesem Zeitpunkt musste die Temperatur bei ca. 60 °C bis 65 °C gelegen haben. Eine fortgesetzte Bestrahlung führte zum Aufplatzen der Blattläuse (Abb. 4.7, S. 76) bedingt durch eine schnelle Ausdehnung der Haemolymphe (ca. 90 °C bis 100 °C). Parallel zur Verdampfung der noch vorhandenen Körperflüssigkeit kam es zu einer Karbonisierung des verbliebenen Gewebes, die zu einer Dunkelverfärbung und einer Verkrustung der Oberfläche führte (Abb. 4.6, S. 76 und Abb. 4.8, S. 77). Durch die Veränderung der Oberfläche verstärkte sich der Absorptionsprozess, sodass weiteres Gewebe verdampfte, verbrannte und sich die Abtragung fortsetzte. Aufgrund der relativ kurzen Einwirkzeiten auf einzelne Blattläuse wurde auf Basis des Bildmaterials vermutet, dass sich der Schädigungsprozess in etwa bis zur Karbonisierung vollzog. Dies wird durch folgende Beispielrechnung bestätigt.

Zur Berechnung der theoretisch erforderlichen Pyrolyseenergie (vollständige Verbrennung) einer einzelnen Laus mit einem mittleren Gewicht von 3 mg bei einem Wassergehalt von 78 Gew.-% (Kagata & Katayama, 2006) und somit ca. 22 Gew.-% Kohlenstoffverbindungen wurden zur Vereinfachung die Bindungsenthalpien von Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ :  $286 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) und Glucose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ :  $1260 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) herangezogen (Atkins & de Paula, 2009).

$$\Delta E = 0,003 \text{ g} \cdot \left( 0,78 \cdot 286 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}} \cdot \frac{1}{18,02 \frac{\text{g}}{\text{mol}(\text{H}_2\text{O})}} + 0,22 \cdot 1260 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}} \cdot \frac{1}{180,15 \frac{\text{g}}{\text{mol}(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6)}} \right) = 42 \text{ J} \quad [4.1]$$

Bezogen auf die ungefähre Größe einer einzelnen Blattlaus ( $2 \text{ mm}^2$ ) wurden mit Abb. 4.9 (S. 77) maximal 20 J auf eine einzelne Laus appliziert. Unter Berücksichtigung der vermuteten Absorption reduzierte sich die tatsächlich eingekoppelte Energie mit Tab. 4.6 (S. 80) auf maximal 8 J. Diese Größenordnung passte somit zu der durchgeführten Berechnung und zu den beobachteten letalen Schäden der Blattläuse, die weit entfernt von einer teilweisen oder vollständigen Pyrolyse waren.

### Bedeutung von sub-letalen Schädigungen bei Pflanzenschädlingen durch Laserbestrahlung

Bei einigen Applikationen mit geringen Energiedichten wurde nicht bei allen bestrahlten Blattläusen eine letale Schädigung erzielt (Abb. 4.9, S. 77). Unmittelbar nicht-sichtbare Schäden konnten nicht erfasst werden. Es war jedoch davon auszugehen, dass einige Bestrahlungen zu sub-letalen Schädigungen geführt hatten. Wie bereits in Abschnitt 4.1.2 (S. 66) beschrieben, wurden in verschiedenen Untersuchungen sub-letale Effekte an Pflanzenschädlingen nach Laserbestrahlungen festgestellt (Samoiloff et al., 1973; Conconi, 1983; Zhang, 1997; Nandakumar, 2002 & 2003; Ren et al., 2006). Neben unmittelbaren Veränderungen im Orientierungs-, Fress- und Paarungsverhalten sowie einer Verkürzung der Lebensdauer wurden auch Effekte auf die nachfolgenden Generationen beobachtet. Dazu gehörte unter anderen Aspekten eine geringere Anzahl an Nachkommen, die wiederum kleiner blieben und zudem teilweise unfruchtbar waren. Jedoch wurde auch beobachtet,

dass Laserbestrahlung unter bestimmten Umständen und in einer passenden Dosis das Larvenwachstum (Fruchtfliegen) stimulieren konnte (Ren et al., 2006). Dazu war anzumerken, dass bei den in der Literatur angeführten Untersuchungen stets mit leistungsschwachen Lasersystemen von 6 mW bis 2 W Leistung und Bestrahlungsdauern von 1 s bis 22 h gearbeitet wurde. Daher wurde vermutet, dass das Auftreten sub-letaler Effekte mit einer kurzzeitigen Teilerwärmung oder längerfristigen sub-letalen Überhitzung der Schädlingkörper mit daraus folgenden thermischen Effekten auf innere Organe zusammenhing. Auch könnten die Fortpflanzungsapparate betroffen worden sein, sodass bereits bei der Entwicklung der aus Jungfernzeugung oder Eiern hervorgehenden Nachkommen Schäden übertragen wurden. Eine durch irreversible Koagulation entstandene innere Gewebevernarbung wäre denkbar.

Vor diesem Hintergrund ist auch der Einsatz von UV-Laserstrahlung (100 nm bis 380 nm) kritisch zu beurteilen. Strahlung im Bereich bis 200 nm wirkt ionisierend, d.h. es können Elektronen aus Atomhüllen geschlagen werden. Somit können beim Einsatz von UV-Laserstrahlung erbgutverändernde Reaktionen hervorgerufen werden. Da, wie bereits erwähnt, stets die Möglichkeit von sub-letalen Bestrahlungen gegeben war, wäre der Einsatz einer solchen Strahlquelle nicht zulässig, da bestrahlte Pflanzenschädlinge aus dem Anbau Raum oder einer Lockfalle entkommen und mit ihrem veränderten Erbgut die Populationsentwicklung der Umgebung belasten könnten.














In Folgeuntersuchungen sollten daher Aspekte der Langzeitwirkung von partiellen sowie sub-letalen Schädigungen nach Laserbestrahlung auch bei Hochleistungslasersystemen mit Wellenlängen im Bereich 300 nm bis 10.600 nm für Applikationszeiten unter 100 ms untersucht werden.

### **4.5.3 Bewertung der Modellierung letaler Laserbestrahlungen von Schädlingen**

#### **Beurteilung der Wirksamkeit von Laserbestrahlungen auf Schädlinge**

Die Untersuchungen zeigten, dass eine wirksame Bekämpfung von Blattläusen mit Laserstrahlung möglich war, auch wenn die Pflanzenschädlinge auf sensiblem Blattmaterial lokalisiert waren. Die Letaldosen wurden im Vergleich mit Literaturwerten eingeordnet (Tab. 4.7, S. 84). Dabei wurden einzelne LD<sub>90</sub>-Werte aus den Schädigungsgraden errechnet. Auf die beobachteten Effekte bei unterschiedlichen Wellenlängen und Letaldosen wird in den darauffolgenden Abschnitten eingegangen.

Tab. 4.7: Vergleich der ermittelten LD<sub>90</sub>-Schädigungswerte mit Literaturangaben

Schaderreger	Foto <sup>+</sup>	LD <sub>90</sub> (J)	Lasersystem	Quelle
Großer Kornbohrer <i>Prostephanus truncatus</i>		> 600 <sup>#</sup> 480	488 nm; 100 mW; > 1,67 h 632,8 nm; 12 mW; 11,1 h	Conconi et al. 1983
Getreideplattkäfer <i>Oryzaephilus surinamensis</i>		> 600 <sup>#</sup>	488 nm; 100 mW; > 1,67 h	Conconi et al. 1983
Maiskäfer <i>Sitophilus zeamais</i>		600 <sup>#</sup>	488 nm; 100 mW; 1,67 h	Conconi et al. 1983
Essigälchen (Nematode) <i>Panagrellus silusiae</i>		400 <sup>#</sup>	694,3 nm; keine Angaben	Samoiloff et al. 1973
Reismehlkäfer <i>Tribolium confusum</i>		120	488 nm; 100 mW; 0,33 h	Conconi et al. 1983
Rotbrauner Reismehlkäfer <i>Tribolium castaneum</i>		90	632,8 nm; 6 mW; 4,14 h	Conconi et al. 1983
Schwarzbäuchige Taufliege <i>Drosophila melanogaster</i>		67	650 nm; 60 mW; 0,31 h	Ren et al. 2006
Europ. Wanderheuschrecke <i>Locusta migratoria</i> , Adulte		29	808 nm; 2 W; 15 s	Yao et al. 2008
Europ. Wanderheuschrecke <i>Locusta migratoria</i> , Nympe		6	808 nm; 2 W; 3 s	Yao et al. 2008
Große Getreideblattlaus <i>Sitobion avenae</i>		13 0,3 0,1	1.064 nm; 10 W; 1,3 s 1.908 nm; 4 W; 0,1 s 10.600 nm; 1 W; 0,1 s	berechnet, Tab. 4.5, S. 78
Schwarze Bohnenlaus <i>Aphis fabae</i>		12 0,3 0,1	1.064 nm; 9 W; 1,3 s 1.908 nm; 4 W; 0,1 s 10.600 nm; 1 W; 0,1 s	berechnet, Tab. 4.5, S. 78
Mehlige Kohlblattlaus <i>Brevicornye brassica</i>		10 0,3 0,2	1.064 nm; 7 W; 1,3 s 1.908 nm; 4 W; 0,1 s 10.600 nm; 2 W; 0,1 s	berechnet, Tab. 4.5, S. 78
Kohlmottenschildlaus <i>Aleyrodes proletella</i>		7 0,3 0,3	1.064 nm; 5 W; 1,3 s 1.908 nm; 4 W; 0,1 s 10.600 nm; 3 W; 0,1 s	berechnet, Tab. 4.5, S. 78

\* teilweise von pixelio.de

# geschätzt

### Bedeutung der Laserwellenlänge für die Letaldosen

Die Ursache für die geringeren Letaldosen bei CO<sub>2</sub>- und Tm-Laserbestrahlung war eine vermutet hohe, wellenlängenabhängige Absorption im Gewebe der Blattläuse (Abb. 4.4, S. 74). Auch in anderen Untersuchungen wurde mit stark absorbierenden Laserwellenlängen gearbeitet. Yao et al. (2008) stellten fest, dass eine Bestrahlung von Heuschrecken mit Laserstrahlung bei 808 nm auch bei Schonung der Wirtspflanzen (Grüne Borstenhirse, *S. viridis*) möglich war. Dies deckte sich mit den Beobachtungen der Laserbestrahlungen mit Nd:YAG-Laserstrahlung (1.064 nm). Daher wurde vermutet, dass Heuschrecken ein ähnliches Absorptionsverhalten im NIR-Bereich aufweisen wie Blattläuse, was sich auch in den erforderlichen Letaldosen widerspiegelte. Die deutlich höhere Letaldosis für Taufliegen (Faktor 2,5) ist mit dieser Vermutung jedoch nicht zu erklären, zumal mit 650 nm eine vermutlich gut absorbierte Laserwellenlänge verwendet wurde.

### **Bedeutung des Laserstrahldurchmessers für die Letaldosen**

Kleine Laserspotdurchmesser würden Vorteile bieten, wenn einzelne Pflanzenschädlinge zielgerichtet mithilfe einer bildgestützten Lasersteuerung bestrahlt werden könnten. Der Laserstrahl würde in diesem Fall den Schädling abdecken, aber nicht seitlich vorbei bis zum Pflanzenmaterial transmittieren. In diesem Fall könnten selbst vom Pflanzenmaterial stark absorbierte Laserwellenlängen verwendet werden, da die Laserstrahlung primär direkt im Pflanzenschädling einkoppeln würde und das darunterliegende Pflanzengewebe unbelastet bliebe. Eine weitere Optimierung zur Schonung des Blattmaterials ist möglich, wenn Lasersysteme verwendet werden, bei denen die Laserenergie nur in einem sehr kleinen Fokusbereich wirksam wird. Dazu kämen Verfahren mit so genannten optischen Linsen in Frage. Prinzipiell wird der Laserstrahl dabei zunächst stark aufgeweitet, über eine ringförmige Blende geführt und anschließend neu fokussiert. Auf diese Weise wird ein Intensitätsmaximum nur in einem eng begrenzten Bereich erzielt. Bei Einsatz eines solchen Systems wäre zusätzlich durch einen Pulsbetrieb mit Einzelpulsdauern von bspw. 300 fs und Pulswiederholraten bis zu 10 kHz eine aufgrund von sehr geringer Wechselwirkungsdauer nicht-thermische Energieeinkopplung in den Pflanzenschädling möglich (Photodisruption). Ein solcher Treffer würde nicht die oben genannten Schädigungsreaktionen hervorrufen, sondern direkt zu einer Perforierung der Körperhülle mit anschließendem Verlust der Haemolymphe führen. Ein vergleichbares, jedoch geringdosiertes Verfahren wird bereits zur Einschleusung von Makrostrukturen (bspw. DNS Fragmente) sowie Markermolekülen in Einzelzellen angewendet (Verfahren der Lasertransfektion bereits für Pflanzenzellen untersucht (Schinkel et al., 2008)). Bei der Anwendung zur Pflanzenschädlingbekämpfung käme es bei entsprechend hohen Intensitäten und starken Fokussierungen entsprechend der Pulswiederholrate zu einer Ionisierung der Luft im Fokuspunkt mit sehr kurzer Plasmabildung. Auch dieses Plasma könnte zur Schädigung naher Blattläuse beitragen. Jedoch wäre für eine solche Laserapplikation eine sehr präzise Positionierung des Laserstrahls zum Zielobjekt erforderlich. Zudem sind entsprechende Geräte mit einem technischen Aufwand verbunden, der eine raumsparende oder mobile Lösung bislang verhindert.

### **Bedeutung der Bestrahlungsdauer für die Letaldosen**

Ein Einflussfaktor auf die Effektivität der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Laserbestrahlung schien die Kombination geringer Wechselwirkungszeiten mit den einzukoppelnden Energien zu sein (Abb. 4.10, S. 79). In anderen Untersuchungen wurden die Zielobjekte mit relativ schwachen Laserleistungen über lange Zeiträume bestrahlt. Einerseits waren anfänglich, d.h. in den 1970er Jahren, keine stärkeren Laserstrahlquellen verfügbar. Andererseits stand bei den Untersuchungen durchaus das Bestreben im Vordergrund, Langzeiteffekte der Laserbestrahlung auf die Populationsentwicklung zu dokumentieren. Wesentlich war jedoch, dass unmittelbar schädigende Effekte bei langandauernden Bestrahlungen (30 min und länger) kaum beobachtet wurden, auch wenn letztlich hohe Laserenergien in die Zielobjekte eingekoppelt worden waren. Die Pflanzenschädlinge konnten irreversible Schädigungen vermeiden, indem ein Großteil der aufgenommenen Energie (gewisse Energieanteile mussten im Körper wirken, da ansonsten keine Langzeiteffekte beobachtet worden wären) wieder an die Umgebung bspw. durch Konvektion abgegeben wurde. Eine unmittelbar schädigende Wirkung war somit intensitäts- und zeitabhängig.

### **Bedeutung der Schädlingsgröße für die Letaldosen**

Eine weitere Ursache für die starken Unterschiede zwischen den notwendigen Schädigungsenergien waren vermutlich die unterschiedlichen Körpergewichte der Pflanzenschädlinge, wodurch sich die aufgenommene Laserstrahlungsenergie durch Wärmeleitung im Körpergewebe anders verteilte. Auch die Körperoberflächen der größeren Insekten unterschieden sich durch ihr Chitin-Exoskelett grundsätzlich von der weichen Körperhülle der Blattläuse. Daher wurde vermutet, dass die Absorption der verwendeten Laserwellenlängen (1.064 nm, 1.908 nm und 10.600 nm) sowie die hervorgerufene Wirkung bei großen Insekten zu lokal begrenzten Beschädigungen führten. Beispielsweise wurde bei Wanderheuschrecken die höchste Sensibilität gegenüber Laserstrahlung bei einer Applikation auf den Kopfbereich festgestellt (Yao et al., 2008). Bei der Bestrahlung des Thorax oder des Abdomens waren 20 % bzw. 33 % höhere Dosen für letale Schädigungen erforderlich. Die höhere Sensibilität des Kopfbereiches wurde auch in den Untersuchungen mit Blattläusen dokumentiert (Abb. 4.6, S. 76). Jedoch war hier das Verhältnis des verwendeten Laserspotdurchmessers zur Körpergröße der Zielobjekte deutlich geringer und somit vorteilhafter für eine wirksame Bestrahlung.

### **Einsatzmöglichkeiten der lasergestützten Blattlausbekämpfung**

Es stehen Lasersysteme zur Verfügung, deren Baugrößen mobile Applikationssysteme ermöglichen würden. Dazu gehören vor allem Laserdioden, die bereits in Stiftform Ausgangsleistungen von mehreren Watt erreichen. Die Energieversorgung kann über moderne Batteriesysteme realisiert werden. Ein solches Lasersystem könnte auf einem selbstfahrenden Feldroboter platziert werden, der mit optischen Sensoren und einer adjustierbaren Mikroskopkamera ausgestattet wäre. Ab einem Kulturpflanzenstadium, bei dem der Feldroboter im Bestand unterhalb der Blattebenen agieren kann, wäre eine vertikale Applikation nach bildgestützter Erkennung denkbar. Da die Zugänglichkeit aller befallenen Pflanzenteile jedoch als kritisch zu bewerten ist, wäre eher ein handgeführter Einsatz bei wertvollen Kulturen denkbar. Dabei könnte die Laserstrahlung auch für die Entfernung von oberflächlichem Pflanzenbewuchs bspw. Flechten eingesetzt werden.

Grundsätzlich würde eine Laserbestrahlung von Blattlauspopulationen stets einen Eingriff in deren Populationsdynamik bedeuten. Die bekannten exponentiellen Wachstumsphasen könnten auch bei nur teilweisem Bestrahlungserfolg unterbrochen bzw. verzögert werden, wenn die Populationsdichte entsprechend verringert und so z.B. die reizgesteuerte Ausbildung von geflügelten Adulten verhindert würde. Hierzu sind weiterführende Untersuchungen erforderlich.

Für Anwendungen in Feldkulturen (bspw. Kohlanbau) soll folgende Beispielrechnung für den Gesamtenergiebedarf einer gezielten Laserbekämpfung von bereits angesiedelten Blattläusen aufgestellt werden. Die Populationsdynamik von Blattlauskolonien ist jahreszeitlich von vielen äußeren Faktoren abhängig, u.a. der Anwesenheit von Fressfeinden (Thies et al., 2011). Daher wird ein Szenario abgeschätzt, bei dem im Mittel 10 Blattläuse pro Pflanze bekämpft werden sollen. Bei einem Pflanzraster von 35 cm in der Reihe und 50 cm Pflanzabstand zwischen den Reihen befinden sich 6 Pflanzen  $\text{m}^{-2}$ , d.h. ca. 60.000 Pflanzen  $\text{ha}^{-1}$ . Somit müssten 600.000 Blattläuse bekämpft werden. Bei Verwendung eines der effektiven Lasersysteme müssten im Mittel 0,9 J pro Blattlaus aufgebracht werden (siehe Tab. 4.6, S. 80). Unter Berücksichtigung des elektro-optischen Wirkungsgrad des Lasersystems von

ca. 10 % ergäbe sich somit eine erforderliche Energiemenge von 5.400 kJ (entspricht etwa 1,5 kWh). Auch bei vielfach höheren Befallsstärken wäre der erforderliche Energieeinsatz überschaubar. Weitaus kritischer wäre dahingegen die Applikationsdauer zu beurteilen. Alternativ könnte hochabsorptive Laserstrahlung auch in Lebendfallen verwendet werden, um angelockte Pflanzenschädlinge in regelmäßigen Intervallen abzutöten. Ein wesentlicher Vorteil wäre dabei der Verzicht auf chemische Insektizide sowie die Vermeidung der damit verbundenen regelmäßigen Material- und Nachrüstkosten. Darüber hinaus wäre bei Integration einer bildgestützten Erkennung und Differenzierung von Schad- und Nutzinsekten auch eine selektive Bekämpfung mittels Laserstrahlung möglich.

Hinsichtlich der Wirksamkeit von Laserbestrahlungen ist anzuführen, dass sich bei Insektizidwendungen Entwicklungen der Resistenzbildung gegen bestimmte Pflanzenschutzmaßnahmen zeigen (geschätzte Einsatzdauer von Insektiziden derzeit maximal 20 Jahre (Bayer CropScience, 2012b)). Solche spezifischen Resistenzen könnten sich gegen die thermische Wirkung einer selektiven Laserbestrahlung nicht ausbilden.

## 4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Die selektive Bekämpfung von Pflanzenschädlingen mittels Laserbestrahlung konnte untersucht werden. Die Strahlungsenergie konnte bei der Auswahl geeigneter Laserwellenlängen gut in den Pflanzenschädling einkoppeln. Die Untersuchungen der spektralen Eigenschaften haben gezeigt, dass sich insbesondere Laserwellenlängen im Bereich 764 nm bis 772 nm eignen, da dann die vermutete Absorption im Pflanzenmaterial gering und so das Risiko einer Schädigung der Kulturpflanzen minimal war. Im Vergleich zur Literatur waren deutlich geringere Letaldosen für die effektive Bekämpfung von Blattläusen erforderlich als bei größeren Pflanzenschädlingen.

Eine zukünftige Anwendung sollte ein bildgebendes Verfahren zur Detektion und eine daraus abgeleitete Steuerung der Laserstrahlpositionierung beinhalten. Somit wären individuelle, dosisangepasste Laserbestrahlungen bei weitgehender Schonung des Pflanzenmaterials möglich. Zudem wäre die Möglichkeit einer Diskriminanz zwischen Pflanzenschädlingen und Nützlingen gegeben. Eine selektive Applikation würde daher den Grad der Umweltschonung erhöhen.

Dieser Ansatz könnte in Lebendfallen verwendet werden, um durch chemische oder lichtgesteuerte Reize angelockte Pflanzenschädlinge durch Laserbestrahlung abzutöten. Wesentliche Vorteile wären dabei der Verzicht auf Insektizide und die einsatzdauerabhängige Entsorgung mit Pflanzenschädlingen belegter Materialien (Klebetafeln). Darüber hinaus wäre bei Integration einer bildgestützten Erkennung und Differenzierung von Schad- und Nutzinsekten auch eine selektive Bekämpfung mittels Laserstrahlung möglich.

Darüber hinaus wäre ein mögliches Einsatzgebiet die selektive Bekämpfung von anfliegenden Schädlingen in einer Gewächshausbelüftung. In Forschungs- und Zuchtgewächshäusern mit hohen Hygieneanforderungen werden bislang engmaschige Netze eingesetzt, um Pflanzenschädlinge fernzuhalten. Mitunter wird jedoch der Luftwechsel des Gewächshauses durch die Netze stark eingeschränkt. Mit einem technisch weiterentwickelten, sensorgestützten Lasersystem könnte entlang der Lüftungsöffnung eine Abschirmung ohne Einfluss auf Luftströmungen realisiert werden. Dies setzt die Laserbestrahlung von fliegenden Pflanzenschädlingen in der Luft voraus. Erste Ansätze wurden dazu von Myhrvold (2010) entwickelt, wobei die Bekämpfung von humanpathogenen Stechmücken verfolgt wurde. Auch hier wäre eine sensorbasierte Unterscheidung von Nützlingen sowie Nichtzielobjekten und Schädlingen denkbar.



## **5 Untersuchungen zur nicht-letalen Laserlichtwirkung auf Pflanzen am Beispiel Produktmarkierung**

### **5.1 Einleitung und Stand des Wissens**

#### **5.1.1 Indirekte und direkte Produktmarkierungen**

Die Bedeutung einer eindeutigen Kennzeichnung von Produkten hat in den vergangenen Jahren im Sinne von Rückverfolgbarkeit und Produktsicherheit zugenommen. Die Hintergründe dafür sind, dass sich belastete Lebensmittel auf dem Markt befanden, deren Ursprung nur begrenzt zurückverfolgt und somit Lücken in der Kontrollkette nicht identifiziert werden konnten. Auch Pflanzen und Pflanzenprodukte waren betroffen. Die intensive Pflanzenproduktion erfolgt zunehmend durch spezialisierte Produzenten in Vernetzung mit engmaschigen Handelsketten. Dabei nimmt die Anzahl zu differenzierender Produkte kontinuierlich zu. Zusätzlich wächst zwischen den Produzenten der Konkurrenzdruck stetig. Deshalb versuchen viele Produzenten, die Produktqualität mit Zertifizierungen zu schützen, z.B. durch Deklaration von virusfrei-getestetem Material. Dies ist dem Begriff der Produktqualität als Teil der Produktsicherheit zuzuordnen. Unter Produktsicherheit ist allgemein zu verstehen, dass die in den Verkehr gebrachten Produkte für den Verbraucher sicher sind. Sie hängt wiederum stark davon ab, ob die Produkte eindeutig den zugehörigen Produktions- sowie Transportschritten zugeordnet werden können. Dies gilt für alle gartenbauliche Produkte, die zunehmend international produziert und gehandelt werden.

Bislang werden Kennzeichnungen mit Aufklebern und Etiketten realisiert (bspw. bei Äpfeln mit Sortenname und Herkunftsland oder bei Ziergehölzen als Schild mit Draht sowie als Klebeetikett auf dem Topf). Produkt- und Produktionsinformationen sind dabei in ein- und zweidimensionalen Mustern verschlüsselt, um sowohl die Einzelprodukt-Datenerfassung bei hoher Informationsdichte zu standardisieren (bspw. Barcodescanner) als auch sensiblere Produktionsdetails zu schützen. Zudem werden ganze Produktchargen auf diese Weise kostengünstig, schnell und zumindest bis zur nächsten Warenübergabe markiert. Besonders in der Handelslogistik ist die Verwendung von Barcodes üblich, die mit handgeführten oder stationären Lesegeräten gescannt werden können. Das Leseverfahren beruht dabei auf der Erkennung des Kontrasts, der Breite und des Abstandes von vertikal gedruckten Strichen auf dem Etikettenhintergrund. Bei der Abtastung des Codes wird durch einen „Scanner“ ein Laserstrahl niedriger Leistung ausgesendet. Die Intensität der vom Objekt reflektierten Strahlung, orts aufgelöst über die Strahlwinkelablenkung im Scanner, ergibt die digitalisierte Abbildung des Codes am Detektor (Photodiode). Die erhaltene Information wird anschließend mit Hilfe eines spezifischen Algorithmus decodiert. Durch schnelle Wiederholungen (d.h. der Strahl tastet den Barcode mehrfach ab) wird das Leseergebnis abgesichert und durch eine ebenfalls enthaltene Prüfsumme verifiziert (Lenk, 2003). Bei den meist verwendeten 1D-Barcodes (wie z.B. EAN-13) muss das Lesegerät mindestens eine durchgängige Zeile erfassen, um den Code zu

entziffern. 2D-Codes (wie der QR-Code) werden bildverarbeitend erfasst und analysiert (Ha, 2011). Der höhere Leseaufwand lohnt sich wegen der Realisierbarkeit einer erhöhten Informationsdichte und einer geringeren Anfälligkeit gegenüber Teilbeschädigungen.

Daneben wurde die RFID-Technologie (*Radio Frequency Identification*) entwickelt, wobei die Daten von passiv oder aktiv sendenden RFID-Tags mit RFID-Lesegeräten berührungslos und auch nicht in Sichtlinie erfasst werden. Da die Einführung dieser Technik besonders in Branchen mit vergleichsweise rauen Umgebungsbedingungen und hohem Verunreinigungspotential (Wasser, Schmutz) kritisch ist, werden sogenannte *Smart Labels* eingesetzt, bei denen Barcode und RFID-Chip kombiniert sind (Ohmayer, 2011). Die RFID Technik findet zunehmend Anwendung in der agrarwirtschaftlichen Lebensmittelproduktion (Costa et al., 2013) oder in der gartenbaulichen Ziergehölzproduktion (Luvisi et al., 2010) zur Produktrückverfolgung.

Wesentlicher Nachteil der zuvor genannten Markierungsverfahren ist jedoch, dass die Markierung nicht direkt mit dem Produkt verbunden ist. Durch die Trennbarkeit von Code und Produkt können Informationsträgermaterialien vertauscht, beschädigt oder gar verloren gehen. Es besteht dann zum einen die Gefahr, dass Produkte nicht mehr zugeordnet werden können, was sich negativ auf die nachfolgende Warenstromkette auswirkt. Zum anderen ist die Fälschungssicherheit vermindert, da nur direkte, untrennbare Markierungen echte (Marken-)Produkte von Plagiaten mit gefälschten Etiketten und evtl. Zertifizierungsscheinen unterscheiden lassen. Dies ist auch bei landwirtschaftlichen und gartenbaulichen Produkten ein relevantes Problem, wie beim Nachweis ökologisch-produzierter Ware.

Daher ist eine Alternative zu den genannten Verfahren die direkte Produktmarkierung. Diese kann durch einen Farbauftrag auf die Produktoberfläche mittels Stempeln oder Druckern realisiert werden. Die Qualität der Markierung hängt dabei jedoch maßgeblich von der Zugänglichkeit und der Eignung der Produktoberfläche ab. Die Farbpigmente und eventuell notwendige Additive können jedoch wiederum eine Umweltbelastung darstellen oder sind nicht untrennbar mit den Produkten verbunden.

Somit lassen sich die Anforderungen an Produktmarkierungen im Bereich Gartenbau unter folgenden Stichpunkten zusammenfassen: Identifikation von Einzelprodukten (Individualität), Untrennbarkeit der Markierung vom Produkt, Robustheit gegenüber Umwelt- und Handhabungseinflüssen, Gewährleistung der Produktvitalität, Schonung der Umwelt sowie Gewährleistung von Fälschungssicherheit und Rückverfolgbarkeit.

### **5.1.2 Produktmarkierung mittels Laserstrahlung**

Durch gezielte Veränderungen der Produktoberfläche durch einen induzierten Farbumschlag, eine partielle Oberflächenverbrennung oder eine Gravur kann eine direkte Lasermarkierung umgesetzt werden. Wie stark sich die Markierung ausprägt, ist dabei abhängig von der eingebrachten Energie. Daher bietet sich Lasertechnik mit lokal gut dosierbarer Energieeinkopplung an. In Abhängigkeit von der Strahlungsintensität sowie vom Material und von der Beschaffenheit der Produktoberfläche

können durch Strahlablesysteme (Galvanometer) beliebige 2D-Markierungen mit vergleichsweise hohen Geschwindigkeiten erzeugt werden. Bei schwacher Bestrahlung wird ein Farbumschlag induziert. Bei höherer Intensität erfolgt die Markierung mittels gezielter Verbrennung der Materialoberfläche. Nach Überschreiten einer bestimmten Energiedichte wird Material von der Oberfläche abgetragen. Für die Markierung von pflanzlichen, lebenden Produkten sind Laser-Verfahren bekannt, die bspw. Werbeschriftzüge auf die robuste Schale von Zitrusfrüchten aufbringen (Sunkist USA; Stiles, 2004). Jedoch gibt es derzeit kein kommerzielles Verfahren zur individuellen Direktcodierung, obwohl beim Einsatz von Laserstrahlung mehrfach eine vernachlässigbare Produktschädigung dokumentiert wurde. Während dabei für 1D- und 2D-Barcodes verschiedene Normen vorliegen (Palmer, 2007), sind Verfahren zur direkten Lasermarkierung auf den Oberflächen von Pflanzenprodukten nicht standardisiert. Entsprechende Standardisierungsverfahren müssen noch evaluiert werden.

Seit den 1990er Jahren wurde der Einsatz von Lasermarkierungen zur Kennzeichnung von Lebensmitteln untersucht. Piliero & Billyon (1990) entwickelten ein Patent zur Lasermarkierung durch oberflächliche Verbrennung von Käse- und Fleischwaren. Die Produkte wurden dabei leicht karbonisiert, während eine tiefe Gravur vermieden wurde. Die Kennzeichnung wurde mit Markiermasken und verschiebbaren Umlenkspiegeln realisiert (Piliero, 1992). Drouillard und Kanner (1997) entwickelten eine Methode zur Markierung von Obst und Gemüse mittels CO<sub>2</sub>-Laser mit dem Ziel, eine alternative Markierungstechnik zu Preisschildern und Aufklebern bereitzustellen. Bei ihrer Methode nutzten sie *Price-Look-Up-Codes* (PLU; PEIB, 1995), welche mittels Laser auf die Fruchtschale übertragen wurden, um Preisinformationen direkt über das Produkt abrufbar zu machen. Ihre Untersuchungen führten sie an Zitrusfrüchten durch. Später verbesserten sie ihr System und wendeten es auch auf andere Produkte an (Drouillard & Kanner, 1999). Die Laserkennzeichnung bot besonders dann Vorteile, wenn Aufkleber bei bestimmten Produkten nicht funktionierten (bspw. bei Pfirsichen aufgrund ihrer samtigen Behaarung). Einerseits verunreinigten abgelöste Aufkleber Packmaschinen teilweise so stark, dass Produktionsausfälle auftraten, andererseits konnten bei Nutzung einer Lasermarkierung die Kosten für die Aufkleber sowie die Einzelkennzeichnung eingespart werden. Je eingesetztem Laser konnten 17 Markierungen pro Sekunde umgesetzt werden. Das war doppelt so viel wie mit einer konventionellen Etikettiermaschine. Bei ungleichmäßigen Produktoberflächen wurde auch ein lebensmitteltauglicher Farbauftrag während der Lasermarkierung eingesetzt, um den Kontrast zwischen Markierung und Produkt zu vereinheitlichen (bspw. grüne Farbe bei Limetten) (Drouillard & Kanner, 1999). Dies gelang bei einem minimalen Farbstoffverbrauch von ca. 19 L pro Monat bei 380.000 markierten Früchten pro Tag (Stiles, 2004). Das Verfahren konnte jedoch bei unregelmäßigen Produktoberflächen, wie bei Cantaloupe-Melonen (*Cucumis melo* var. *cantalupensis*) nur begrenzt eingesetzt werden. Der Einsatz der von Drouillard und Kanner entwickelten und von der Fa. Durand-Wayland Inc. (LaGrange, GA, USA) industriell verwendeten Methode ([www.durand-wayland.com](http://www.durand-wayland.com)) wurde darüber hinaus in einer Konsumentenstudie zum Thema „Essbare Markierungen“ untersucht. Neben Fragen zur grundsätzlichen Einstellung gegenüber Produktkennzeichnungen auf Früchten sollten die Befragten Früchte mit Aufklebern und Lasermarkierungen bewerten. Trotz einer grundsätzlich positiven Stimmung für die klebstofflose, berührungslose und somit vermutlich weniger schädliche Methode wurde der Begriff „Laser“ teilweise kritisch im Zusammen-

hang mit Lebensmitteln angesehen. Demnach war stets eine Erklärung des Lasermarkierungsverfahrens hinsichtlich Unschädlichkeit notwendig. Darauf aufbauend wurden angepasste Vermarktungsstrategien skizziert, um lasermarkierte Produkte effektiv anzubieten (Clark, 2004). Ein Anwendungsbeispiel ist im ökologischen Anbau in Australien zu finden. Dort wurden 14 Avocados pro Sekunde mit einem Firmenlogo markiert. Durch die Einsparungen für Klebeetiketten konnten die Anschaffungskosten von umgerechnet ca. 50.000 € in 5 Jahren abgeschrieben werden (White, 2008). Ein ähnliches Verfahren patentierten Heck et al. (2007). Im Prozessablauf fand zunächst eine Einlaufkontrolle mittels Kamera zur Bestimmung der optimalen Markierungslage und -größe statt. Daraufhin wurde eine farbveränderliche, anhaftende und lichtempfindliche Beschichtung aufgesprüht. Der gewünschte Farbumschlag in der Beschichtung wurde durch gezielte Laserbestrahlung hervorgerufen, welche optional mit einer Zusatzbeschichtung zur Erhöhung der Haltbarkeit versiegelt wurde. Der wesentliche Vorteil dieser Methode wurde darin gesehen, dass der Laser die Epidermis nicht verletzte (Heck et al., 2007). Eine Patentanmeldung von Longobardi zur Markierung von Obst (Äpfel, Wassermelonen) mit einem CO<sub>2</sub>-Laser beinhaltete eine Vorreinigung des Obstes sowie eine anschließende Versiegelung. Dabei wurden Markierungen von 3 mm · 3 mm Größe verwendet, welche unlösbar mit dem Produkt verbunden waren und die Rückverfolgbarkeit der Produkte gewährleisten sollten (Longobardi, 2007). Eine ausführliche Validierung dieses Systems liegt nicht vor. Geräte zur gezielten Verfärbung von Eierschalen durch Laserbestrahlung, um Werbung, Haltbarkeitsdatum und Rückverfolgbarkeitsinformationen aufzutragen, sind verfügbar. Da maximal nur 8 % (d.h. ca. 25 µm) der Dicke der Eierschale beeinflusst wird, wurde die Lasermarkierung von Eiern als unschädlich erachtet (Parker, 2011). Durch den simultanen Einsatz mehrerer Laser konnte die Markierungsproduktivität erhöht werden (Griffiths et al., 2011). Vor dem Hintergrund von Lebensmittelproblemen wie der Vogelgrippe und im Sinne der DIN EN ISO 22005:2007 ist eine fälschungssichere Markierung (bspw. von Geflügelprodukten) erforderlich. Entsprechend untersuchten Fröschle et al. (2009) die Auslesbarkeit gedruckter Datamatrix-Codes auf tiefgefrorenen Geflügelschnäbeln und -beinen. Sie erreichten eine Re-Identifizierung bis zu 93 %.

Neben der Lesbarkeit lasermarkierter Codes hat die Unversehrtheit von Produkten eine hohe Bedeutung, wobei Sood et al. (2008) darauf hinwiesen, dass die Oberfläche von Früchten auch durch selbstklebende Papieretiketten beschädigt werden kann. Eine Lasermarkierung wurde als eine Möglichkeit erachtet, den Papiereinsatz zur Kennzeichnung zu reduzieren bzw. zu vermeiden. Jedoch zeigten Etxeberria et al. (2006) anhand von Avocado (*Persea americana*) und Tomaten (*Solanum lycopersicum*), dass charakteristische Pflanzenreaktion auf oberflächliche Beschädigungen durch Lasermarkierungen auftreten. Die Markierung mittels CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung bei Verwendung einer 8 · 7-Matrix-Lochblende (je ø 200 µm) für die Zeichendarstellung und einer Laserleistung von 0,678 W für 35 µs pro Zeichen führte zur Entfernung von 50 µm der oberen Gewebeschicht, woraufhin sich Depressionen bis zur dritten Schicht der Epidermis zeigten. Nach viertägiger Lagerung bei 95 %iger Luftfeuchtigkeit zeigten sich außerdem verdickte Zellwände sowie Phenol- und Lignineinlagerungen im Gewebe. Darüber hinaus wurde eine verstärkte Cutin-Einlagerung in der zweiten Epidermisschicht festgestellt. Die Veränderungen in der Gewebestruktur waren typische Pflanzenreaktionen auf Beschädigungen. Die Lagerfähigkeit der Produkte und die Verzehrqualität lasermarkierter Früchte sowie

nachfolgende Produktions- bzw. Veredelungsschritte wurden somit negativ beeinflusst. Diesbezüglich untersuchten Sood et al. (2009) den Wasserverlust an lasermarkierten Mandarinen (*Citrus reticulata*) und Grapefruits (*Citrus paradisi*) während der Lagerung. Sie zeigten, dass der Wasserverlust über einen Zeitraum von 7 Tagen stark abnahm, was auf Reaktionen der Früchte gegenüber der Schädigung zurückzuführen war. Im Hinblick auf schädigende Phytopathogene konnten nach Inokulation mit Schimmelpilz-Sporen (*Penicillium digitatum*) keine Fäulen an den lasermarkierten Stellen beobachtet werden. Auch zeigten lasermarkierte Tomaten keine signifikanten Unterschiede gegenüber unbehandelten Tomaten bezüglich des Befalls nach Inokulationen mit einer Mischung aus fünf Rifampicin-resistenten Bakterien (*Salmonella* Serovaren). Die Lebensmittelsicherheit wurde somit nicht eingeschränkt (Yuk et al., 2007). Zu diesem Ergebnis kam auch eine Studie von Etxeberria et al. (2009). Diese untersuchte Schäden an der Schale von Zitrusfrüchten in Lasermarkierungsflächen ( $\varnothing$  300  $\mu\text{m}$ , 1-2 Zellschichten tief). Während metabolische Veränderungen in darunterliegenden Zellschichten beobachtet wurden, die sich anhand von Verfärbungen zeigten, war die Verletzung selbst meist nur oberflächlich, weshalb kein erhöhtes Infektionsrisiko bestand.

Die bisherigen Untersuchungen auf dem Gebiet der lasergestützten Produktmarkierung mit Einordnung nach den verwendeten Laserstrahlquellen und den markierten Produkten werden zusammenfassend dargestellt (Tab. 5.1, S. 94).

Tab. 5.1: Überblick zum Einsatz von Lasertechnik zur Markierung von Pflanzen und Pflanzenprodukten

$\lambda$ (nm)	Pflanzen und Pflanzenprodukte												Literatur	Schwerpunkt
	Apfel <i>Malus domestica</i>	Avocado <i>Persea americana</i>	Grapefruit <i>Citrus x paradisi</i>	Kürbis <i>Curcubita</i>	Orange <i>Citrus x sinensis</i>	Paprika <i>Capsicum anuum</i>	Pfirsich <i>Prunus persica</i>	Pflaume <i>Prunus domestica</i>	Tomate <i>Solanum lycopersicum</i>	Wassermelone <i>Citrullus lanatus</i>	Zitrone <i>Citrus x limon</i>	Zwiebel <i>Allium cepa</i>		
10.600					x						x		Drouillard et al., 1997	Patent
	x		x		x	x	x	x				x	Drouillard et al., 1999	Patent
											x		Stiles, 2004	Machbarkeit
		x							x				Etxeberria et al., 2006	Produktschäden
					x						x		Heck et al., 2007	Patent
	x									x			Longobardi, 2007	Patent
									x				Yuk et al., 2007	Produktschäden
			x										Sood et al., 2008	Produktschäden
		x			x				x				White, 2008	Machbarkeit
											x		Etxeberria et al., 2009	Produktschäden
			x										Sood et al., 2009	Produktschäden

## 5.2 Zielsetzung

Ziel der folgenden Untersuchungen ist die Evaluierung direkter und verschlüsselter Lasermarkierungen auf unterschiedlichen, lebenden, gartenbaulichen Pflanzen und Pflanzenprodukten. In Laserparameterstudien soll die Wirkung unterschiedlicher Laserstrahlungen auf die Oberflächen der verwendeten Produkte eruiert werden. Zur Markierung der pflanzlichen Oberflächen sollen Codemuster verwendet werden, die mittels Bildverarbeitung re-identifiziert werden können. Der Einfluss der verwendeten Codeform auf das Re-Identifikationsvermögen soll dabei bestimmt werden. Die automatisierte Lesbarkeit der aufgetragenen Markierungen ist dabei bedeutend. Parallel zu den technischen Anwendungen soll untersucht werden, inwieweit eine nachhaltige Schädigung des Pflanzenmaterials vermieden werden kann, um eine möglichst hohe Produktqualität zu gewährleisten. Letztlich sollen die Grenzen der Einsetzbarkeit des verwendeten Lasermarkierungsverfahrens ermittelt werden.

## 5.3 Material und Methoden

### 5.3.1 Pflanzen und Pflanzenprodukte

#### Ausgewähltes Pflanzenmaterial

Für die Untersuchung der Markierbarkeit von Pflanzenmaterial mittels Laserstrahlung unter Beibehaltung der Produktvitalität und -qualität wurden zwei wichtige Vertreter gartenbaulicher Produkte ausgewählt: Rhododendron (*Rhododendron*, Sorten: 'Cunningham's White' und 'Nova Zembla') und Apfel (*Malus domestica*, Sorten: 'Golden Delicious' und 'Elstar'). Darüber hinaus wurden in weiterführenden Versuchsreihen auch die folgenden Produkte lasermarkiert, um die Untersuchungen zu ergänzen: Salatgurken (*Cucumis sativus*), Chrysanthemen (*Chrysanthemum* L.) und Rosen (*Rosa* L., Sorte: 'The Fairy').

#### Lagerung und Kultivierung des Pflanzenmaterials

Die verwendeten Produkte wurden ohne Vorbehandlungen manuell lasermarkiert und anschließend entsprechend der Fragestellungen gelagert bzw. weiterkultiviert. Die Äpfel wurden dabei teilweise kühl gelagert (Kühlschrank, 5 °C), teilweise bei Raumtemperatur (20 °C). Für die Untersuchungen zum Infektionsrisiko gegenüber pilzlichen Schaderregern wurden klimatisierte Lagerräume bei 15 °C und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit verwendet. Für die Weiterkultivierung lasermarkierter Stecklinge wurden zur Topfung 11er Töpfe mit Kultursubstrat (Potgrond P, Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste, Deutschland) verwendet. Die Stecklingskulturen wurden unter Gewächshausbedingungen bei 18 °C Lüftungstemperatur, 10 °C Heiztemperatur kultiviert. Alle markierten Produkte wurden während der Lagerung bzw. Weiterkultivierung zu mehreren Zeitpunkten bildanalytisch untersucht, um Veränderungen der Markierungsmuster zu dokumentieren.

### 5.3.2 Lasersysteme und Lasermarkierungsversuche

#### Verwendete Laserstrahlquellen

Vor dem Hintergrund der bereits beschriebenen Absorptionseigenschaften von Laserstrahlung in Pflanzenmaterial (vgl. Abschnitt 3.4.2) wurden unterschiedliche Laserstrahlquellen zur Markierung der Pflanzenproduktoberflächen verwendet. Neben den verwendbaren Laserwellenlängen unterschieden sich vor allem die Betriebsarten hinsichtlich eines Puls- oder eines Dauerstrichbetriebs (*continuous wave, cw*) (Tab. 5.2).

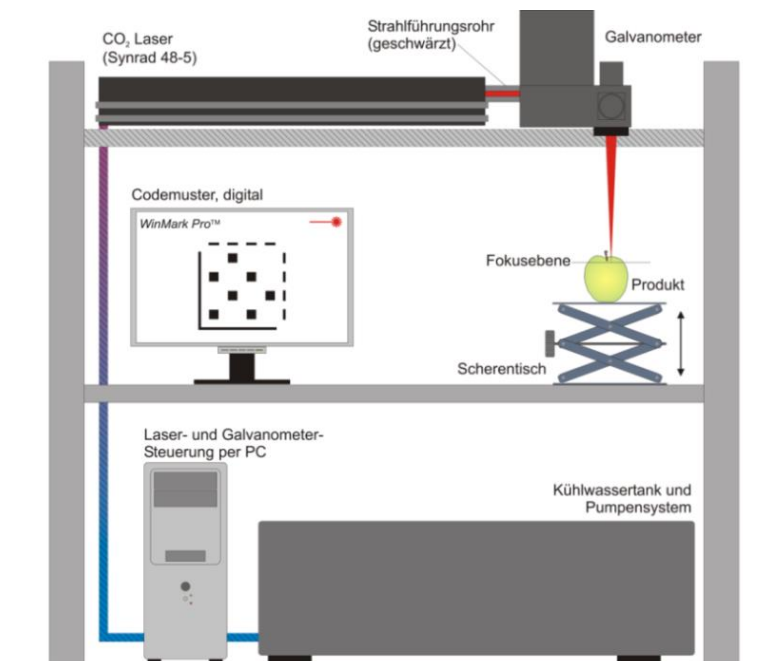
**Tab. 5.2: Überblick der verwendeten Lasersysteme**

Laserstrahlquelle	Typ, Hersteller	Betriebsart	Wellenlänge (nm)
Excimer (ArF)	LPX-300, Coherent Inc.	gepulst, 100 Hz	193
Festkörper (Nd:YAG)	Rapid, Lumera Laser GmbH	gepulst, 500 kHz	532
Diodenlaser (InGaAs)	LDF 600-250, Laserline GmbH	cw	940
Festkörper (Nd:YAG)	RS-Marker 100D, Rofin-Sinar Inc.	gepulst, 5 kHz	1.064
Faserlaser (Tm)	TLM-50, IPG Laser GmbH	gepulst, 1 kHz	1.908
Gaslaser (CO <sub>2</sub> )	48-5, Synrad Inc.	quasi-cw	10.600

Mit allen Lasersystemen wurde der Einfluss unterschiedlicher Laserausgangsleistungen untersucht. Die erforderlichen Einstellungen an den Laserstrahlquellen wurden jeweils vor den Bestrahlungsversuchen unter Verwendung von laserspezifischen Leistungsmessgeräten vorgenommen.

#### Durchführung von Lasermarkierungsversuchen

Bei den Lasermarkierungen wurden in allen Versuchen die jeweiligen Produktoberflächen in der Fokusebene des verwendeten Lasersystemes manuell positioniert (Abb. 5.1).



**Abb. 5.1: Manuelle Positionierung eines Pflanzenprodukts im Bearbeitungsraum des Lasersystems; (Skizze: C. Marx)**



Die Lasermarkierung wurde durch Ablenkung der Laserstrahlung mittels eines Galvanometerscanners (Abk. Scanner) umgesetzt. Dabei wurde der kollimierte Laserstrahl über zwei schnell verstellbare Spiegel geführt, sodass er frei innerhalb eines Bearbeitungsfeldes positioniert werden konnte. Durch eine Planfeldoptik wurde der Laserstrahl unabhängig von der Ablenkung auf eine plane Bearbeitungsebene fokussiert. Bei dem meist verwendeten CO<sub>2</sub>-Lasersystem (48-5, Synrad Inc., Mukilteo, USA) wurden eine Scanneroptik (SH3-200C, Synrad Inc., Mukilteo, USA) und die Software WinMark Pro verwendet. Die Laserleistung (bis 20 W) und die Markiergeschwindigkeit (200 mm s<sup>-1</sup>) wurden mithilfe der Software gesteuert. Die Scanneroptik hatte eine Brennweite von 246 mm und fokussierte den Strahl auf einen Durchmesser von  $\varnothing$  250  $\mu$ m in der Fokusebene. Der CO<sub>2</sub>-Laser hatte dabei ein gaußsches Strahlprofil.

### 5.3.3 Markierungsmuster und Mustervariationen

#### Verwendung von Standardmustern

Als Markierungsmuster wurden zunächst standardisierte 1D- und 2D-Barcodes getestet, die über eine Online-Software (<http://barcode.tec-it.com>, TEC-IT Datenverarbeitung GmbH, Steyr, Österreich) generiert und auf ein Testobjekt lasermarkiert wurden (Abb. 5.2, links). Aufgrund der beabsichtigten Miniaturisierung und des bei 1D-Barcodes diesbezüglich ungünstigen Breite-zu-Höhe-Verhältnisses wurden auch 2D-Barcodes verwendet (Abb. 5.2, rechts). Es zeigte sich, dass die Komplexität der 2D-Barcodes aufgrund ihrer Optimierung für Farbdruckverfahren bei idealen Kontrastverhältnissen zur Verwendung auf Pflanzenprodukten zu hoch war. Bei der minimal zu verwendenden Barcode-Größe konnte die Standard-Auflösung nicht präzise genug wiedergegeben werden.

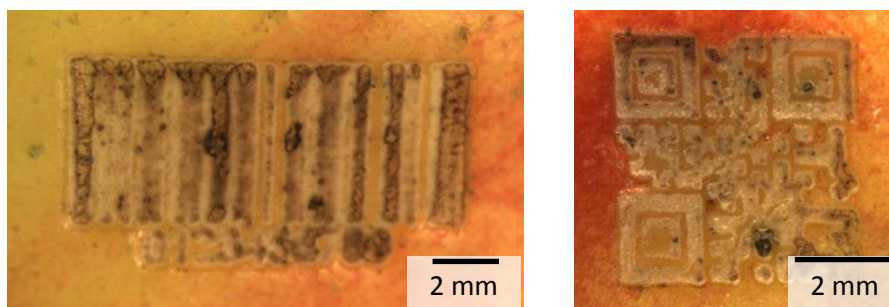


Abb. 5.2: 1D- und 2D- Barcodes auf einem Apfel; (Fotos: C. Marx)

#### Entwicklung eines Markierungsmusters

Vor dem oben genannten Hintergrund wurde ein einfaches Codemuster entwickelt (Abb. 5.3, S. 98). Dieses Muster bestand aus einem Rahmen zur Ermittlung der Orientierung und aus 7 Musterflächen im Innenbereich. Die Lage der Musterflächen relativ zum Rahmen folgte einem 4  $\times$  4 Raster. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Flächen nicht zu dicht beieinander lagen, um markierungsprozessbedingte Überlappungen zu vermeiden und die spätere Bildverarbeitung zu erleichtern. Durch das Markieren oder Nicht-Markieren der einzelnen Musterflächen war somit eine binarisierte Codierung von 2<sup>0</sup> bis 2<sup>6</sup> (entspricht 128 Zuständen) möglich. Für die vorliegenden Untersuchungen war diese Informationstiefe ausreichend.

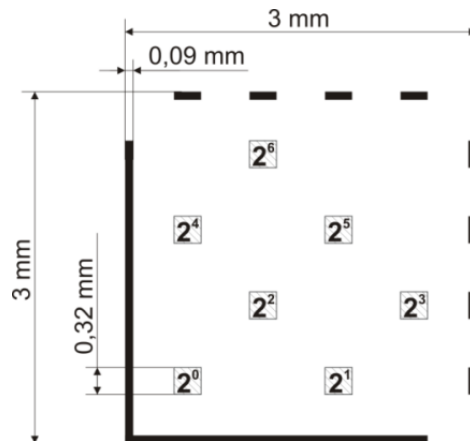


Abb. 5.3: Sollgeometrie des verwendeten 7 Bit Codemusters; (Skizze: C. Marx)

### Einfluss von Mustervariationen

Neben der dargestellten absoluten Größe von  $3 \times 3 \text{ mm}^2$  und den vorgegebenen Flächengrößen wurden Variationen untersucht. Je nach verfügbarem Platz auf dem zu markierenden Objekt wurde das Muster mit Kantenlängen von 1 mm, 2 mm, 2,8 mm, 5 mm, 6,5 mm und 8 mm lasermarkiert. Unter Beibehaltung der Mittelpunkte aller Musterflächen wurden auch die relativen Flächengrößen und Strichbreiten variiert (Tab. 5.3), wobei die Ausprägung von Wärmeeinflusszonen untersucht wurde.

Tab. 5.3: Variation der Flächengrößen und Strichbreiten (Muster 1 entspricht Abb. 5.3)

Mustervariante	1	2	3	4	5
Sollmuster					
Soll-Flächengröße ( $\text{mm}^2$ )	0,32	0,22	0,36	0,24	0,18
Soll-Strichbreite (mm)	0,09	0,25	0,10	0,08	0,07

### 5.3.4 Methoden zur Bewertung von Produktschäden

#### Bestimmung von Oberflächenveränderungen

Die Produktmarkierungen wurden mit verschiedenen Methoden untersucht. Die Ausprägungen der Muster wurden mit einer CCD-Kamera (DBK41BU02.H, The Imaging Source GmbH, Bremen, Deutschland) mit Makroobjektiv (MR05/8, LINOS Photonics GmbH & Co. KG, München, Deutschland) dokumentiert. In Langzeituntersuchungen wurden die Produkte in Totalaufnahmen fotografiert. Darüber hinaus wurde ein Raster-Elektronen-Mikroskop (REM) eingesetzt (Quanta 400, FEI Comp., Hillsboro, USA), um die Oberflächenveränderungen zu untersuchen. Die thermische Belastung der Produkte durch die Lasermarkierung wurde mittels Thermographiekamera (SC1000, FLIR Systems Inc., Wilsonville, USA) dokumentiert.

### **Bestimmung von histologischen Veränderungen**

Hinsichtlich der Oberflächenbeschädigungen wurden exemplarisch histologische Schnitte an Gehölzstecklingen angefertigt und die Eindringtiefen der Laserstrahlung untersucht. Dazu wurde das folgende Exsikkationsverfahren zur Dehydrierung und Vorbereitung von Dünnschnittschnitten eingesetzt. Der lasermarkierte Bereich einer Rhododendronsprossachse wurde in ein 2 ml-Eppendorfgefäß mit 70 %iger FPA-(Fixier-) Lösung gegeben. Die Lösung bestand zu 65,6 % aus EtOH (96 %ig), zu 24,4 % aus destilliertem Wasser, zu 5 % aus Propionsäure und zu 5 % aus Formaldehyd (35 %ig). Die Lösung hatte einen pH-Wert von 4,5. In dieser Lösung wurden die Proben für eine Stunde und danach bei reduziertem Druck (100 mbar) für eine halbe Stunde exsikiert, wodurch die Luft aus dem Gewebe entfernt wurde. Das Gewebe wurde auf einem Schüttler mit unterschiedlichen Alkohol-Konzentrationen dehydriert: 2 h in 70 %ig, 2 h in 90 %ig und 1 h in 96 %ig. Anschließend erfolgten eine Prä-Penetration für 12 h in aktiviertem Historesin (Historesin + 0,5 Dibenzolperoxid (Aktivator) + Alkohol (99 %ig)) sowie die Haupt-Penetration für 2 h und erneut bei 100 mbar in aktiviertem Historesin ohne Alkohol. Nach Entnahme aus der Historesin-Lösung wurde ein Historesinhärter zugegeben. Die eingebetteten Proben wurden 24 h luftgetrocknet. Mit den entstandenen Kunstharzblöcken und einem Mikrotom (Hyrax M55, Zeiss GmbH) wurden 10 µm dünne Schnitte angefertigt, die mit Toluidinblau gefärbt und lichtmikroskopisch untersucht wurden.

### **Bestimmung von zeitlichen Veränderungen bei Lagerung bzw. Kultivierung**

Es wurde vermutet, dass die direkten Lasermarkierungen einen Effekt an der Oberfläche der Pflanzen hervorrufen, der zu einem erkennbaren Kontrast führt. Daher sollte untersucht werden, wie stark die äußere Zellschicht belastet wurde. Dazu wurden die folgenden drei Versuche durchgeführt. Nach unterschiedlich intensiven Lasermarkierungen wurden Äpfel bei Raumtemperatur gelagert und die lasermarkierten Stellen kontinuierlich über einen mehrwöchigen Zeitraum fotografiert. Da die Veränderung einer Lasermarkierung im Weiterwuchs von biologisch aktivem Material auch entscheidend für die Rückverfolgbarkeit ist, wurden lasermarkierte Chrysanthemenstecklinge in 11er Töpfe (660 ml Substrat, Potgrond P (Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste)) getopft und im Gewächshaus über sieben Wochen weiterkultiviert. Auch hier wurden die Lasermarkierungen sowie die Gesamtpflanzen regelmäßig fotografiert, um Veränderungen zu dokumentieren. Weiterhin wurde der Einfluss unterschiedlich intensiver Lasermarkierungen auf die Bewurzelung von Rosen- und Rhododendronstecklingen qualitativ untersucht. Die Stecklinge wurden nach Vorgaben der gärtnerischen Praxis vorbereitet (Zuschnitt, Blattstand) und unmittelbar vor dem Stecken lasermarkiert. Die Rhododendronstecklinge wurden nach Tauchen in Talkumpulver (1 % IBA und 10 % Euparen) in einem Torfkultursubstrat (Sand, Perlite, Weißtorf (1:1:2)) mit 2 g L<sup>-1</sup> Kalk (95 %) und 2 g L<sup>-1</sup> Osmocote Exact Standard M 3-4 in einem Gewächshaus-Fog-System bei 22 °C kultiviert. Die Rosenstecklinge wurden in Torfsubstrat (TS 1, Klasmann-Deilmann GmbH, Geeste) jedoch im Folientunnel bei gespannter Luft kultiviert. Die Bewurzelungsrate wurde nach sechs Wochen bonitiert.

### **Bestimmung des Infektionsrisikos durch pilzliche Schaderreger**

Der Einfluss der Lasermarkierung auf eine mögliche Steigerung des Befalls mit Phytopathogenen wurde untersucht. Dabei wurde vermutet, dass eine Belastung der Pflanzenoberfläche zu einer Eintrittspforte für Schaderreger (in diesem Fall Pilze) werden könnte. Die Rhododendronstecklinge 'Nova Zembla' und Äpfel 'Golden Delicious' wurden bei unterschiedlichen Laserleistungen markiert. Daraufhin wurden die Rhododendronstecklinge mit Grauschimmelfäule (*Botrytis cinerea*) bzw. einer Triebkrankheit (*Pestalotia rhododendri*) und die Äpfel mit Anthraknose (*Colletotrichum gloeosporioides*) und Apfel-Fruchtfäule (*Gloeosporium fructigenum*) an der lasermarkierten Stelle inokuliert. Die Pilze (Stammkulturen vom Leibniz-Institut - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig) wurden vorher bei 23 °C in 14 Tagen auf Biomalzaragar (2 %) kultiviert und in eine Suspension überführt. Durch Zugabe von Tween®20 wurde die Oberflächenspannung der Suspension zur verbesserten Inokulation heruntersetzt. Die lasermarkierten Stellen wurden mit der Pilzsuspension beträufelt. In einem Vorversuch wurde die Pathogenität der Pilze durch mechanische Verletzungen (Skalpellschnitte) jeweils an Rhododendron und Apfel nachgewiesen. Die inokulierten Produkte (2 Produkte mit je 2 Pilzen, 5 Laservarianten inkl. Kontrolle, 10 Wiederholungen) wurden bei 15 °C und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit 14 Tage gelagert und bonitiert.

## **5.3.5 Entwicklung von Bildverarbeitungsalgorithmen**

### **Erfassung der Lasermarkierungen**

Die Lasermarkierungen wurden mit einer USB-CCD-Kamera (DBK41BU02.H, The Imaging Source GmbH, Bremen, Deutschland) mit Makroobjektiv (MR05/8, Linos Photonics GmbH & Co. KG, München, Deutschland) mithilfe der Software IC Capture 2.0 TIS (The Imaging Source Europe GmbH, Bremen, Deutschland) fotografiert.

### **Verfahren der Mustererkennung**

Für die Entwicklung der Bildverarbeitungsalgorithmen zur Erkennung und Dekodierung der Muster wurden die Software HALCON® 10 (MVTec Software GmbH, München, Deutschland) sowie das Programm R 2.9.2 (*The R Foundation for Statistical Computing*, GNU) verwendet. Die Mustererkennung wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

- (1) Einmalige Erstellung von Lerndatensätzen zur Klassifikation lasermarkierter und nicht-markierter Bildbereiche (Materialoberfläche) mit Speicherung der zugehörigen RGB-Werte
- (2) Parametrisierung einer Diskriminanzfunktion anhand der Lerndatensätze (R, Paket 'LinDA') unter Verwendung von Mahalanobis-Distanzen (Hartung & Elpelt, 2006) zur pixelweisen Binarisierung
- (3) Exklusion erkannter Flächen am Bildrand sowie von Bildrauschen mit anschließender Anwendung eines Sobel-Operators zur Kantendetektion (Scharf, 2000)
- (4) Verwendung einer zweistufigen Hough-Transformation (Duda & Hart, 1972) zur Erkennung von rechtwinkligen Linienstrukturen im Muster

- (5) Füllen der Schnittflächen der Linienmuster mit anschließender Selektion nach Mindestgröße und Exklusion des Innenbereiches (85 % der Gesamtfläche) zur Extraktion des Orientierungsmusters mit Verwendung des Gesamtmittelpunktes sowie des Schwerpunktes der größten, erkannten Fläche zur Bestimmung der Orientierung
- (6) Einpassen der zum Mittelpunkt relativ positionierten Musterflächen und Schnitt mit den Flächen nach Kantenerkennung (3) sowie bitweise Decodierung des Musters.

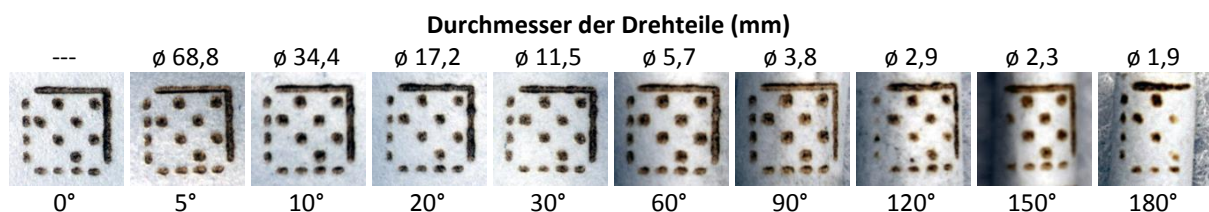
Bei erfolgreicher Erkennung der Musterteilflächen innerhalb des Orientierungsrahmens wurde die decodierte Information gespeichert und zur Auswertung der Lesegüte verwendet.

### Validierung der Bildverarbeitungsalgorithmen

Die Validierung der Bildverarbeitungsalgorithmen erfolgte in drei Schritten.

**Schritt 1:** Zunächst wurden Muster in der Größe 3 x 3 mm<sup>2</sup> auf Papier mittels Lasermarkierung übertragen. Die Verwendung von Papier bot Vorteile hinsichtlich von Helligkeits- und Kontrastverhältnissen, die bei realen Pflanzenoberflächen nicht gegeben sind. Gleiches gilt für die Oberflächenrauheit. Es wurden 10 Varianten in 10 zur Bildachse verschiedenen Rotationen aufgenommen.

**Schritt 2:** Der Einfluss der Krümmung von Produktoberflächen auf die Re-Identifizierung wurde mit der folgenden Versuchsanordnung untersucht: Es wurden Papierstreifen seitlich auf 10 unterschiedlichen Durchmessern von Metallzylindern platziert und erst anschließend wurde die Lasermarkierung aufgebracht. Auf diese Weise konnten kontrollierte, einachsige Musterverzerrungen erstellt (Abb. 5.4) werden, wie sie auch bei stabförmigen Produkten (wie Rhododendron-Stecklingen) auftreten. Als Maß der jeweiligen Verzerrung wurden die Krümmungswinkel herangezogen, die sich jeweils zwischen dem Drehteilmittelpunkt und den Enden des auf den Außendurchmesser befestigten Musters ergaben.



**Abb. 5.4: Unterschiedliche Krümmungswinkel zur Validierung der Bildalgorithmen (Schritt 2); (Fotos: C. Marx)**

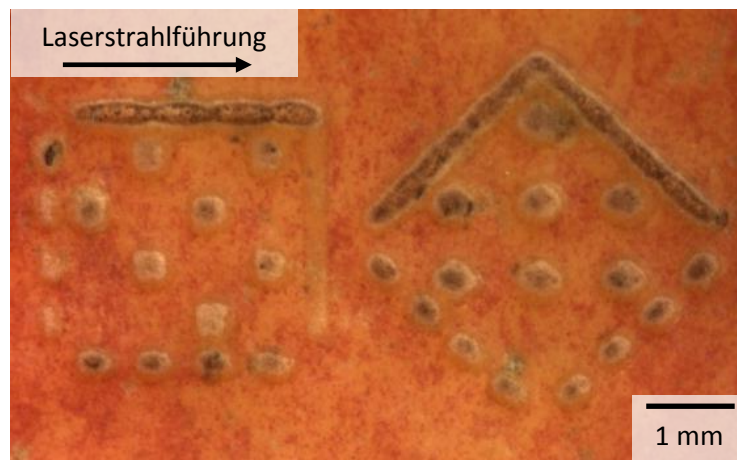
**Schritt 3:** Zuletzt wurden unterschiedlich lasermarkierte Produkte zur Validierung verwendet. Dabei waren aufgrund der Heterogenität des Pflanzenmaterials Störeinflüsse nicht vermeidbar. Visuell nicht identifizierbare Markierungen wurden daher nicht herangezogen. Auswahlkriterien für verwendbare Fotografien waren somit zusammenhängende, vollständige, nicht überlappende und gegenüber dem Hintergrundkontrast stark ausgeprägte Muster.

## 5.4 Ergebnisse

### 5.4.1 Einfluss von Lasersystemparametern auf Pflanzenmarkierungen

#### Einfluss der Orientierung des Markierungsmusters

Bei der Lasermarkierung von Pflanzenoberflächen zeigte sich aufgrund der rechtwinkligen Anordnung der Musterflächen und der zeilenweisen Bearbeitung durch den verwendeten Laser-scanner Einflüsse auf die Ausprägung der Muster. Besonders in Richtung der zeilenweisen Markierung wurden Musterflächen stärker ausgeprägt (Abb. 5.5, links).



**Abb. 5.5: Einfluss der Musterorientierung im Arbeitsfeld des Lasers auf die Ausprägung; links: achsparallel, rechts: 45° gedreht; bidirektionale Laserstrahlführung horizontal zum Bild; (Foto: C. Marx)**

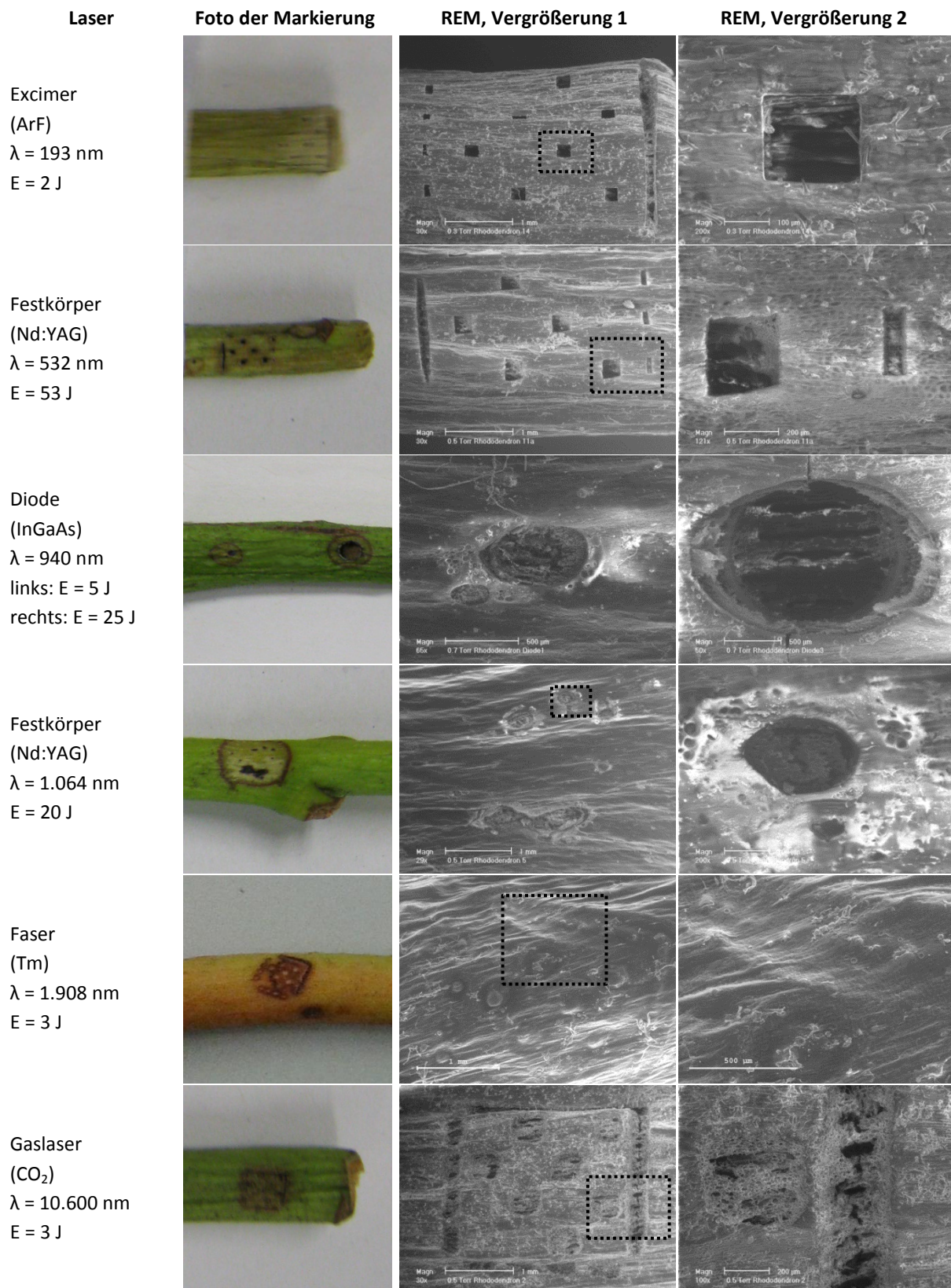
Daher wurden die Markierungsmuster in der Steuerungssoftware vor der Ausführung um 45° zur Horizontalen gedreht, wodurch die Pflanzenprodukte entsprechend im Bearbeitungsfeld des Lasers gedreht werden musste. Durch die Drehung des Musters wurde eine Vorzugsrichtung in der Muster-ausprägung vermieden (siehe Abb. 5.5, rechts).

#### Einfluss der Laserwellenlänge

Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln erläutert wurde (vgl. Abschnitt 3.4.2), korrelierte die Einkopplung von Laserenergie in Pflanzengewebe größtenteils mit dem Absorptionsspektrum von Wasser. Ein weiterer Einfluss auf die Absorption wurde insbesondere bei den Zellwänden vermutet. Demnach wurde Laserstrahlung in Abhängigkeit der Laserwellenlänge nach der Reihenfolge 10.600 nm, 193 nm, 1.908 nm, 532 nm, 940 nm, 1.064 nm oberflächlich absorbiert. Somit wurde erwartet, dass eine Markierung der Produktoberflächen besonders gut mit CO<sub>2</sub>-Laser, Excimer-Laser, Festkörper- (frequenzdoppelt) und Faserlaser gelang.

Dies zeigte sich an lasermarkierten Rhododendron-Stecklingen (Abb. 5.6, S. 103). Bei Excimer- (193 nm) und Festkörper-Lasern (frequenzdoppelt, 532 nm) war das Muster scharfkantig. Bei Dioden- (940 nm) und Festkörper-Lasern (1.064 nm) war es nicht erkennbar. Faser- (1.908 nm) und Gas-Laser (10.600 nm) führten wiederum zu erkennbaren, weniger scharfkantigen Markierungen.





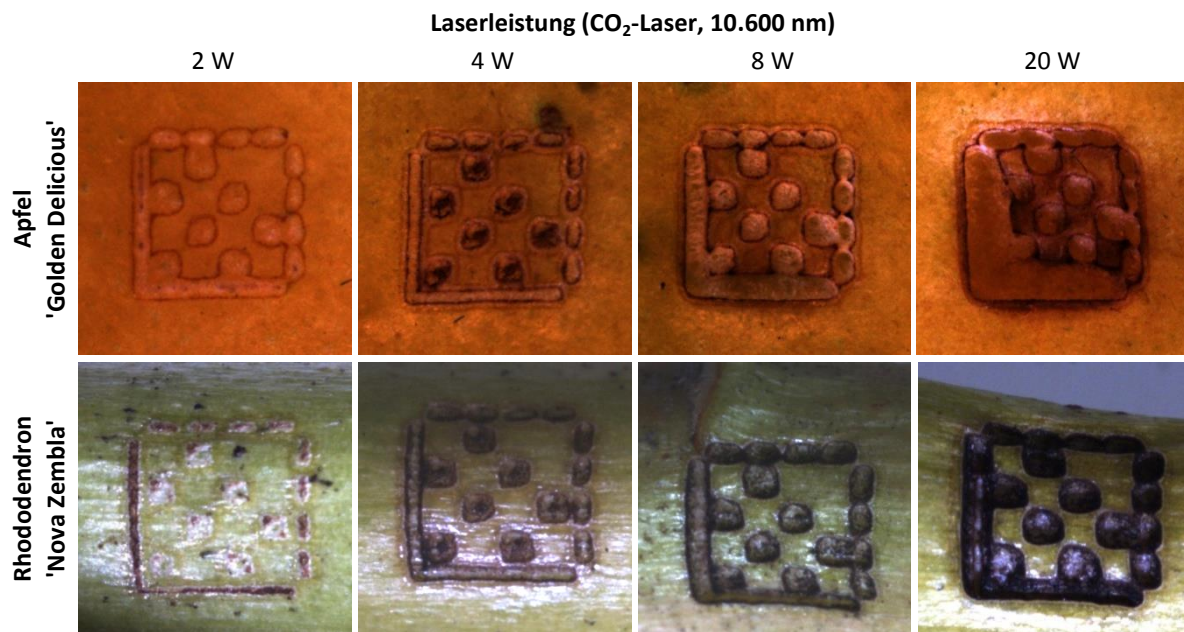
**Abb. 5.6: Rhododendron-Stecklinge nach unterschiedlichen Lasermarkierungen (REM-Aufnahmen); (Fotos: C. Marx)**

Der Vergleich zwischen Faser- (1.908 nm) und CO<sub>2</sub>-Laser (10.600 nm) zeigte, dass bei gleicher Laserenergie die Wirkung der langwelligeren Strahlung auf das Pflanzengewebe stärker war. Für die

weiteren Untersuchungen wurde daher das CO<sub>2</sub>-Lasersystem (10.600 nm) mit flexibler Scanneroptik gewählt, um erkennbare Markierungen bei minimaler Energieeinbringung zu generieren.

### Einfluss der Laserleistung

Für die Untersuchung des Einflusses der Laserenergie auf das Markierungsergebnis wurde ein CO<sub>2</sub>-Laser (48-5, Synrad Inc., Mukilteo, USA) zusammen mit einer Scanneroptik (SH3-200C, Synrad Inc., Mukilteo, USA) verwendet. Das Markierungsmuster wurde in einer Größe von 3 x 3 mm<sup>2</sup> auf die Produktoberfläche übertragen. Mit steigender Laserausgangsleistung nahm die Ausprägung der Muster je nach Produkt unterschiedlich stark zu (Abb. 5.7).



**Abb. 5.7: Ausprägung der Lasermarkierung bei einer im Verhältnis 1:2:4:10 ansteigenden Laserenergie; (Fotos: C. Marx)**

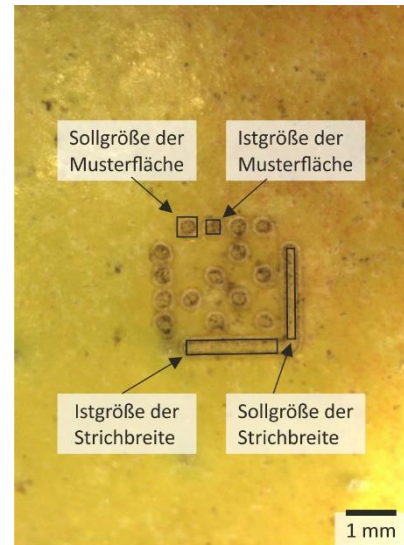
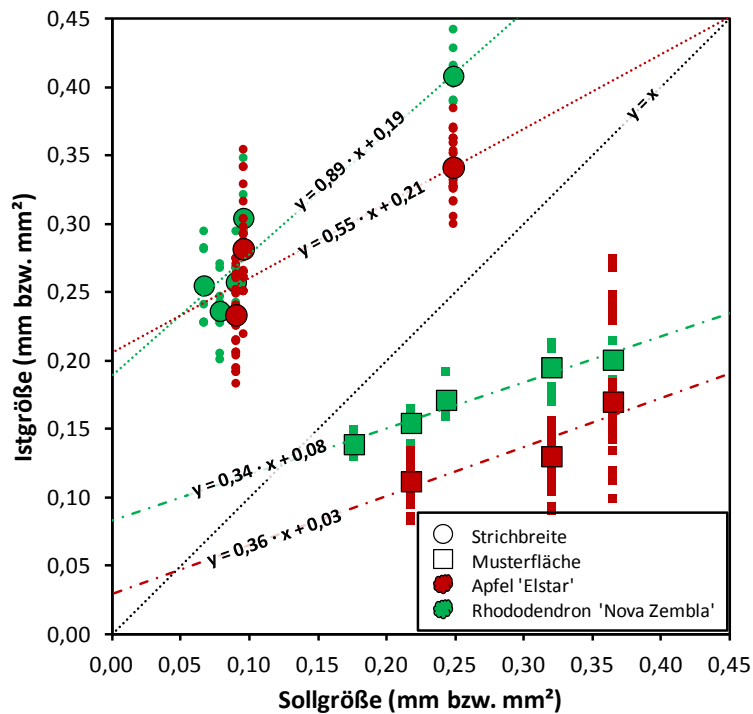
Die unmittelbare, nicht bestrahlte Umgebung der Musterflächen wurde durch die Laserbestrahlung beeinflusst, was sich an kleiner werdenden Abständen zwischen den einzelnen Flächen zeigte. Diese Flächen vergrößerten sich so stark, dass sie sich berührten und überlappten, sodass eine Unterscheidung erschwert wurde. Bei einem lasermarkierten Apfel war dieser Effekt bereits bei geringen Laserenergien zu beobachten (ähnliches galt für die Markierung von Salatgurken).

### Einfluss der Laserstrahlführung

Hinsichtlich der Variation der Musterflächengrößen und Strichbreiten (vgl. Tab. 5.3, S. 98) konnte der Zusammenhang zwischen Lasersteuerung und Ausprägung der Muster bei einer festen Mustergröße mit 3 mm Kantenlänge ermittelt werden (Abb. 5.8, S. 105).

Die Korrelation zwischen Soll- und Ist-Muster war demnach im untersuchten Bereich annähernd linear jedoch mit deutlicher Abweichung von der Winkelhalbierenden. So wurden stets größere Strichbreiten aber kleinere Musterflächen als bei der Vorgabe erzielt. Die Markierungen auf Äpfeln prägten sich dabei geringer aus als die auf Rhododendron.

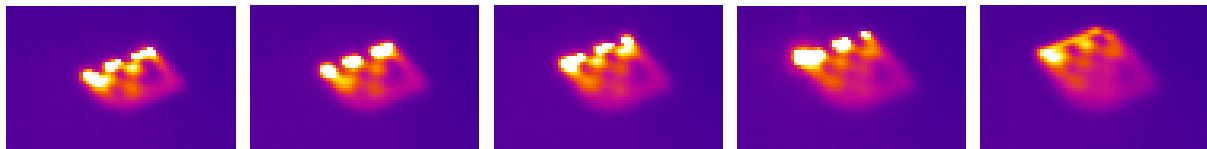




**Abb. 5.8:** Soll- und Istgrößen der Ausprägung lasermarkierter Strichbreiten und Musterflächen auf Rhododendron und Apfel (CO<sub>2</sub>-Laser, 4 W), vgl. Tab. 5.3, S. 98; große Symbole: Mittelwerte aus 10 (Rhododendron) bzw. 35 Messwerten (Apfel)

#### Auswirkung der Energieeinkopplung

Die Wärmeeinflusszone während der Markierung konnte in thermographischen Aufnahmen sichtbar gemacht werden (Abb. 5.9).



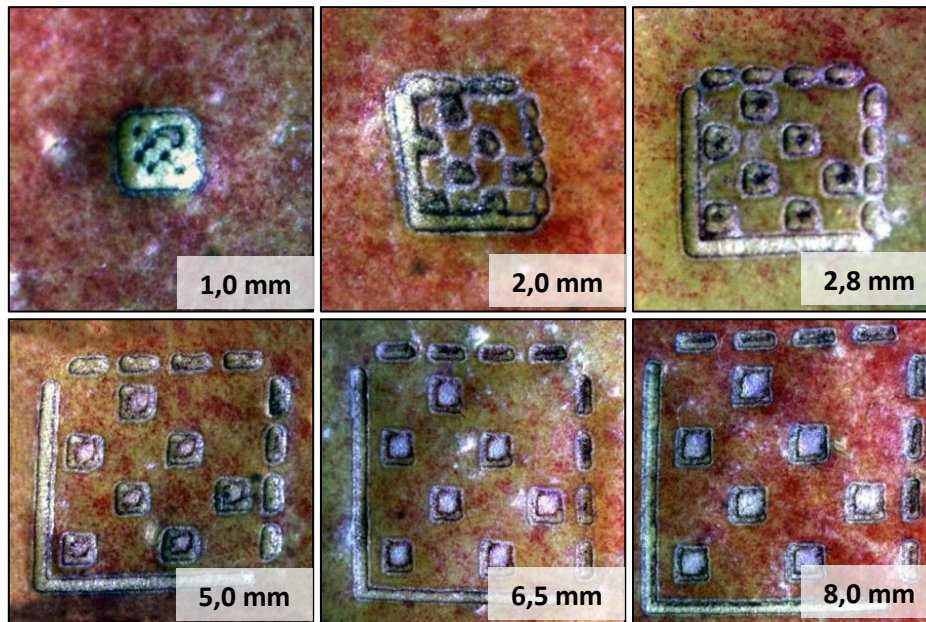
**Abb. 5.9:** Thermographische Aufnahmen während der Lasermarkierung eines Apfels mit einem CO<sub>2</sub> Laser (Größe: 3 mm Kantenlänge, Zeitabstand zwischen den Aufnahmen: 160 ms)

Die zeilenweise Markierung des scannergeführten Laserstrahls war deutlich erkennbar. Die Musterflächen waren während und auch nach der Bestrahlungsdauer wärmer als das umgebende Gewebe.

### 5.4.2 Einfluss und Optimierung von Mustervarianten auf Pflanzenmarkierungen

#### Einfluss der Größe der Markierungsmuster

Mit ansteigenden Mustergrößen (1 mm bis 8 mm Kantenlänge) bei konstanten Verhältnissen bzgl. Position und Teilgrößen, die an die Lasersteuerung übergeben wurden, zeigten sich nach der Lasermarkierung im Vergleich zwischen Soll- und Istgröße der Musterflächen und Strichbreiten bessere Markierungsqualitäten (Abb. 5.10, S. 106).

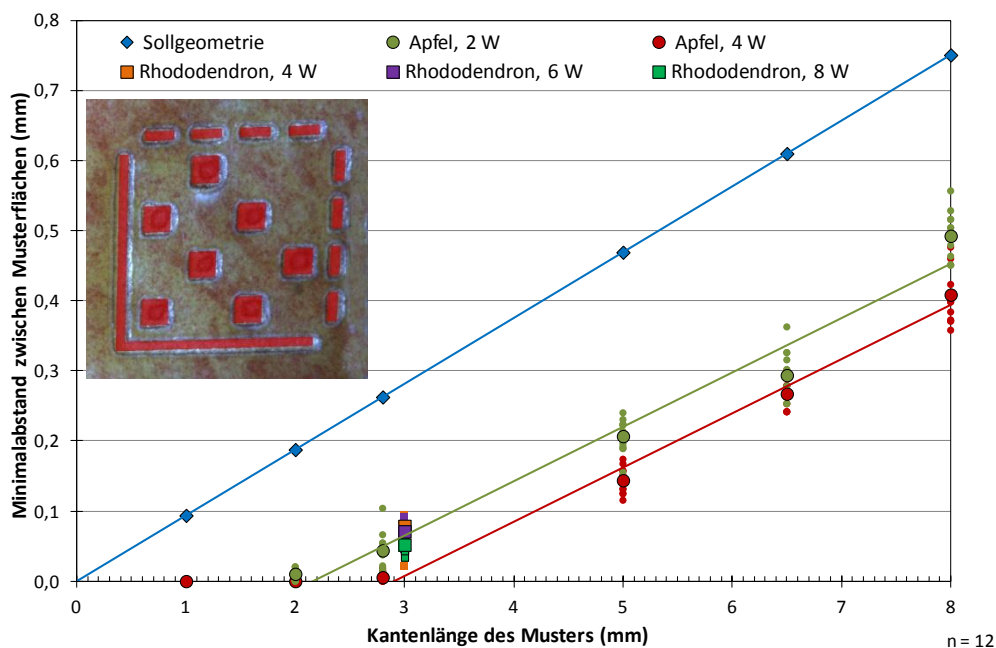


**Abb. 5.10: Unterschiedlich große Lasermarkierungen (als Kantenlängen angegeben) auf Äpfeln bei gleicher Laserleistung (4 W, 200 mm s<sup>-1</sup> Markiergeschwindigkeit); (Fotos: C. Marx)**

Höhere Markierungsgüten zeigten sich bei in Relation größeren, nicht laserbestrahlten Flächen zwischen den Musterflächen. Besonders bei kleinen Mustern (Kantenlänge 1 mm) war zu erkennen, dass die theoretisch erreichbare Auflösung, bei der einzelne Musterbestandteile optisch noch voneinander trennbar waren, auf der Apfelschale unterschritten wurde.

#### Ableitung einer laserleistungsabhängigen Minimalmustergröße

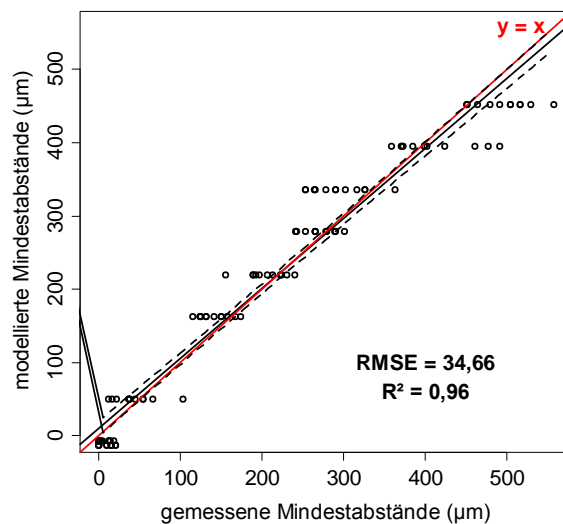
Die Abstände zwischen den Musterflächen bei Soll- und Ist-Mustern wurden anhand von Makroaufnahmen vermessen (Abb. 5.11).



**Abb. 5.11: Minimalabstände zwischen bestrahlten Musterflächen in Abhängigkeit der Mustergröße, der Laserleistung und des Produktes, bedingt durch Abweichungen von der Sollgeometrie (links im Bild: rot markiert auf einem Apfel (Größe: 5 mm, CO<sub>2</sub>-Laser, P = 4 W)), 12 Wiederholungen**

Aus einer Gegenüberstellung der gemessenen Minimalabstände zu den vorgegeben Sollwerten (vgl. Abb. 5.11, S. 106) konnte ein laserleistungsabhängiger Zusammenhang abgeleitet werden. Auf einem Apfel mussten zwei Sollmusterflächen demnach bei 2 W Laserleistung 204  $\mu\text{m}$  und bei 4 W Laserleistung 274  $\mu\text{m}$  voneinander entfernt skizziert werden, damit nach der Markierung ein theoretischer Mindestabstand von 1  $\mu\text{m}$  gewährleistet werden konnte. Eine Verallgemeinerung dieses Zusammenhangs war einerseits durch eine Mindestlaserleistung zur Ausprägung der Muster sowie andererseits durch eine bereits zu stark schädigende Laserleistung (Auftrennen der Gewebeschichten und somit nicht mehr vergleichbare Ausprägung) begrenzt auf den Bereich 2 W bis 4 W. Der zur späteren Unterscheidung von Musterflächen notwendige Abstand zwischen zwei lasermarkierten Bereichen ( $d_L$ ,  $\mu\text{m}$ ) konnte in Bezug auf den vorgesehenen Abstand in der Sollgeometrie ( $d_S$ ,  $\mu\text{m}$ ) und der Laserleistung ( $P_L$ , W) modelliert werden (Statistik siehe Abb. 5.12):

$$d_L = 0,825 \cdot d_S - (28,405 \cdot P_L + 110,51) \quad \text{mit } 2 \text{ W} \leq P_L \leq 4 \text{ W} \quad [5.1]$$



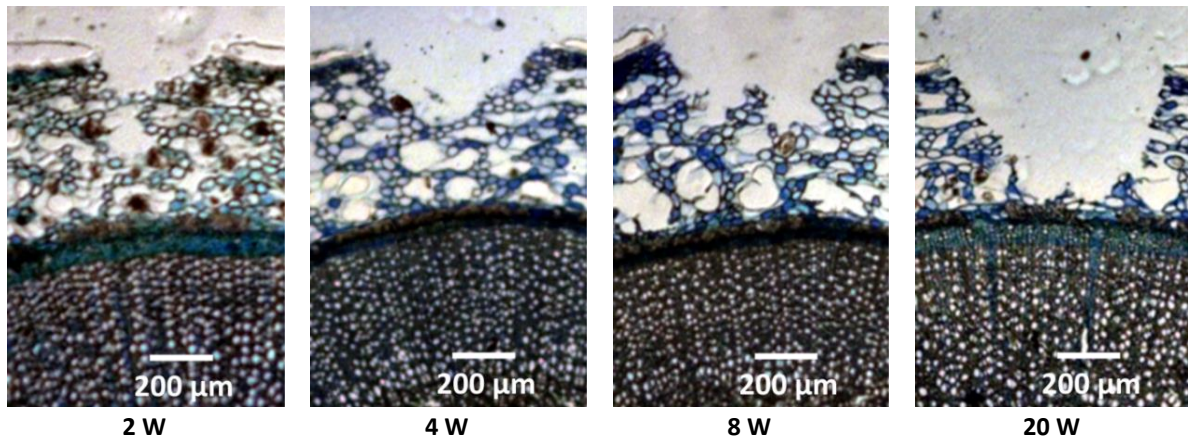
**Abb. 5.12: Modellierung der Mindestabstände zwischen Markierflächen mit Regressionsgeraden und 95 % Konfidenzintervall**

### 5.4.3 Produktschäden durch Lasermarkierungen

#### Beeinflusste Zellschichten

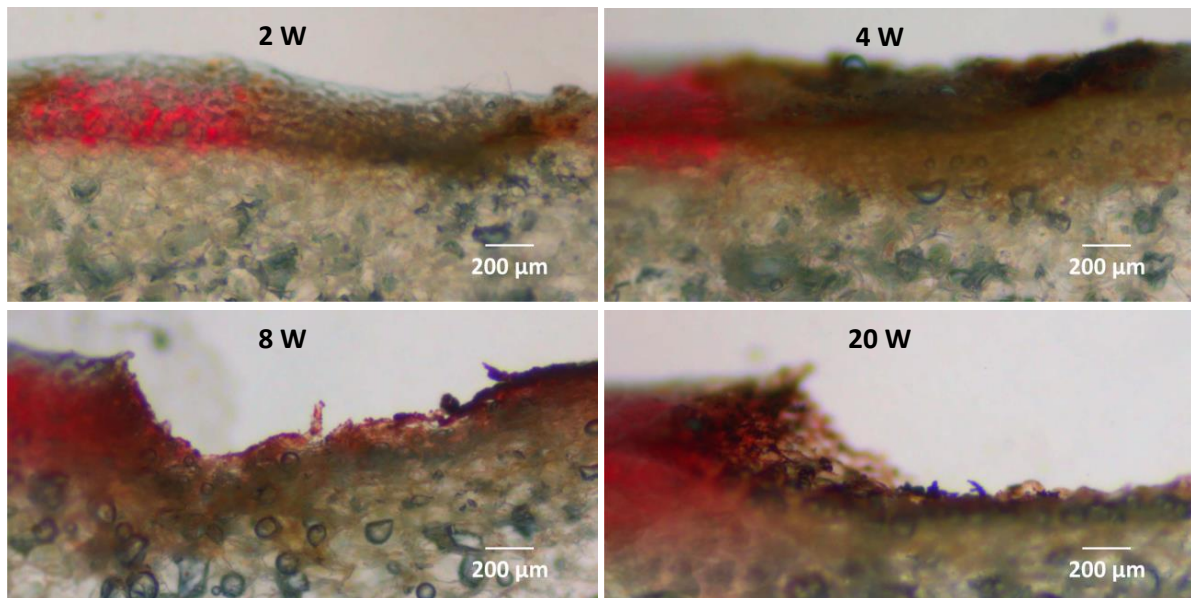
Lasermarkierungen sollten die Qualität des Produktes nicht beeinträchtigen. Die Definition von Qualität ist wiederum produktabhängig. Bei Früchten ist die Frische maßgeblich, die sich z.B. in der Festigkeit des Fruchtfleisches zeigt. Bei Zierpflanzen und –gehölzen ist neben der optischen Attraktivität auch die Qualität im Weiterwuchs entscheidend. Diese Aspekte ließen sich in Untersuchungen zur Eindringtiefe der Laserstrahlung in das Pflanzenmaterial sowie anhand von Langzeittests (auch unter Stressbedingungen) abbilden. In Abschnitt 5.4.1 wurden bereits unterschiedliche betriebsart-, wellenlängen- und energieabhängige Eindringtiefen beschrieben. Für die Verwendung der Laserwellenlänge 10.600 nm ( $\text{CO}_2$ -Laser) bei Leistungen bis 20 W wurden histologische Untersuchungen an lasermarkierten Rhododendron-Stecklingen durchgeführt. Die Dünnschichtschnitte wurden mikroskopisch in 10facher Vergrößerung untersucht (Abb. 5.13, S. 108).





**Abb. 5.13: Histologische Schnitte lasermarkierter Rhododendron-Stecklinge bei unterschiedlichen Laserleistungen ( $\text{CO}_2$ -Laser,  $\lambda = 10.600 \text{ nm}$ ,  $P = 2 \text{ W} \dots 20 \text{ W}$ ); (Fotos: C. Marx)**

Mit zunehmender Laserleistung wurden die äußeren Zellschichten bis zur Durchtrennung von Epidermis und Rindenparenchym belastet. Bei hohen Laserleistungen drang die Laserstrahlung bis zum empfindlichen Kambium vor. Da hier nachwachsende Zellschichten differenziert werden, ist bei Beschädigungen von Vernarbungen des Gewebes im Weiterwuchs auszugehen. Die Eindringtiefe betrug bei Rhododendron maximal ca.  $400 \mu\text{m}$ . Auch bei der Markierung von Äpfeln zeigte sich eine deutliche Belastung der äußeren Zellschichten (Abb. 5.14).

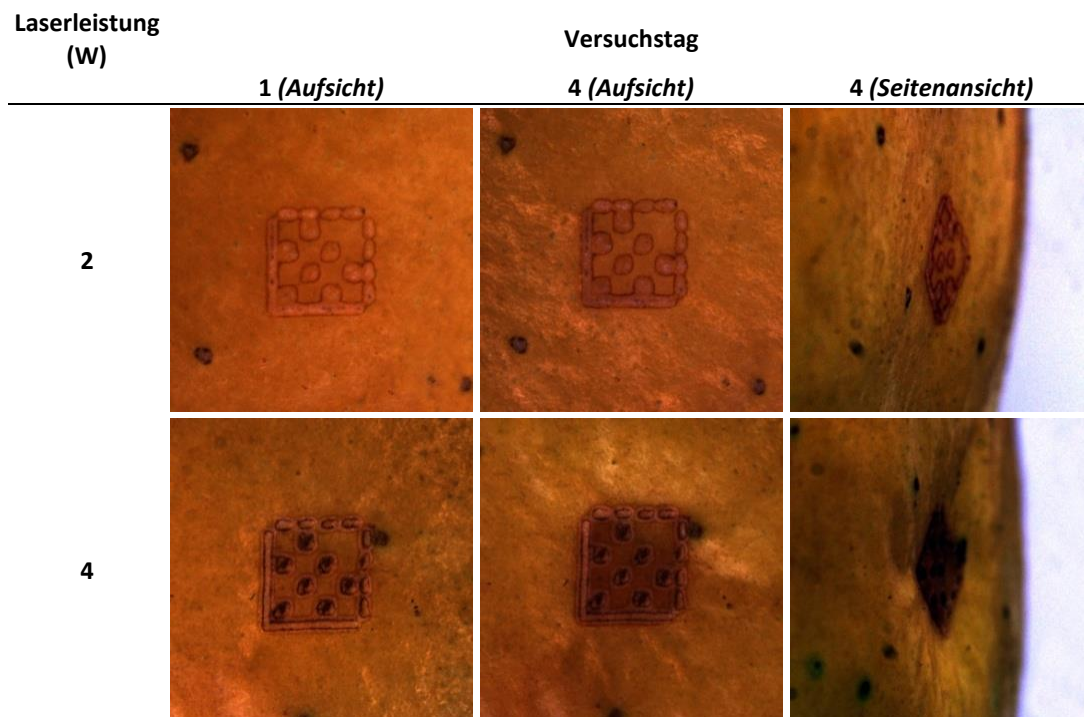


**Abb. 5.14: Histologische Schnitte lasermarkierter Äpfel (Sorte: 'Elstar') bei unterschiedlichen Laserleistungen ( $\text{CO}_2$ -Laser,  $\lambda = 10.600 \text{ nm}$ ,  $P = 2 \text{ W} \dots 20 \text{ W}$ ); (Fotos: K. Schymik)**

Bei Laserleistungen bis  $4 \text{ W}$  ( $\text{CO}_2$ -Laser,  $\lambda = 10.600 \text{ nm}$ ) wurden ein geringer Zellabtrag sowie eine deutliche Gewebeverfärbung bis unterhalb der Epidermis beobachtet. Die Rotfärbung durch vorhandene Anthocyane ging in eine dunkelbraune Färbung über. Bei höheren Laserleistungen war der Zellabtrag erhöht und die Verfärbungszone verlagerte sich entsprechend in tieferliegende Gewebeschichten. Die maximale Eindringtiefe betrug auch bei den Äpfeln ca.  $400 \mu\text{m}$ .

### Zeitliche Oberflächenveränderungen

Die Auftrennung der äußeren Zellschichten durch die Laserbestrahlung hatte weitere Folgen. Durch die Perforation der Apfelepidermis wurden Wasserverluste begünstigt (Abb. 5.15).



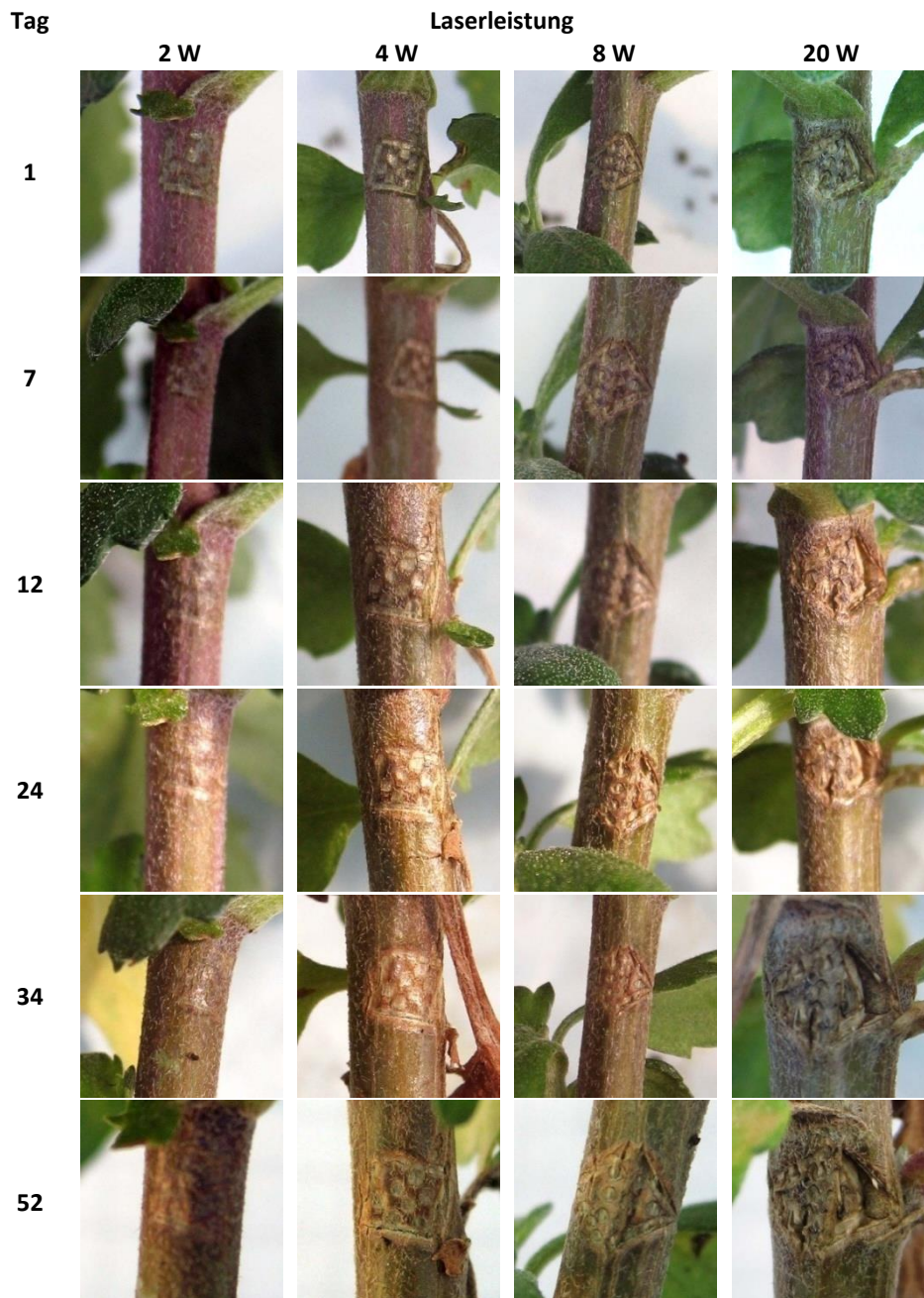
**Abb. 5.15: Veränderung der Oberflächen von Äpfeln bei Lagerung nach Lasermarkierung (CO<sub>2</sub>-Laser,  $\lambda = 10.600 \text{ nm}$ , P = 2 W und 4 W); (Fotos: C. Marx)**

Drei Tage nach der Lasermarkierung war bei höheren Laserleistungen eine deutliche Dunkelfärbung innerhalb des Musters zu erkennen. Zudem fiel das Gewebe lokal stark ein, wodurch sich eine Mulde bildete. Bei kleinen Laserleistungen waren die Effekte deutlich geringer bzw. nicht ausgeprägt.

Während Lasermarkierungen keinen nachweisbaren Einfluss auf den Wuchs von Chrysanthemen hatten (Bonitur an insgesamt 15 Pflanzen in 5 Gruppen), veränderten sich die Muster in Abhängigkeit der Kulturdauer und der verwendeten Laserleistung (Abb. 5.16, S. 110).

Nach der Lasermarkierung zeigten sich im Weiterwuchs unterschiedliche Effekte. Einerseits waren schwach markierte Muster (2 W) nach 52 Tagen nur noch in Ansätzen zu erkennen. Andererseits zeigte sich bei hohen Laserleistungen, dass das Gewebe bereits anfänglich stark beschädigt und durch eine zunehmende Vernarbung das lasermarkierte Muster unkenntlich wurde. Bei Laserleistungen von 4 W veränderte sich die Markierung kaum und blieb erkennbar.





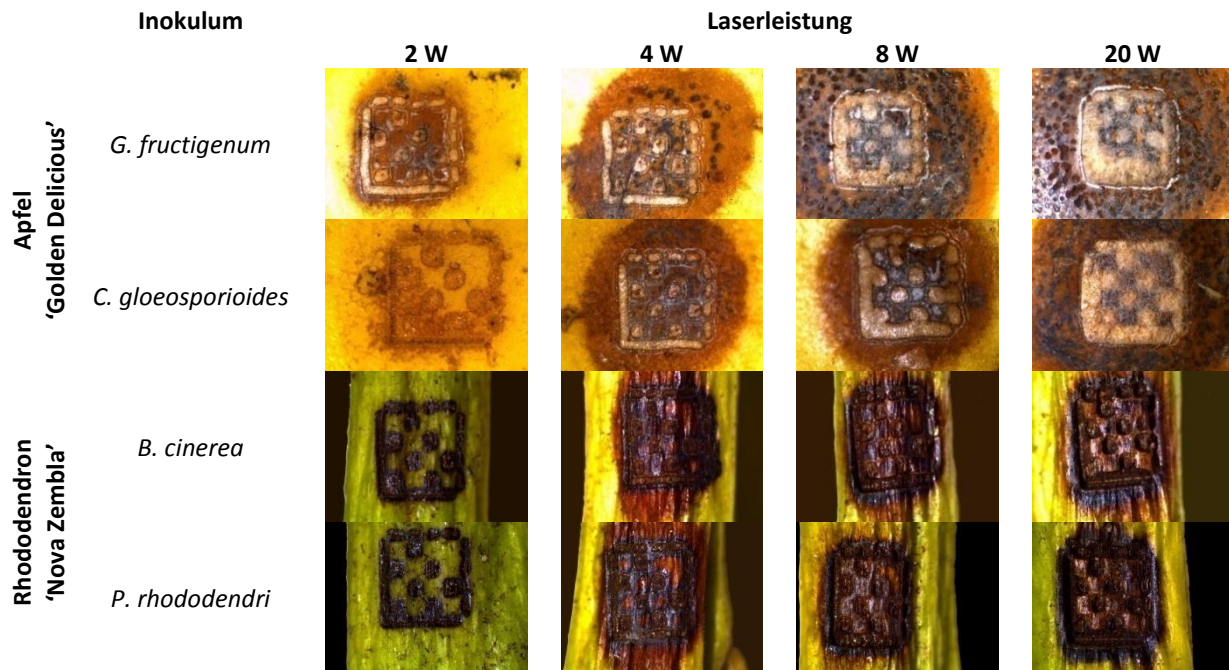
**Abb. 5.16:** Junge Chrysanthemen-Pflanzen in der Kultivierung nach Lasermarkierung mit unterschiedlichen Laserleistungen (CO<sub>2</sub>-Laser,  $\lambda = 10.600 \text{ nm}$ ,  $P = 2 \text{ W} \dots 20 \text{ W}$ ); (Fotos: C. Marx)

### Beeinflussung der Vitalität

In Versuchen zur Lasermarkierung von Rhododendron- und Rosenstecklingen wurde die Bewurzelung bonitiert. Wurzelballen und lange Wurzeln traten nur bei schwachen Laserleistungen auf. Bei Markierungen mit 2 W Laserleistung war die Bewurzelung besser als bei der Kontrolle (Wurzeltrockenmasse bei Rhododendron-Stecklingen im Mittel verdoppelt). Mit ansteigender, applizierter Laserenergie nahm die Bewurzelung (gemessen an ausgebildeten Wurzelansätzen mit einzelnen längeren Wurzeln) ab. Bei Rhododendronstecklingen war diese Abnahme höher als bei Rosenstecklingen. Mehrfachmarkierungen gleicher Laserleistung führten zur weiteren Abnahme der Bewurzelung. Bei 3 Markierungen auf einem Steckling wurde noch ca. 1/3 der Wurzeltrockenmasse erreicht, wie bei nur einer Markierung aber gleicher Laserleistung.

### Beeinflussung des Befallsrisikos gegenüber pilzlichen Schaderregern

Neben den Wasserverlusten stellten Beschädigungen der Epidermis potentielle Eintrittspforten für Schaderreger dar. Die Auswirkungen auf die Widerstandsfähigkeit des Produktes gegenüber Infektionen wurden mit hochdosierten Inokulationstests untersucht, wobei Pilzsporen direkt auf die Lasermarkierung geträufelt wurden. Durch die Verwendung einer künstlichen Sporensuspension überstieg die verwendete Sporenanzahl deutlich die in der Praxis in feuchter Lagerluft auftretenden Konzentrationen. Es wurde ersichtlich, dass der Befall der lasermarkierten Oberflächen bei geringen Laserleistungen begrenzt, bei tieferen Verletzungen jedoch stark ausgeprägt war (Abb. 5.17).



**Abb. 5.17: Befallscharakteristik 6 Tage nach der Inokulation unterschiedlich lasermarkierter Äpfel und Rhododendron-Stecklinge mit spezifischen Pilzsporen; (Fotos: H. Hoja) (Marx et al. 2013a)**

Die aus den Pilzsporen gebildeten Hyphen waren in der Lage, in das Pflanzenmaterial einzudringen und binnen 6 Tagen große Kolonien mit eigener Sporenproduktion zu bilden. Besonders signifikant war der Befall des Apfelgewebes, der sich bei höheren Laserleistungen stark ausprägte. Bei Rhododendron waren ab 4 W Laserleistung keine Unterschiede mehr festzustellen (Abb. 5.18, S. 112). Neben der Kontamination der Pflanzenprodukte wurde durch den Befall auch das Markierungsmuster unkenntlich.

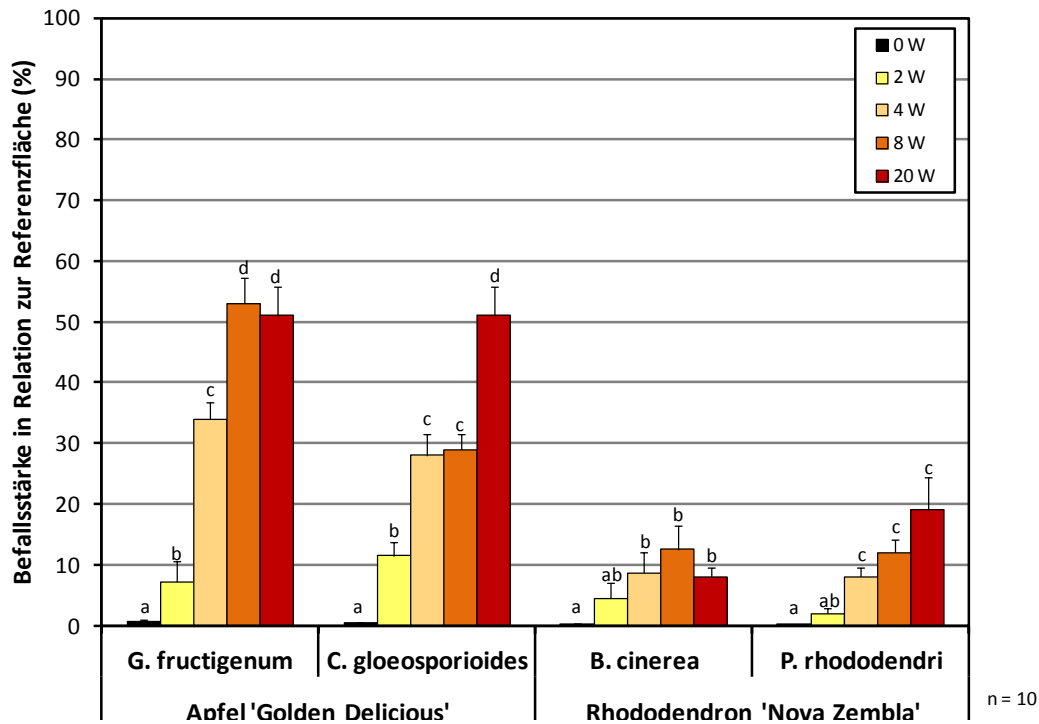


Abb. 5.18: Befall lasermarkierter Produkte nach Inokulation mit Pilzsporen; Referenzflächen: bei Apfel:  $\varnothing$  40 mm, bei Rhododendron: Oberfläche entlang 40 mm Spross; Mittelwerte und Standardfehler aus 10 Wiederholungen; Statistik: t-Test,  $\alpha = 0,05$

#### 5.4.4 Erkennung der Markierungsmuster mit Bildverarbeitungsalgorithmen

##### Entwickelter Bildverarbeitungsalgorithmus

Mit dem in Abschnitt 5.3.5 beschriebenen Schema zur automatischen Erkennung von lasermarkierten Mustern wurde ein Bildverarbeitungsalgorithmus entwickelt (siehe auch Anhang 10.2, S. 144).

##### (1) Manuelle Klassifikation

Nach der Aufnahme des Bildes ( $I_0$ ) wurden zehn Sektoren des unbehandelten Hintergrunds (Produktoberfläche,  $c_b$ ) und zehn Sektoren des Musters (Lasermarkierungen,  $c_l$ ) manuell ausgewählt. Daraufhin wurden die Mittelwerte der RGB-Werte jedes einzelnen Sektors (15 x 15 Pixel) ermittelt. Durch Wiederholung dieser Vorgehensweise an zehn zufällig ausgewählten Bildern, die unter standardisierten Lichtbedingungen aufgenommen wurden, konnten diese Lerndatensätze von gemittelten RGB-Werten zur Klassifizierung von unbehandeltem Hintergrund ( $c_b^*$ ) bzw. lasermarkierten Flächen ( $c_l^*$ ) für weitere Bilder gleicher Produkte genutzt werden.

##### (2) Binarisierung mittels Diskriminanzfunktion

Zur Diskriminierung ( $f_D(c_{x,y})$ ) der Bildpunkte wurde jedes Pixel ( $c_{x,y}$ ) in  $I_0$ , das durch die zugehörige Zeile ( $x$ ) und Spalte ( $y$ ) identifiziert wurde, entweder der Hintergrundregion ( $c_b$ ) oder der lasermarkierten Region ( $c_l$ ) anhand von Mahalanobis-Distanzen ( $d_I, d_{II}$ ) zugeordnet. Mithilfe der Lerndatensätze ( $c_b^*, c_l^*$ ) und des R-package LinDA ([www.faes.de](http://www.faes.de)) konnte die Diskriminanzfunktion auf die



Faktoren ( $b_0 \dots b_3$ ) und die RGB-Werte an der bestimmten  $xy$ -Position reduziert werden. Diese Diskriminierung führte zu dem Binärbild ( $I_{bin}$ ).

$$d_I(c_{x,y}) = (c_{x,y} - c_b^*)^T \cdot \text{Cov}(c_b^*, c_I^*) \cdot (c_{x,y} - c_b^*) \quad [5.2]$$

$$d_{II}(c_{x,y}) = (c_{x,y} - c_I^*)^T \cdot \text{Cov}(c_b^*, c_I^*) \cdot (c_{x,y} - c_I^*) \quad [5.3]$$

$$f_D(c_{x,y}) = 1/2 \cdot (d_{II}(c_{x,y}) - d_I(c_{x,y})) = b_0 + b_1 \cdot R_{x,y} + b_2 \cdot G_{x,y} + b_3 \cdot B_{x,y} \quad [5.4]$$

$$\text{mit der Klassifikation: } \begin{cases} f_D(c_{x,y}) > 0 \Rightarrow c_{x,y} \in c_b \\ f_D(c_{x,y}) < 0 \Rightarrow c_{x,y} \in c_I \end{cases}$$

Zur Rauschminderung wurden alle kleinen Regionen des Binärbildes ( $I_{bin}$ ) unterdrückt. Zudem wurden alle Hohlräume gefüllt.

### (3) Kantendetektion

Um die Lasermarkierungen zu identifizieren wurde eine Kantendetektion mit dem Sobel-Operator

(Schar, 2000) und den Matrizen  $\begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 2 & 0 & -2 \\ 1 & 0 & -1 \end{pmatrix}$  spaltenweise und  $\begin{pmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{pmatrix}$  zeilenweise durchge-

führt. Durch die Berechnung des euklidischen Abstands zwischen den beiden neu entstandenen Bildern entstand das Bild  $I_{edge}$ . Nach der Kantendetektion waren die lasermarkierten Bereiche selektiert, jedoch war die Orientierung und die Größe des Musters noch unklar.

### (4) Hough-Transformation

Es wurde eine Hough-Transformation (Duda & Hart, 1972) mit folgenden Randbedingungen angewendet: Erfassung aller geraden Linien, die auf mindestens 30 Punkten bei einer Winkelauflösung von  $1^\circ$  im Bild  $I_{edge}$  und mindestens im Abstand 2 in Winkelrichtung im Hough-Raum lagen. Somit wurde das Houghbild ( $I_{hough}$ ) berechnet. Da das verwendete Muster aus rechtwinkligen Elementen bestand, fanden sich viele Häufungspunkte bei Winkeln im Abstand von  $\pi/2$ . Unter Berücksichtigung der Häufigkeitsverteilung aller Häufungspunkte wurden im Hough-Bild  $I_{hough}$  nur die Elemente ausgewählt, die in  $I_{edge}$  die meist vertretenen, zueinander rechtwinkligen Geraden  $L_{hough}$  repräsentierten. Dies wurde mit einer weiteren Hough-Transformation auf  $I_{hough}$  vorgenommen, in dem sich nach Schwellwert-Binarisierung entlang der Häufungspunkte Geraden abzeichneten, die nun wiederum erkannt wurden.

Die Winkel der selektierten Hough-Linien  $L_{hough}$  wurden darüber hinaus genutzt, um das Bild so zu drehen, dass die Linien horizontal und vertikal ausgerichtet wurden. Die darauffolgenden Bearbeitungsschritte wurden dadurch vereinfacht.

### (5) Erkennung des Orientierungsrahmens

Der Orientierungsrahmen umgab die Flächen des 2D-Musters. Alle Linien  $L_{hough}$  spannten Rechtecke der Größe  $A_j$  zwischen ihren Kreuzungspunkten auf. Zur weiteren Rauschminderung wurden die Flächen mit einer Mindestgröße selektiert ( $A_j^*$ ). Die vier äußersten Linien von  $L_{hough}$  bildeten das größte Rechteck  $A_{j,0}$ . In Abhängigkeit der Sollgeometrie des 2D-Musters betrug die innerhalb des

Rahmens liegende, lasermarkierte Fläche 85 % der Gesamtgröße von  $A_{j,\diamond}$ . Durch Subtraktion dieser Innenfläche von der Gesamtfläche wurden die Bereiche selektiert, die den Rahmen repräsentierten.

$$A_{op} = A_{j,\diamond} \cap [(0,85 \cdot A_{j,\diamond}) \cap A_j^*] \quad [5.5]$$

Da der Rahmen durch  $L_{\text{hough}}$  segmentiert wurde, wurde eine iterierte Dilatation mit 1x1 Pixel auf  $A_{op}$  angewendet, was zu  $A_{op}^*$  führte. Die Orientierung des Rahmens wurde nun berechnet als der Vektor ( $v_0$ ) zwischen dem Mustermittelpunkt ( $A_{j,\diamond}$ ) und dem Schwerpunkt seiner größten Fläche ( $A_{op}^*$ ).

### (6) Größenskalierung und Decodierung

Durch Kenntnis der Proportionen der Sollgeometrie (siehe Abb. 5.3, S. 98) und der abgeleiteten Größe der Musterflächen ( $A_0$ ) konnte jede Position der Musterflächen relativ zum Schwerpunktsvektor  $v_G$  des Rahmens und des Einheitsvektors der Orientierung  $\hat{v}_0$  berechnet werden. Dabei wurde der Skalierungsfaktor  $s$  zwischen der Gesamt-Pixelfläche der Sollgeometrie und der lasermarkierten Fläche berücksichtigt

$$s = \sqrt{A_{j,\diamond} / A_0} \quad [5.6]$$

$$v_1 = 6,8 \cdot s \cdot \hat{v}_0 \quad [5.7]$$

$$v_2 = 21,5 \cdot s \cdot \hat{v}_0 \cdot \begin{pmatrix} -2 \\ 0 \end{pmatrix} + v_1 \quad [5.8]$$

$$v_3 = 21,5 \cdot s \cdot \hat{v}_0 \cdot \begin{pmatrix} -1 \\ -1 \end{pmatrix} + v_1 \quad [5.9]$$

$$v_4 = 21,5 \cdot s \cdot \hat{v}_0 \cdot \begin{pmatrix} -3 \\ -1 \end{pmatrix} + v_1 \quad [5.10]$$

$$v_5 = 21,5 \cdot s \cdot \hat{v}_0 \cdot \begin{pmatrix} 0 \\ -2 \end{pmatrix} + v_1 \quad [5.11]$$

$$v_6 = 21,5 \cdot s \cdot \hat{v}_0 \cdot \begin{pmatrix} -2 \\ -2 \end{pmatrix} + v_1 \quad [5.12]$$

$$v_7 = 21,5 \cdot s \cdot \hat{v}_0 \cdot \begin{pmatrix} -1 \\ -3 \end{pmatrix} + v_1 \quad [5.13]$$

Die Generierung von sieben Quadraten, deren Größen  $A_{v_1}, \dots, A_{v_7}$  durch den Skalierungsfaktor bestimmt und deren Positionen mit  $v_1$  bis  $v_7$  berechnet worden waren, ermöglichte die Berechnung der Schnittmengen mit den Regionen des Binärbildes  $I_{\text{bin}}$ . Dies führte wiederum zu einer bitweisen Entschlüsselung des lasermarkierten Musters. Kleinere Regionen waren nach Rauschunterdrückung zu vernachlässigen, sodass nur die lasermarkierten Bereiche zu folgender Decodierung beitrugen. Zum Beispiel für die erste Musterfläche:

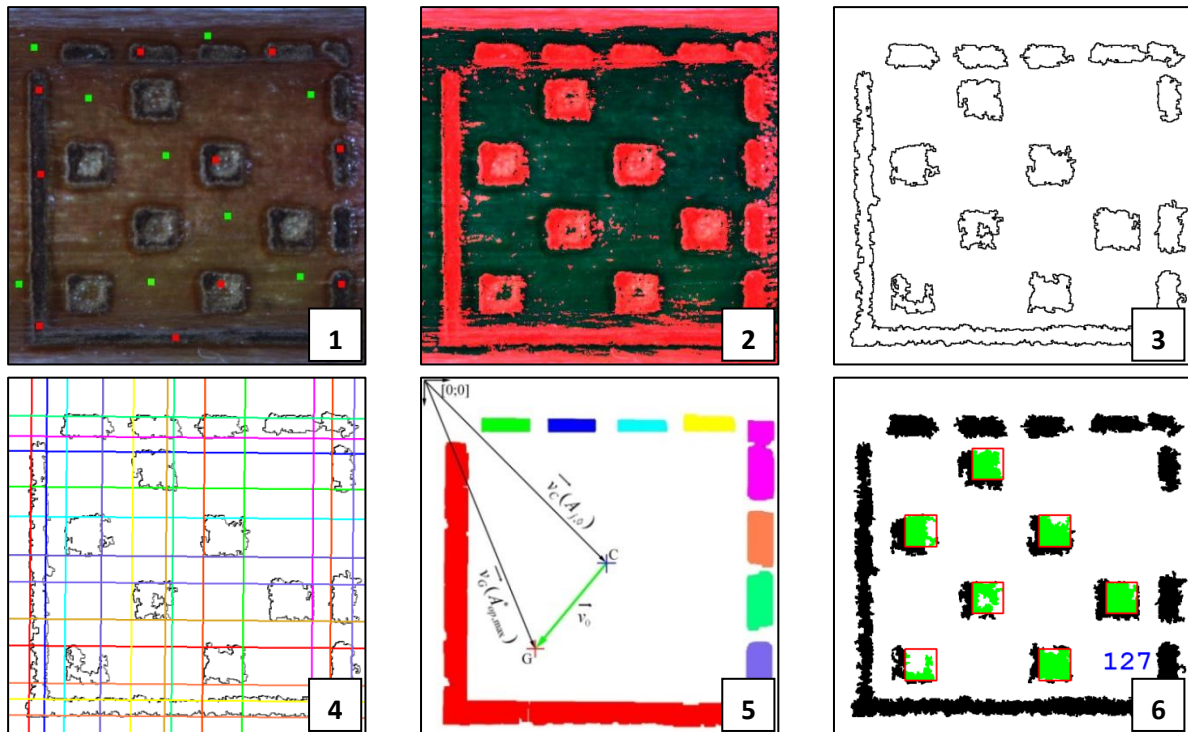
$$A_{v_1} \cap A_j^* = A_{\text{bit1}} \quad [5.14]$$

$$\text{mit der Klassifikation: } \begin{cases} A_{\text{bit1}} \neq 0 \Rightarrow \text{bit1} = 1 \\ A_{\text{bit1}} = 0 \Rightarrow \text{bit1} = 0 \end{cases}$$

Dies führte zu der Entschlüsselung:

$$\text{out} = \text{bit1} \cdot 2^0 + \text{bit2} \cdot 2^1 + \text{bit3} \cdot 2^2 + \text{bit4} \cdot 2^3 + \text{bit5} \cdot 2^4 + \text{bit6} \cdot 2^5 + \text{bit7} \cdot 2^6 \quad [5.15]$$

Die einzelnen Bildverarbeitungsschritte sind in Abb. 5.19 dargestellt.



**Abb. 5.19: Schrittweise, bildbasierte Mustererkennung: (1) manuelle Klassifikation (2) Binarisierung mittels Diskriminanzfunktion (3) Kantendetektion (4) Hough-Transformation (5) Erkennung des Orientierungsrahmens (6) Größenskalierung und Decodierung; (Bilder: C. Marx)**

### Validierung der Bildverarbeitungsalgorithmen

Die Validierung der entwickelten Bildverarbeitungsalgorithmen erfolgte wie in Abschnitt 5.3.5 (S. 100) beschrieben in drei Schritten.

#### Schritt 1: Flache Muster, Lasermarkierung auf Papier

Die Erkennung wurde an 10 unterschiedlichen Mustern in 10 Rotationen zu Bildaufnahmeachse untersucht. Alle Lasermarkierungen wurden re-identifiziert.

#### Schritt 2: Gekrümmte Muster, Lasermarkierung auf Papier

Die Erkennung wurde an 10 unterschiedlich gekrümmten Mustern in 10 Rotationen untersucht. Bis zu einem Krümmungswinkel einschließlich  $30^\circ$  wurden alle Lasermarkierungen erkannt. Bei  $60^\circ$  Krümmung (bei einer Mustergröße von  $3 \times 3 \text{ mm}^2$  entspräche dies einem Produktdurchmesser von  $5,7 \text{ mm}$ ) wurden noch 8 von 10, bei  $90^\circ$  noch 6 von 10, bei  $120^\circ$  noch 2 von 10 Markierungen erkannt. Einschränkungen waren bedingt durch die zunehmende, einachsige Verzerrung des Mustern. Letztlich konnte die Lasermarkierung durch die stark gekrümmte Oberfläche nicht mehr zuverlässig und vollständig aufgebracht werden (vgl. Abb. 5.4, S. 101). Mehrachsige Krümmungen auf kugelförmigen Oberflächen (bspw. beim Apfel) wurden im nächsten Schritt untersucht.

### Schritt 3: Lasermarkierungen auf Pflanzen und Pflanzenprodukten

Die Validierung der bildgestützten Erkennung an Lasermarkierungen auf Pflanzenmaterial (CO<sub>2</sub>-Laser, 10.600 nm) erfolgte an unterschiedlichen Produkten und Laserleistungen (Tab. 5.4). Fehlerhafte Ausprägungen, die allein auf nicht gelungene Lasermarkierungsprozesse zurückzuführen waren, was sich durch eine Fehlpositionierung der Markierung auf stöbelasteter Oberfläche begründete, wurden dabei nicht berücksichtigt.

**Tab. 5.4: Fehlermatrix der bildgestützten Erkennung;  
34 Wiederholungen je Laserleistungsstufe und Produkt**

Produkt Laserleistung (W)		Apfel			Rhododendron		
		≤2	>2-4	>4-8	≤2	>2-4	>4-8
Erkennung	richtig	32 %	40 %	43 %	50 %	39 %	29 %
	falsch	68 %	60 %	57 %	50 %	61 %	71 %

Es ist ersichtlich, dass der entwickelte Erkennungsalgorithmus zunächst nur begrenzt zur automatischen Mustererkennung einsetzbar war. Die Mustererkennung war jedoch produkt- und laserleistungsabhängig. Die Muster auf Äpfeln wurden gleich gut bei niedrigen und hohen Laserleistungen erkannt.

## 5.5 Diskussion

### 5.5.1 Bewertung der Einflussgrößen auf den Erfolg einer Lasermarkierung

#### Bedeutung des Pflanzengewebes bei der Lasermarkierung

Wie die Untersuchungsergebnisse zeigen, war die Ausprägung der lasermarkierten Muster abhängig vom verwendeten Pflanzenmaterial (Abb. 5.7, S. 104). Blanaru et al. (2003) beschrieben den Vorgang der Einkopplung von Laserstrahlung in biologisches Gewebe als einen kombinierten optischen und thermodynamischen Prozess, der von den optischen Eigenschaften des Gewebes abhängig ist. Im Bereich von Bestrahlungszeiten zwischen 10<sup>-5</sup> und 10<sup>2</sup> s sowie Intensitäten von 10<sup>2</sup> bis 10<sup>6</sup> W cm<sup>-2</sup> tritt der so genannte photothermische Effekt auf. Bei diesem wird elektromagnetische in thermische Energie gewandelt, wodurch sich das Gewebe durch strahlungsfreie Relaxation nach Laseranregung erwärmt. Vor diesem Hintergrund leiteten Blanaru et al. (2003) eine theoretische Eindringtiefe ( $\delta$ ) von Laserstrahlung in biologisches Material ab, die sich für CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung aufgrund der hohen Absorption und folglich der vernachlässigbaren Streuung vereinfacht berechnen ließ.

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3 \cdot \mu_a \cdot (\mu_a + \mu'_s)}} \quad [5.16]$$

mit  $\mu_a$ : Absorptionskoeffizient (cm<sup>-1</sup>) und  $\mu'_s$ : Streukoeffizient (cm<sup>-1</sup>)

sowie

$$\delta_{\text{CO}_2} = \frac{1}{\mu_{a,\text{CO}_2}} \quad [5.17]$$

Das bedeutet für  $\mu_{a,CO_2} \cong 1.000 \text{ cm}^{-1}$  (siehe Abb. 3.10, S. 26) beträgt die theoretische Eindringtiefe in wasserreiches, biologisches Material für  $CO_2$ -Laserstrahlung ca.  $\delta_{CO_2} = 10 \text{ }\mu\text{m}$ . Nach Überschreiten einer kritischen Temperatur ( $T > 55 \text{ }^\circ\text{C}$ ) setzt irreversible thermische Schädigung ein, die zu einer Koagulation des Gewebes und letztlich zur Nekrose der betroffenen Zellen führt. Dadurch verändern sich die optischen Eigenschaften, was wiederum die Energieabsorption und -verteilung im Gewebe beeinflusst. Wenn die Energiezufuhr kontinuierlich höher ist als die Energieabführung durch Wärmeleitung, verdampft zunächst Gewebswasser gefolgt von einer Pyrolyse der Zellen und entsprechendem Zellabtrag (Blanaru et al., 2003). Sodann kann die Strahlung tiefer ins Gewebe eindringen. Die unterschiedlich starke Ausprägung der lasermarkierten Muster muss daher auf unterschiedliche Bestandteile und Zellstrukturen in den äußeren Zellschichten zurückgeführt werden.

In histologischen Untersuchungen zeigte sich, dass die Laserstrahlung je nach Gewebeart und verwendeter Laserleistung unterschiedlich tief eindringen kann (Abb. 5.13, S. 108 und Abb. 5.14, S. 108). Bei den Rhododendron-Stecklingen betrug die maximale Eindringtiefe bei 20 W Laserleistung 400  $\mu\text{m}$ , d.h. die Laserstrahlung drang dann bis zur Kambiumschicht in das Gewebe ein. In den aufgetrennten Gewebeschichten (Borke (Epidermis), Rindenparenchym und Bast (sekundäres Phloem)) war der Gewebswasseranteil gering, so dass die Wirkung der fokussierten Laserstrahlung auch bei hohen lokal eingekoppelten Laserenergien auf ein kleines Zellvolumen begrenzt blieb. Der Grad der Verholzung, d.h. die Einlagerung von Lignin in die Gewebezellen, war bei den verwendeten Stecklingen (Rhododendron, Rose) noch gering, da sie einjährigen Trieben der Mutterpflanzen entnommen worden waren. Eine Abschätzung der theoretischen Wärmeeinflusszone konnte nach Barcikowski et al. (2006) vorgenommen werden. Barcikowski et al. trennten Holzwerkstoffe (Kiefer, *Pinus sylvestris*) mittels  $CO_2$ -Laserstrahlung und untersuchten dabei die Schnittfuge mithilfe von Thermographie, UV-Mikrospektralphotometrie und Pyrolyse-GC/MS. Es wurde anhand von chemisch nachgewiesener Ligninveränderung in den angrenzenden Zellen ein gewebestrukturabhängiger Bereich (Faserrichtung, Spätholzanteil) der Wärmeeinflusszone von 14  $\mu\text{m}$  bis 70  $\mu\text{m}$  bei einer Laserintensität von  $4 \text{ MW cm}^{-2}$  ermittelt. Da die Intensität bei der Markierung von Rhododendron-Stecklingen deutlich geringer war ( $0,04 \text{ MW cm}^{-2}$ ) und eine höhere Materialfeuchte als bei den Holzwerkstoffen vorlag (Wärmeleitung über Wasser begünstigt, ca. Faktor 3 bei Wärmeleitfähigkeit), betrug die theoretische Wärmeeinflusszone ca. 0,5  $\mu\text{m}$  bis 2  $\mu\text{m}$ . Das bedeutete, dass maximal eine Zellschicht in Angrenzung an die direkt pyrolysierten Bereiche thermisch belastet und eine Veränderung induziert wurde. Die histologischen Untersuchungen (Abb. 5.13, S. 108) bestätigten dies für die Markierung von Gehölzstecklingen wie Rhododendron oder Rose, da keine Verfärbungen oder Zellwandveränderungen detektiert werden konnten. An den Oberflächen zeigte sich jedoch, dass die Laserleistung einen wesentlichen Einfluss auf die Breite und den Grad der Dunkelverfärbung der Markierungen hatte (u.a. Abb. 5.7, S. 104). Dies konnte jedoch auf das verwendete Strahlprofil (idealisiertes Gaußprofil, siehe auch Abschnitt 5.5.1) zurückgeführt werden, da bei hohen Laserleistungen auch an den Randbereichen eine kritische Energie erreicht wurde, bei der sich eine Farbänderung (Grad der Karbonisierung) entwickelte.

Bei dem weichen Gewebe der untersuchten Äpfel zeigte sich gegenüber den Gehölzstecklingen eine deutlich erkennbare Wärmeeinflusszone sowohl in tieferliegenden Gewebeschichten als auch an der

markierten Oberfläche (Abb. 5.15, S. 109). Unterhalb von Lasermarkierungen geringer Intensität, bei denen nur ein geringer Zellabtrag erkennbar war, verfärbte sich das Gewebe bis in eine Tiefe von ca. 350  $\mu\text{m}$  (Abb. 5.14, S. 108), während an der Produktoberfläche rund um die stark markierten Bereiche Farbveränderungen bis zu mittleren Abständen von 60  $\mu\text{m}$  sichtbar wurden (Abb. 5.7, S. 104). Bei erhöhten Laserleistungen wurden, wie bereits beschrieben, die äußeren Gewebeschichten aufgetrennt. Entsprechend verlagerte sich der verfärbte Bereich in tieferliegendes Gewebe, die Wärmeeinflusszone blieb somit konstant. Der Grund für diese im Vergleich zu den Markierungen auf *Rhododendron* massive Ausprägung war eine andere Gewebestruktur sowie eine höhere Materialfeuchte, wodurch die Wärmeleitung der absorbierten Laserenergie in die angrenzenden Bereiche erhöht war. Die Dunkelfärbung der betroffenen Zellen lässt auf kurzfristig hohe Temperaturen schließen, die eine thermische Reaktion der Zellwände hervorriefen.

### **Bewertung von Veränderungen im Pflanzengewebe**

In der vorliegenden Arbeit wurde metabolischer Stress durch die Verletzung der Zellschichten nicht untersucht. Wie bereits erwähnt, konnten jedoch Etxeberria et al. (2006) sowie Etxeberria et al. (2009) Veränderungen an den Zellwänden des belasteten Gewebes feststellen. Die bereits nach vier Tagen gestiegene Anlagerung von Cutin (Wasserabweisung), Phenolen (leichte Reduzierung des pH-Werts) und Lignin (Zellwandverstärkung) war demnach eine Reaktion der Pflanzenprodukte zur Pathogenabwehr. Infolgedessen waren alle durchgeführten Untersuchungen zur direkten Inokulation der lasermarkierten Flächen nicht erfolgreich: *Salmonella* Bakterien (Anfangskonzentration:  $10^5$  Zellen  $\text{mL}^{-1}$ ) auf Tomate (Yuk et al., 2007) und *Penicillium digitatum* Pilzsporen (Anfangskonzentration:  $10^5$  Zellen  $\text{mL}^{-1}$ ) auf Mandarinen (Sood et al., 2008). Dabei wurde außerdem vermutet, dass Teile der vorhandenen Kutikula (Wachsschicht) bei schwacher Laserbestrahlung aufschmelzen und zu einer wasserabweisenden Beschichtung auch über dem lasermarkierten Bereich werden. Dadurch wäre die Benetzungsfähigkeit herabgesetzt und Pathogene könnten schlechter attackieren. Eine Bestätigung dieser Vermutung zeigte sich hier anhand der REM-Aufnahmen (Abb. 5.6, S. 103). Besonders bei schwach absorbierter Strahlung, wie etwa die eines Nd:YAG-Lasers (1.064 nm), war der Energieeintrag an der Pflanzenoberfläche gering und entsprechend zeigten sich hier blasenförmige Strukturen, was auf ein temporäres Aufschmelzen der auch bei Gehölzen vorhandenen Wachsschicht hindeutet. Dieser induzierte Prozess hätte prinzipiell zur natürlichen Versiegelung der Lasermarkierungen dienen können. Jedoch aufgrund der gewählten Laserbetriebsart (quasi-cw) für den in den Inokulationsversuchen verwendeten  $\text{CO}_2$ -Laser waren die lokalen Energieeinträge zu hoch und die in der Folge durch Gewebeauftrennung erzeugten Strukturen zu breit, so dass die Kutikula verdampfte und der markierte Bereich ungeschützt blieb. Dies wurde in den Versuchen zur gezielten Inokulation bestätigt (Abschnitt 5.4.3, S. 107 ff.). Dabei gelang nur bei schwachen Laserleistungen eine Pathogenabwehr, was vermutlich auf die beschriebene und für die Stärke des Pathogenbefalls ausreichende Anlagerung von Abwehrstoffen zurückzuführen war.

Die erwähnte Anreicherung von Cutin und Lignin im Bereich der Lasermarkierung führte darüber hinaus zu einer Reduzierung des Wasserverlusts mit darauffolgender Gewebeschrumpfung (Sood et al., 2008). Bereits nach 24 Stunden fiel die Evaporationsrate bei Mandarinen von 54 auf 18  $\text{mg m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Bei der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Markierung wurde innerhalb von einem Tag eine maximale Abnahme der Evaporationsrate bei Rhododendron von 306 auf 126 mg m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> und bei Apfel von 378 auf 180 mg m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> beobachtet (Ergebnisse wurden nicht gezeigt). Die deutlich höheren Evaporationsraten waren auf die höheren Energiedichten sowie beim Apfel auf den höheren Gewebswasseranteil bei einer fehlenden Albedo zurückzuführen. Es wurde jedoch bestätigt, dass auch bei lasermarkierten Äpfeln und Rhododendronstecklingen metabolische Schutzreaktionen induziert werden. In den Wuchs- und Bewurzelungstests zeigte sich darüber hinaus, dass die Vitalität der lasermarkierten Pflanzen bei Verwendung produktspezifischer Laserleistungen uneingeschränkt war.

### **Bedeutung der Laserenergiedichte bei der Lasermarkierung von Pflanzen**

Für einen Vergleich mit anderen Untersuchungen zur Pflanzenmarkierung war eine Berechnung der applizierten Energiedichten erforderlich. Das verwendete Lasersystem fokussierte die unterschiedlicher Laserleistung auf einen Fokusbereich von 250 µm (entspricht 0,049 mm<sup>2</sup>) und führte den Laserstrahl mit einer Geschwindigkeit von 200 mm s<sup>-1</sup> über die Oberfläche. Eine dem Fokusbereich entsprechende Fläche wurde somit für 1,25 ms bestrahlt. Die verwendeten Laserleistungen (2 W, 4 W, 8 W, 20 W) führten zu folgenden punktuellen Energiedichten: 51 mJ mm<sup>-2</sup>, 102 mJ mm<sup>-2</sup>, 204 mJ mm<sup>-2</sup> und 510 mJ mm<sup>-2</sup>.

Gegenüber den Ergebnissen bei der Markierung von Äpfeln stellten Etxeberria et al. (2006) bei Avocado (*Persea americana*) und Tomate (*Solanum lycopersicum*) bzw. Etxeberria et al. (2009) bei Grapefruit (*Citrus x paradisi*) nach Laserbestrahlung (CO<sub>2</sub>-Laser, λ = 10.600 nm, gepulst, 247 mJ mm<sup>-2</sup> bei Avocado, 192 mJ mm<sup>-2</sup> bei Tomate und Grapefruit) eine Gewebebeeinflussung bis 25 µm Tiefe unterhalb einer 50 µm abgetragenen Schicht fest. Dazu führten sie Anfärbungen (Kontrastmittel) mit anschließender Fluoreszenzmikroskopie durch und beobachteten nach 4 Tagen Lagerung bei 21 °C und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit eine Anlagerung von Cutin, Phenolen und Lignin im genannten Bereich um die lasermarkierte Stelle herum. Etxeberria et al. nutzten demnach induzierte Zellreaktionen zur Ermittlung der Wärmeeinflusszone. Da unterschiedliche Pflanzengewebe ähnliche Reaktionen zeigten, war der Grund für eine begrenzte Ausprägung der Wärmeeinflusszone bei vergleichbaren Energiedichten die verwendete Laserbetriebsart. Hier wurde die Laserenergie gepulst und punktuell eingekoppelt, während bei den oben genannten Versuchen, der Laserstrahl linear über die Produktoberfläche geführt wurde. Durch das letztgenannte Verfahren wurde ein betrachtetes Zellvolumen stets auch aus der erwärmten Umgebung belastet (Abb. 5.9, S. 105). Deshalb waren Wärmeleitung sowie hervorgerufene Zellreaktionen auch nach Passieren des Laserstrahls möglich. Bei der Ausprägung der Lasermarkierung an der Pflanzenoberfläche stellten Sood et al. (2008) einen Zusammenhang zu der applizierten Laserenergie her. Auf Mandarinen (*Citrus reticulata*) folgte die Ausprägung einer Fläche (A in µm<sup>2</sup>) der gepulsten Laserbestrahlung mit gegebener Energiedichte (W in mJ mm<sup>-2</sup>).

$$A = 0,04 \cdot W - 3,64 \quad [5.18]$$

Das bedeutet, dass sich erst ab ca. 96 mJ mm<sup>-2</sup> eine Markierung ausprägte, die bei steigender Energiedichte kontinuierlich an Größe zunahm. Mit Abb. 5.11 (S. 106) wurde für Äpfel ein linearer Zusammenhang der Musterausprägung bei Erhöhung der Energiedichte angenommen (ca. 13 % größere Markierflächen bei Verdoppelung der Laserleistung von 2 W auf 4 W). Somit wurde im

Vergleich zu der Berechnung nach Sood et al. (2008) ein deutlich höherer Anstieg von  $0,57 \mu\text{m}^2 (\text{mJ mm}^{-2})^{-1}$  der Musterausprägung mit zunehmender Energiedichte ermittelt (aus der Regression zwischen gemessenen Musterflächengrößen, den verwendeten Energiedichten und der zur Markierung minimal erforderlichen Laserleistung von 1 W). Wie bereits bei der Tiefenwirkung erläutert, konnte dies nur mit der linearen Laserstrahlführung und dem entsprechenden Energieeintrag aus der Umgebung, jedoch weniger mit der Gewebestruktur begründet werden. Auch bei Rhododendron wurde die ansteigende Musterausprägung mit zunehmender Energiedichte beobachtet; der Anstieg betrug hier ca.  $0,37 \mu\text{m}^2 (\text{mJ mm}^{-2})^{-1}$ .

### **Bedeutung der Laserwellenlänge bei der Lasermarkierung von Pflanzen**

Die Qualität der lasermarkierten Muster konnte generell mit der erreichbaren Kontrastbildung zur Pflanzenoberfläche beschrieben werden. Insbesondere rechtwinkelige Strukturen sind unnatürlich und sollten daher erleichtert re-identifiziert werden können. Dies war bei der Wahl der Laserstrahlquelle zu berücksichtigen. Ein unmittelbarer Vergleich mit der Literatur war eingeschränkt, da in anderen Untersuchungen allein CO<sub>2</sub>-Lasersysteme verwendet wurden.

Die Ausprägung von Kanten und Ecken wurde, wie die Markierung mittels Excimer- (193 nm) sowie Festkörper-Laser (frequenzgedoppelt, 532 nm) zeigten, durch gepulste sowie stark absorbierte Laserstrahlung begünstigt (Abb. 5.6, S. 103). Durch die hochenergetischen, kurzen Pulse wurde das Oberflächenmaterial nahezu ohne thermischen Einfluss auf benachbarte Bereiche pyrolysiert. Der durch die Verdampfung des Zellwassers und die Sublimation von Zellbestandteilen entstehende Impuls führte zu einem unmittelbaren Schichtabtrag. Bei der Excimer-Laserstrahlung (193 nm, Pulsdauer 30 ns) war dieser Effekt deutlicher, da bei der Festkörper-Laserstrahlung (frequenzgedoppelt, 532 nm, Pulsdauer 5  $\mu\text{s}$ ) thermisch bedingte Karbonisierungen des Zellmaterials an den Rändern der Musterflächen auftraten. Dies lag an der Kombination von Pulsdauer und Pulsenergie, die beim Excimer-Laser 100 mJ pro Puls und beim Festkörper-Laser 3  $\mu\text{J}$  pro Puls betrug. Die schrittweise erzeugte Gesamteindringtiefe war letztlich abhängig von der Pulsanzahl. Die Flexibilität des Excimer- und des Festkörper-Lasersystems war jedoch begrenzt. Beim Excimer-Laser wurde das Muster über halbautomatische Variationen von Blendenöffnungen generiert. Beim Festkörper-Laser konnte eine Scanneroptik genutzt werden, jedoch dauerte die einzelne Markierung aufgrund der geringen Pulsenergie relativ lang bei folglich hohem Gesamtenergiebedarf.

Die Verwendung des Dioden- (940 nm) und des Festkörper-Lasers (1.064 nm) zeigte ungenügende Markierungsergebnisse. Dies war durch die notwendige Schwellenenergie begründet, ab der sich eine Markierung durch eine oberflächliche Farbänderung herausbildete. Durch die verminderte Absorption im Pflanzenmaterial (Abb. 3.11, S. 27) drang die Laserstrahlung in tiefere Zellschichten ein. Erst ab höheren Laserenergien (hier 5 J bzw. 20 J) wurde eine Reaktion an der Produktoberfläche sichtbar. Dann entsprach der absorbierte Energieanteil der erforderlichen Schwellenenergie. Eine scharfkantige und gut erkennbare Markierung war dennoch nicht möglich, da die fokussierte Laserstrahlung aufgrund der geringen Absorption nicht lokal, sondern flächig und tiefenwirksam aufgenommen wurde. Dioden- (940 nm) und Festkörper-Lasersysteme (1.064 nm) waren daher nicht für Lasermarkierungen von pflanzlichen Produkten geeignet. Auch bereits vermehrt zur Markierung von



Metallen und Kunststoffen eingesetzte Faserlaser bei 1.000 nm (Brinkheinrich, 2006) waren folglich nicht geeignet.

Dahingegen führte der Einsatz von Faser- (1.908 nm) und CO<sub>2</sub>-Laser (10.600 nm) auch bei kleinen Leistungen zu gut erkennbaren Markierungen. Die Absorption im Pflanzenmaterial war hoch (> 90 %, vgl. Abb. 3.11, S. 27), sodass die Laserstrahlung direkt an der Oberfläche absorbiert wurde. Das Pflanzenmaterial wurde ebenfalls karbonisiert, wodurch die Erkennbarkeit der Muster verbessert wurde. Jedoch verfärbte sich teilweise auch benachbartes, nicht bestrahltes Gewebe, was, wie bereits in Abschnitt 5.5.1 beschrieben wurde, auf Wärmeleitung zurückzuführen war. Aufgrund der Flexibilität wurde vor allem das CO<sub>2</sub>-Lasersystem für die unterschiedlichen Markierungen des Pflanzenmaterials verwendet.

Sämtliche Veröffentlichungen zur Lasermarkierung von Pflanzenprodukten behandelten bislang CO<sub>2</sub>-Lasersysteme. Diese wurden jedoch auch im Pulsbetrieb betrieben, woraus sich bereits genannte Vorteile einer geringeren Gewebebelastung ergaben. Bei niedrigen Pulsfrequenzen musste jedoch die auf die Fläche des Laserfokusdurchmessers übertragene Pulsenergie sehr hoch sein, damit sich die Markierung bei einmaliger Bestrahlung ausprägte (vgl. Ergebnisse mit 193 nm-Laser, Abb. 5.6, S. 103), wobei nicht garantiert werden konnte, dass der Kontrast für eine spätere Wiedererkennung durch Farbänderung des Gewebes gegeben war. Bei hohen Pulsfrequenzen konnte die Pulsenergie dahingegen geringer sein, jedoch stellten sich dann hohe, vermutlich oberflächenabhängige Anforderungen an die Relativpositionierung der einzelnen Energiepulse im zu markierenden Muster. Somit wären zeitintensive Mehrfachmarkierungen notwendig, um die Belastung durch dicht benachbarte Pulspositionen zu mindern (vgl. Ergebnisse mit 532 nm-Laser, Abb. 5.6, S. 103). Die Markierung von flächig zusammenhängenden Mustern wurde daher im Quasi-Dauerstrichbetrieb vorgenommen.

Da die realen Absorptionseigenschaften der verwendeten Pflanzenoberflächen (hauptsächlich Rhododendron und Apfel) bislang nicht im Detail bestimmt werden konnten, waren lediglich qualitative Aussagen über die Eignung weiterer Laserstrahlquellen möglich. Alle UV-Laser (< 380 nm) würden ähnliche Effekte zeigen, wie die Bestrahlung mit 193 nm: hohe Absorption an der Oberfläche, gutes Abbildungsverhalten der Markierung jedoch hoher Zeit- und Energieaufwand pro Markierung. Laser im Wellenlängenbereich 380 nm bis 532 nm würden ca. 10 bis 15 % stärker absorbiert als grüne Laser (532 nm), sodass geringere Intensitäten genutzt werden könnten. Ein entsprechendes Lasersystem wäre bspw. in modernen Blu-Ray Playern kostengünstig verfügbar, welches unter Berücksichtigung von Strahlungsleistung und Markierungsgeschwindigkeit adaptiert werden könnte. Im Bereich 532 nm bis 1.064 nm nimmt die Oberflächenabsorption des Pflanzenmaterials zunächst wieder zu, fällt aber bei ca. 700 nm sehr stark ab. Mit Dioden- und Festkörperlaser (> 700 nm) könnten somit nur bei hoher Laserstrahlleistung und Pulsbetrieb lokal begrenzten Markierungen direkt auf dem Pflanzenmaterial realisiert werden. Das Absorptionsspektrum von Wasser zeigte einen Peak bei 1.450 nm. Somit wäre ein spezieller Diodenlaser bei 1,43 bis 1,57 µm geeignet, jedoch bliebe die Abbildungsgüte hinter der eines Tm-Faserlasers (1.908 nm) zurück, da dort die wasserbedingte Oberflächenabsorption noch höher wäre. Im Wellenlängenbereich zwischen 2.000 nm und 10.000 nm sind nur begrenzt kommerzielle Lasersysteme verfügbar. Da in diesem Wellenlängenbereich stets ähnliche Effekte auf das

Pflanzenmaterial erwartet werden, wäre eine Verbesserung der Lasermarkierung nur bei einer Verbesserung der Laserstrahlqualität erreichbar.

Bei der Wahl der zu verwendenden Laserstrahlquelle stellt sich die Frage, welche Langzeitwirkung Laserstrahlung auf biologisches Material hat, wenn das Gewebe durch die Strahlung nur belastet, aber nicht abgetötet wird. Neben den in Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Reaktionen wurde eine Beeinträchtigung von Pflanzenzellen durch UV-Laserbestrahlung (bis 380 nm) nachgewiesen (Yang et al., 2012). Gepulste UV-Laser wurden bereits seit den 1990er Jahren aufgrund der hohen Fokussierbarkeit bei hohen Pulsenergien zur Mikroperforation von Zellen eingesetzt (Hoffmann, 1996). Aufgrund der potentiell negativen Beeinflussung des Gewebes und der vorhandenen Erbinformation durch UV-Laserbestrahlung wäre langwellige Laserstrahlung für die oberflächliche Markierung von Lebensmitteln zu bevorzugen, da dann eindeutig thermische Effekte überwiegen.

### Bedeutung der Laserstrahlführung bei der Lasermarkierung von Pflanzen

Das weiche Gewebe des Apfels wurde durch intensive Laserbestrahlung stärker belastet als das verholzte Gewebe von Rhododendron (Abb. 5.7, S. 104). Dies führte bei ansteigender Laserleistung zu einem Schneidprozess anstatt zu einer oberflächlichen Markierung. Neben der Wellenlänge hatte die lokal applizierte Laserenergie einen relevanten Einfluss auf das Markierungsergebnis. Die punktuelle Belastung wurde dabei durch die Laserstrahlführung beeinflusst. Mit der bidirektionalen, zeilenweisen Laserstrahlführung mittels Scanneroptik zeigte sich, dass sich die Mitten der Musterflächen gegenüber ihren Rändern anders ausprägten (Abb. 5.10, S. 106 beim Apfel: helle Flecken umgeben von dunkleren Rändern innerhalb einzelner Musterflächen). Darüber hinaus wurden Abweichungen zwischen den Soll- und Ist-Geometrien ermittelt (vgl. Abb. 5.8, S. 105). Zur Erläuterung wurde das idealisierte Strahlprofil der verwendeten Laserstrahlquelle (CO<sub>2</sub>-Laser, Synrad 48-5) herangezogen (Abb. 5.20).

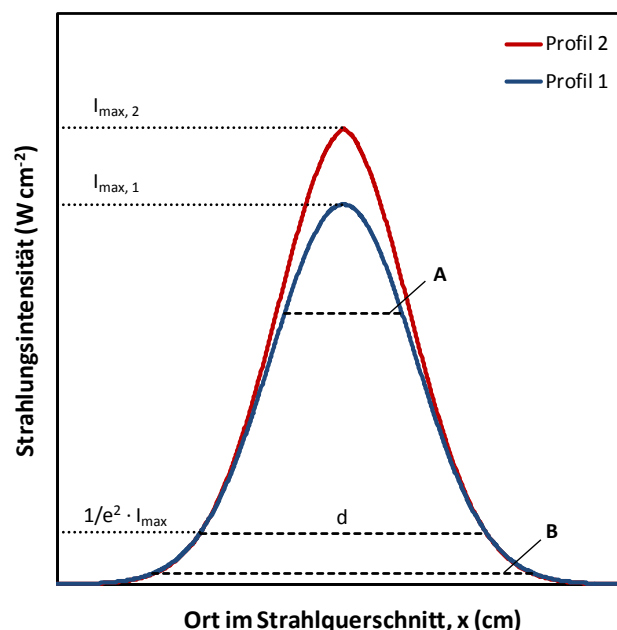


Abb. 5.20: Idealisierte Strahlprofile des CO<sub>2</sub>-Lasers (Synrad 48-5)

Der Nennfokusbereich ( $d$ ) eines idealisierten Gaußprofils ( $TEM_{00}$ ) beim  $CO_2$ -Laser ist definiert bei einer Abschwächung von  $1 - 1/e^2$  gegenüber dem Intensitätsmaximum ( $I_{max}$ ) (Eichler et al., 2004). Beim verwendeten  $CO_2$ -Laser mit scannerbasierter Planfeld-Fokussierungsoptik war  $d = 250 \mu m$ . Bei der Markierung von Äpfeln zeigte sich (Abb. 5.10, S. 106), dass sich das Strahlprofil auf die Ausprägung der Markierung auswirkte. Die Struktur der markierten Flächen war ungleichmäßig. So wurde anhand von Fotos die maximale Wirkung der Laserstrahlung auf das Gewebe (d.h. bis zur Auftrennung) (Fläche  $A$  eines 3D-Strahlprofils, Abb. 5.20, S. 122) bei einem Durchmesser von ca.  $100 \mu m$  und die minimalste Wirkung (Fläche  $B$ ) bis ca.  $\varnothing 330 \mu m$  festgestellt. Dies war intensitätsabhängig (Abb. 5.20: bei Profil 2 wurde der Durchmesser  $A$  gegenüber Profil 1 größer). Daher war insbesondere die Realisierung geringer Strichbreiten nicht möglich. Bei ansteigenden Strichbreiten in der Sollvorgabe an die Lasersteuerung wurden durch die Scannersoftware eng parallelgeführte Markierzeilen umgesetzt. Daher setzte sich der beschriebene Effekt durch Wärmeleitung in das angrenzende Gewebe auch hier fort. Gleiches galt grundsätzlich auch für die Musterflächen im Inneren der Markierungen. Die thermische Belastung des Gewebes zeigte sich in Thermographie-Aufnahmen (Abb. 5.9, S. 105). Bestrahltes Gewebe war noch nach Passieren des Laserstrahles wärmer als benachbarte Bereiche, sodass thermisch bedingte Reaktionen in der Epidermis für weitere  $> 500 ms$  andauern konnten. Zudem akkumulierte die Wärme in den Mitten der Musterflächen, da diese die größte Entfernung zur wärmeableitenden Umgebung aufwiesen. Es wurde vermutet, dass die Wärme direkt nach Passieren des Laserstrahls und der beginnenden Abkühlung radial abgestrahlt wurde. In der Folge vergrößerte sich die Ausdehnung der Musterflächen, die sich zudem abgerundet ausprägten.

### **Bedeutung der Lasersteuerung bei der Lasermarkierung von Pflanzen**

Darüber hinaus war ein weiterer Einfluss durch die Lasersteuerung zu beachten. Durch die in Abschnitt 5.4.1 (S. 102 ff.) beschriebene, notwendige Drehung der Muster zum Bearbeitungsfeld wurden die Musterflächen durch eine in einer der Ecken beginnenden Laserbestrahlung generiert. Die nächsten, parallelen Markierzeilen wurden dann kontinuierlich breiter und die Zeit in der die Laserstrahlung aktiv war länger. Da sich insbesondere bei der Markierung der Äpfel der Rand der Musterflächen stark ausprägte (Abb. 5.10, S. 106), wird vermutet, dass die Laserausgangsleistung bei den wiederholten Ein- und Ausschaltvorgängen zu Beginn und am Ende der je Markierzeile aktiven Zeit höher war als die mittlere Leistung. Dies führte letztlich dazu, dass sich die Musterflächen in Relation zur erforderlichen Anzahl und Länge der softwaregesteuerten Markierzeilen insgesamt kleiner ausprägten als durch die Sollgeometrie vorgegeben (Abb. 5.8, S. 105). Eine musteroptimierte und an die Scannerbewegung angepasste Bereitstellung der Laserstrahlenergie war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich. Bei Verwendung kleinerer Laserfokusbereichs ( $\varnothing 50 \mu m$ ) zeigte sich jedoch abmildern, was sich auch bei den Versuchen mit Tm-Faserlasern ( $\varnothing 50 \mu m$ ) gezeigt hatte. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass ein kleinerer Laserspot länger aktiv sein muss, um eine bestimmte Fläche zu rastern. Daher müsste die akkumulierte Laserenergie berücksichtigt werden.

### **Bedeutung der Markierungsmuster bei der Lasermarkierung von Pflanzen**

Als Markierung wurde ein eigens entwickeltes Muster verwendet (Abb. 5.3, S. 98), dessen Komplexität gegenüber standardisierten 2D-Barcodes gering war und sich somit zur Miniaturisierung auch auf unregelmäßigen Oberflächen eignen sollte. Jedoch war der Inhalt des codierten Musters auf 128 Möglichkeiten begrenzt. Ein Vergleich mit standardisierten Codes gelang durch Ermittlung der notwendigen Elemente (markierte und nichtmarkierte Zeilen bzw. Punkte). Das verwendete Muster enthielt 121 Elemente während ein 1D-Barcode (Typ: Code 128) 37 Elemente und ein 2D-Barcode (Typ: QR Code) 441 Elemente für die Darstellung der Zahl 128 benötigten. Bei den standardisierten Barcodes sind jedoch Verschlüsselungsverfahren integriert, die eine deutliche Erhöhung der codierbaren Zustände bei einer ähnlichen Anzahl der Elemente ermöglichen. Bei 2D-Barcodes (Typ: QR Code) können bspw. Zahlen bis  $10^{33}$  ebenfalls mit 441 Elementen dargestellt werden. Daher wäre eine weitere Codierung der verwendeten Muster zur Erhöhung der codierten Inhalte mit zu den Standards ähnlichen Algorithmen denkbar und bei Berücksichtigung der auflösungslimitierenden Effekte auf den Pflanzenproduktoberflächen möglich. Dabei wären lokal veränderliche Oberflächeneigenschaften (Struktur, Pigmentierung) zu beachten, deren Auflösung in der Größenordnung der Musterflächen liegen kann.

Durch die quadratische Form der Muster war ihre Orientierung beliebig und eine Ausrichtung der Pflanzenprodukte im Bearbeitungsfeld des Lasersystems lediglich relativ zur Fokusebene erforderlich. In der vorliegenden Arbeit wurde die Positionierung noch manuell durchgeführt (Abb. 5.1, S. 96). Mittels Bildverarbeitung konnte jedoch für unterschiedliche Pflanzenprodukte eine geeignete Pflanzenoberfläche bei Berücksichtigung von Oberflächenstörungen mittels Diskriminanzanalysen identifiziert und somit eine ideale Position für eine Lasermarkierung ermittelt werden (Ergebnisse nicht dargestellt). Diese Informationen könnten bei der Lasersteuerung verwendet werden. In Kombination mit einem optischen System zur aktiven Veränderung der Fokusslage während der Lasermarkierung (bspw. Füssler et al., 2008) wäre bei Bestimmung der aktuellen Entfernung der Pflanzenoberfläche zum Laserbearbeitungskopf eine adaptive Markierung möglich. Des Weiteren waren die Muster bereits bis zu einem gewissen Grad tolerant gegenüber eindimensionalen Verzerrungen, die in der Bildverarbeitung berücksichtigt werden konnten (Abschnitt 5.4.4, S. 112 ff.). Hierbei könnte mit Systemen, die eine Steuerung der Fokusslage erlauben (bspw. Füssler et al., 2008), nach Erfassung der Produktoberflächenkrümmung das Markierungsmuster adaptiv angepasst werden, um einer sphärischen Verzerrung entgegenzuwirken. Dabei würde gelten, dass das Ist-Codemuster nach der Laserbestrahlung in der Aufsicht auf die gekrümmte Oberfläche stets unverzerrt erscheinen sollte. Das Sollmuster für die Lasersteuerung würde entgegengesetzt der Oberfläche gekrümmt werden. Alternativ wäre auch eine Markierung aus mehreren Laserscanner-Positionen möglich (Burgner et al., 2009), um die Trajektorie der Lasermarkierung bei tolerierbarem Einfallswinkel der Laserstrahlung umzusetzen.

### **Bedeutung der Markierungsmusterausprägung zur Identifikation von Lasermarkierungen**

Bei der Identifikation von lasermarkierten Mustern ist neben der Eignung der Bildverarbeitungsalgorithmen (siehe Abschnitt 5.5.2, S. 125) auch die Ausprägung der Mustergeometrie auf der Pflanzen-

oberfläche entscheidend. Das Muster war von Beginn an so gestaltet worden, dass sich die Musterflächen sowie der Orientierungsrahmen nicht berührten, um eine möglichst hohe Abgrenzung der markierten Flächen zueinander zu gewährleisten (Abb. 5.3, S. 98). Bei den gemessenen Abständen zwischen den lasermarkierten Flächen (Abb. 5.11, S. 106) zeigte sich der Einfluss der thermischen Belastung der Pflanzenoberfläche. Der Bias zwischen den Soll- und Ist-Abständen war ein Maß für das mit dem verwendeten Laserstrahl erreichbare Auflösungsvermögen, während eine geringere Steigung der Regressionsgeraden ein Maß für die erreichbare Kantenschärfe war. Aus dem Modell zur Ermittlung der Mindestabstände (Abb. 5.12, S. 107) und mit der verwendeten Kamera (Auflösung 1.200 x 960 Pixel und einer abgebildeten Fläche von ca. 16,2 x 12,9 mm<sup>2</sup>) wurde unter der Annahme, mindestens 3 Pixel (entspricht ca. 40 µm) zwischen lasermarkierten Flächen für eine sichere Bildverarbeitung zu benötigen, ein Sollabstand zwischen zu markierenden Flächen von 252 µm bei 2 W Laserleistung (entspricht 51 mJ mm<sup>-2</sup>) bzw. 321 µm bei 4 W Laserleistung (entspricht 102 mJ mm<sup>-2</sup>) ermittelt. Das entwickelte Markierungsmuster erfüllte diese Vorgabe, jedoch wurden die Markierungen, wie bereits erwähnt, auch durch das Laserstrahlprofil und die Laserstrahlführung beeinflusst. Ein Vergleich der hier gezeigten Ergebnisse zum gepulsten Laserbetrieb wurde zu den Untersuchungen von Sood et al. (2008) und Sood et al. (2009) vorgenommen. Dazu wurden in den Bildern der bei ansteigenden Laserenergiedichten unterschiedlichen Punktmatrix-Markierungen mit jeweils 12 Messungen der Abstände zwischen lasermarkierten Punkten ( $d_L$ , µm) auf der Schale der Mandarinen vermessen. Daraus wurde der Zusammenhang mit der verwendeten Laserenergiedichte ( $W_L$ , mJ mm<sup>-2</sup>) abgeleitet.

$$d_L = -1,016 \cdot W_L + 514 \quad [5.19]$$

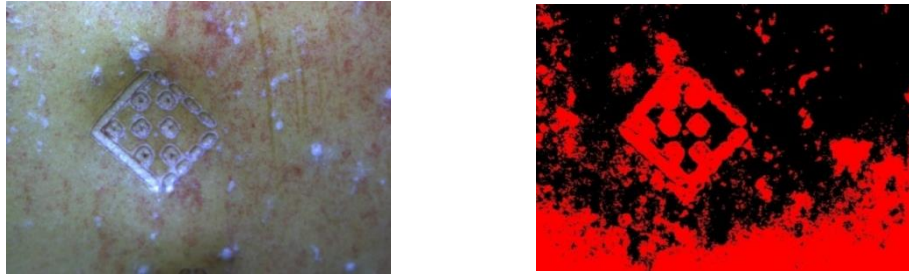
Der RMSE betrug 57 µm. Laut Statistik war dieses Modell jedoch nur im Bereich gemessener Abstände zwischen 120 µm und 450 µm signifikant (Test gegen die Winkelhalbierende mit Berechnung des 95 % Konfidenzintervalls). Folglich wurde im gepulsten Betrieb bei einer Laserenergiedichte von ca. 390 mJ mm<sup>-2</sup> ein Abstand zwischen lasermarkierten Flächen von 120 µm ermittelt. Im Vergleich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit konnten Lasermarkierungen im gepulsten Betrieb und bei Verwendung von Punktrastern mit einer etwa vierfach höheren Energiedichte erstellt werden. Im Rückschluss zeigt sich somit erneut der flächenvergrößernde Einfluss der zeilenweisen Laserstrahlführung entlang des Markierungsmusters. Entsprechend würde eine Optimierung des Musters gelingen, wenn es als Punktraster gestaltet werden würde, mit kleinen Punktabständen in und mindestens 250 µm zwischen den zu markierenden Flächen. Für die Markierung von Äpfeln wäre zudem ein Pulsbetrieb des Lasers bei Energiedichten bis 100 mJ mm<sup>-2</sup> optimal.

## 5.5.2 Bewertung der entwickelten Bildverarbeitungsalgorithmen

### Fehler der Bildverarbeitungsalgorithmen

Ein hoher Anteil der untersuchten Lasermarkierungen wurde nicht erkannt, woran sich zeigt, dass auch bei einem prinzipiell funktionierenden Erkennungsalgorithmus (Abschnitt 5.4.4, S. 112) das verwendete Objekt einen wesentlichen Einfluss hat. Insbesondere die Binarisierung der Bilder mithilfe

von Diskriminanzfunktionen war störungsbehaftet. Bei vergleichsweise homogen strukturierten Äpfeln war die Ausprägung der Muster zwar stets sichtbar, jedoch war bei schwachem Kontrast der Lasermarkierung gegenüber der Produktoberfläche sowie bei variierender Oberflächenfärbungen die Diskriminanz erschwert (Abb. 5.21).



**Abb. 5.21: Störbehaftete Diskriminanz ; links: Originalbild, rechts: Binärbild mit Fehlklassifikationen Bildrand, Reflexionen auf Schalenflecken, Überlappung von Musterflächen; (Fotos: C. Marx)**

Bei Rhododendron waren die Muster meist scharf auf den nur schwach gerieften Oberflächen ausgeprägt und entsprechend gut erkennbar. Die stärkere Krümmung durch kleine Stecklingsdurchmesser und Störobjekte wie Substratreste, Astansätze oder mechanische Schadstellen konnten ebenfalls zu Fehlklassifikationen führen. Beim Apfel führten lokale Reflexionen (bspw. an der Wachsschicht der Apfelschale) sowie Abbildungsfehler an den Bildrändern (Aberrationen) zu weiteren Fehlklassifikationen.

Zudem wurden für die jeweiligen Produkte suboptimale Lasermarkierungsprozesse beobachtet, die zu einem ungünstigen Kontrast zwischen lasermarkierten und nicht markierten Bereichen führten. Besonders wichtig war dabei die gewählte Laserleistung. Zu hohe Laserleistungen führten zu großen, thermisch belasteten Flächen bis hin zu starken Verbrennungen auf der Produktoberfläche. Die Musterteilflächen waren dann nicht mehr voneinander getrennt und überlappten teilweise (Abb. 5.22), wodurch eine bildbasierte Erkennung behindert wurde.

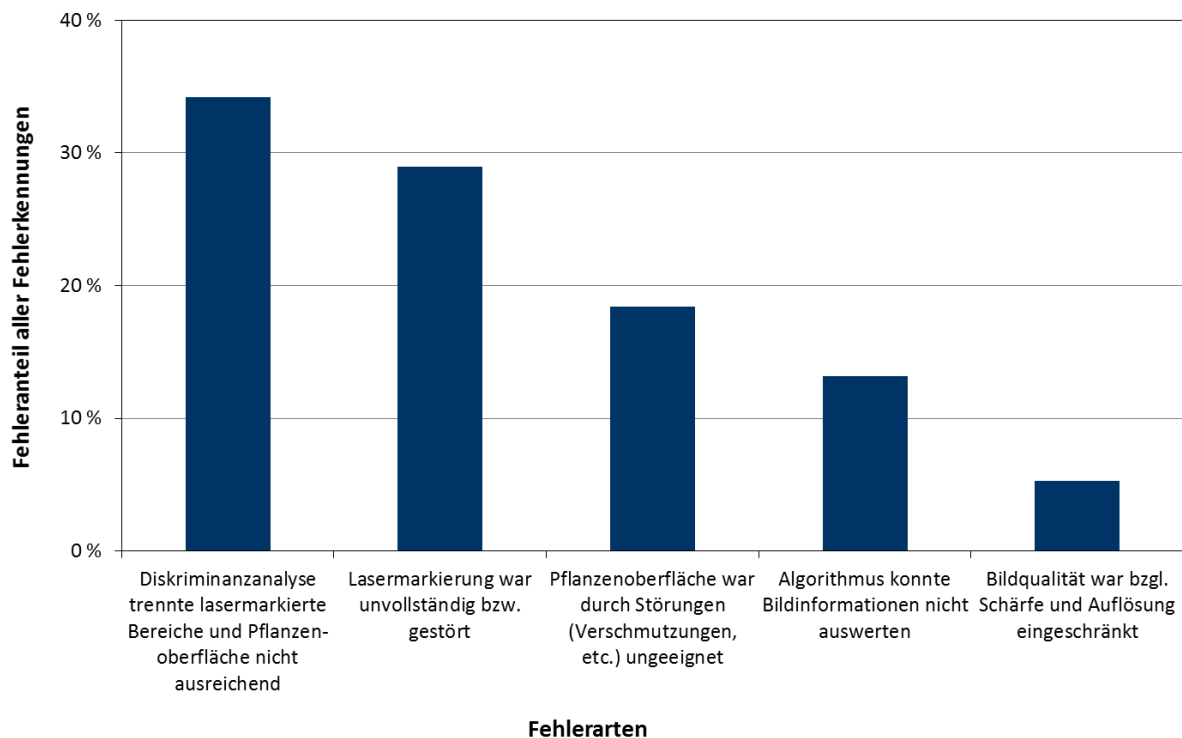


**Abb. 5.22: Fehlerhafte Musterausprägungen nach suboptimalem Lasermarkierungsprozess auf einem Apfel 'Golden Delicious' (links) und einem Rhododendron-Steckling 'Nova Zembla' (rechts); (Fotos: C. Marx)**

Bei zu geringen Laserleistungen war die Ausprägung eher schwächer und ein eindeutiger Kontrast zur Produktoberfläche nicht gegeben. Bei gekrümmten Oberflächen war zudem die aktuelle Fokuslage des Laserstrahls entscheidend, da in den Randbereichen der Muster entsprechend größere Laserstrahldurchmesser auftrafen und durch die Defokussierung die einwirkende Energiedichte abnahm. Die Musterausprägung war dann herabgesetzt.

Der Bildverarbeitungsalgorithmus ist anhand von digitalen Idealmustern entwickelt und optimiert worden. Für die störbehafteten Bilder von Lasermarkierungen auf komplexen Pflanzenoberflächen

traten teilweise programmbedingte Fehler auf. Die Kantendetektion sowie die darauf aufbauende Hough-Transformationen konnten durch Pixel-Fehlklassifikationen zu Fehlern bei der Strukturerkennung führen und die nachfolgenden Schritte behindern. Dies galt insbesondere für die Größenskalierung, die Orientierung und die Bildung der Schnittmenge einer eingepassten Sollgeometrie. Nicht gelungene Re-Identifikationen der lasermarkierten Muster basierten somit auf einer Reihe unterschiedlicher Gründe (Abb. 5.23).



**Abb. 5.23: Anteile der auftretenden Fehlerarten bei der automatischen Mustererkennung**

Die Ursache für nicht decodierte Muster war eine unterschiedlich stark kontrastierte Markierung auf den verschiedenen Produktoberflächen. Bei niedrigen Laserleistungen gelang eine örtlich begrenzte Farbänderung während bei hohen Laserleistungen das Muster durch Schichtabtrag eingraviert wurde (Abb. 5.7, S. 104). Bei mittleren Laserleistungen wurde die Apfeloberfläche thermisch so belastet, dass die Farbänderungen der Musterteilflächen optisch verschmolzen, während noch kein Material abgetragen wurde. Die Erkennung war hier entsprechend erschwert. Bei der Lasermarkierung von Rhododendron-Stecklingen gelang ein Farbumschlag auf der Oberfläche ebenfalls bei niedrigen Laserleistungen. Eine Erhöhung der Laserleistung führte zu zunehmender Verbrennung mit entsprechend ähnlichen Effekten wie beim Apfel. Jedoch karbonisierte die Oberfläche bei steigenden Laserleistungen zunehmend, wodurch eine Verbesserung des Kontrasts durch Schichtabtrag nicht erreicht wurde.

Außerdem war die Positionierung der Muster auf der Produktoberfläche entscheidend. Dabei musste das Muster vollständig auf der Produktoberfläche abgebildet werden. Mit den ermittelten Minimaldurchmessern von 3 mm Kantenlänge (vgl. Abschnitt 5.4.2, S. 105) und zulässigen Krümmungsradien von bis zu 60° (Abschnitt 5.4.4, S. 115) betrug der minimale Produktdurchmesser ca. 5 mm. Darüber hinaus konnten morphologische Strukturen, wie bspw. Blattansätze und Lentizellen, aber auch die

Oberflächenbeschaffenheit sowie Farbunterschiede und Texturen, bedingt durch Pflanzenkrankheiten, Schädlingsbefall oder Druckstellen, die Qualität der Lasermarkierung beeinträchtigen. Ein weiterer Störeinfluss war Verschmutzung im Bereich der Lasermarkierung. Substratreste konnten während der Markierung Anteile der Laserstrahlung absorbieren, weshalb Bereiche des Musters entsprechend fehlten. Jede positionsbedingte Störung einer Markierung verhindert eine anschließende, eindeutige Klassifikation der betroffenen Bildpixel.

Darüber hinaus traten Störungen bei der Bilderfassung selbst auf. Eine gute Bildqualität hinsichtlich Auflösung, Helligkeit, Kontrast und Schärfe ist entscheidend. Beeinträchtigungen dieser Parameter führten bei der erforderlichen Vergrößerung der nur 9 mm<sup>2</sup> großen Muster dazu, dass nachgeschaltete Bildverarbeitungsschritte nicht funktionieren konnten, da diese auf pixelweisen Unterschieden basieren. Die Position des Musters im Sichtfeld der Kamera war zudem wichtig, da besonders bei gekrümmten Oberflächen Teil- und Total-Reflexionen der verwendeten Belichtung an den Bildrändern erfasst werden (besonders bei Äpfeln mit Wachsschichten). Dies wurde auch in den Mustern selbst beobachtet, da die Lasermarkierung die Oberfläche so veränderte (Farbänderungen, Vertiefungen, etc.), dass auch hier störende Reflexionen auftreten konnten. Andere Objekte, die sich in der Nähe zu den Mustern befanden, bspw. Schalenflecken, Blattansätze, Substratreste etc., konnten ebenfalls ungewollte Reflexionen hervorrufen. Je nach Flächengröße waren diese nahen Störungen kritisch für die Separation der Musterteilflächen. Schattierende Pflanzenteile (bspw. Blätter) konnten zu lokalen Bildunterschieden führen, die die eindeutige Klassifikation mittels Diskriminanz zwischen unbehandelter Pflanzenoberfläche und lasermarkierten Flächen verhinderten.

### **Maßnahmen zur Verbesserung der Lesegüte**

Die Erkennungsgüte der in Abschnitt 5.4.4 (S. 112 ff.) entwickelten Bildverarbeitungsalgorithmen könnte durch systemtechnische sowie bildverarbeitende Maßnahmen verbessert werden. Der Laserprozess könnte durch Pyrometrie stärker auf individuelle Produkte (Farb- und Strukturunterschiede der Epidermis) angepasst werden. Dabei würde ein Temperatursignal von der Pflanzenoberfläche während der Lasermarkierung genutzt, um online die Laserleistung anzupassen. Voraussetzung dafür wären jedoch Kenntnisse über die produktspezifisch optimalen Temperaturen sowie leistungsfähige Sensoren zur Erfassung der Messsignale und deren Einbindung in die Lasersteuerung. Indes war die Positionierung der Lasermarkierung besonders bei kleinen Pflanzenproduktdurchmessern entscheidend, da Muster bei nicht optimaler Positionierung nur teilweise ausgeprägt wurden. Daher sollte die Lasersteuerung bildgebend unterstützt und die Markierungsposition individuell (mittels Scanneroptik) angepasst werden können. Darüber hinaus sollte die Produktoberfläche vor der Bildaufnahme schonend gereinigt werden, um störende Verschmutzungen zu entfernen. Dies wäre mittels Druckluftdüse möglich, die den Bildbereich der Kamera reinigt. Die Kamera müsste in diesem Fall vor Verschmutzung geschützt werden (bspw. durch einen Crossjet). Darüber hinaus wäre stets eine Anpassung der Belichtungsbedingungen während der Bilderfassung an die Umgebungsbedingungen erforderlich. Hierbei sollten insbesondere diffuse Lichtquellen eingesetzt werden, um gerichtete Reflexionen auf den Pflanzenproduktoberflächen zu vermeiden. Letztlich könnten hochauflösende Kameras sowie Objektive mit großer Tiefenschärfe die Bildqualität verbessern.



Seitens der Bildverarbeitung wären folgende Maßnahmen denkbar. Die teilweise nicht gelungene Diskriminanz der lasermarkierten Bildbereiche wurde durch unterschiedliche Störungen beeinflusst. Während der Bildrand und kleine Fehlklassifikationen bereits ausgeschlossen wurden, könnte die Dichte diskriminierter Pixelbereiche genutzt werden, um iterativ den Bildausschnitt auf das vermutete Markierungsmuster zu verkleinern. Der Rauschanteil im Bild würde dementsprechend auf nahe an den Musterflächen liegende Bereiche reduziert. Eine Selektion der für die Erkennung interessanten Bildbereiche wäre notwendig. Eine weitere Verbesserung würde sich aus dem menschlichen Sehen selbst ableiten, wobei nicht nur die lasermarkierten Flächen, sondern auch deren Ränder wahrgenommen und beide Informationen zur Pixelklassifikation genutzt werden. Daher wäre eine Diskriminanzfunktion mit drei Gruppenzuordnungen sinnvoll, die zwischen den unbehandelten Pflanzenoberflächen, den lasermarkierten Flächen und den Rändern der lasermarkierten Flächen unterscheiden würde. Darüber hinaus könnte die Parametrisierung der Hough-Transformationen zur Erkennung eckiger Musterstrukturen dynamisch an das jeweilige Bild angepasst werden. Eine wichtige Kenngröße wäre dabei das Verhältnis der Mustergröße zur Bildaufnahmegröße und die daraus abzuleitende, notwendige Pixelanzahl für die Detektion einer Hough-Linie.

### **Beurteilung des Einsatzes von Bildverarbeitung bei codierten Lasermarkierungen**

Die Lasermarkierung gartenbaulicher Produkte und Lebensmittel erfolgte bislang mit alphanumerischen Zeichenketten oder graphischen Symbolen. Während Zeichenketten so genannte *Price Look Up Codes* beinhalten konnten, die eine Produktidentifikation und eine Preiszuordnung beim Verkauf ermöglichten (PEIB 1995), wurden graphische Lasermarkierungen meist nur zu Werbezwecken aufgebracht. Die Markierungen wurden dabei manuell von Personen erfasst und per Hand gegebenenfalls re-digitalisiert, wodurch Abgleiche mit hinterlegten Datenbanken möglich wurden.

Bei keiner der folgenden Quellen wird der Einsatz von Bildverarbeitungsalgorithmen oder eine automatische Identifikation von lasermarkierten Mustern erwähnt: Piliero & Billyon, 1990 (Käse); Piliero, 1992 (Käse); Drouillard & Kanner, 1997 (Orangen, Zitronen); Hnatek, 1997 (pastöse Lebensmittel); Drouillard & Kanner, 1999 (Apfel, Grapefruit, Paprika, etc., vgl. Tab. 5.1, S. 94); Dumitras et al., 2002 (Leder); Blanaru et al., 2003 (Leder); Siggelkow & Becker, 2003 (Backware); Machado Neto, 2005 (Fleischprodukte); Etxeberria et al., 2006 (Avocado, Tomate); Yuk et al., 2007 (Tomate); Sood et al., 2008/2009 (Grapefruit); Etxeberria et al., 2009 (Zitrone); Griffiths & Fox, 2011 (Ei) und Parker, 2011 (Ei).

Bei Drouillard (2005) und Heck et al. (2007) wurde erwähnt, dass eine visuelle Bestätigung abgefragt wurde, ob sich ein positiv lasermarkiertes Produkt (gemessen an der induzierten, oberflächlichen Farbveränderung) an einer Weiterverarbeitungsstation (in diesem Fall zum Aufbringen einer schützenden Wachsschicht) befand. Bei Longobardi (2006; Äpfel) wurde eine Vorrichtung beschrieben, die vor der Lasermarkierung Produktparameter (Farbe, Färbungsgrad, Durchmesser, Mängel an der Oberfläche sowie eventuell die Position der Stängel- und/oder Kelchgrube) erfassen konnte, woraufhin in einer anschließenden Vorrichtung die zu markierenden Früchte optimal ausgerichtet wurden. Die Lasermarkierung selbst wäre jedoch mit bloßem Auge kaum sichtbar, so dass eine spezielle Belichtungs Vorrichtung zur Re-Identifikation verwendet werden müsste. Eine weitere Er-

läuterung der Methoden lag nicht vor. Generell wurde der Einsatz von Bildverarbeitung zur automatischen Erfassung und Entschlüsselung einer codierten Lasermarkierung von Gartenbauprodukten im Kleinstmaßstab nicht vorgeschlagen.

Demgegenüber ist die codierte Lasermarkierung in anderen Branchen weitverbreitet. Bei Metallen und Kunststoffen erfolgt die Re-Identifikation von lasermarkierten Mustern mittels Optischer Zeichenerkennung (OCR) oder mithilfe so genannter Smart-Industriekameras mit eingebetteter Bildverarbeitungssoftware und schnellen digitalen Signalprozessoren (Connolly, 2005). Hochwertige Kamerasysteme (Kosten: ca. 5.000 \$) waren bei standardisierten Umgebungs- (Belichtung) und Produktbedingungen (ausgeprägter Kontrast, bekannte Relativposition der Markierung auf dem Produkt) in der Lage, zuverlässig bis zu 14.500 Barcodes pro Minute zu lesen. Durch die variierenden Bedingungen sowohl in der gartenbaulichen Produktion als auch bei den Produkten selbst, sind solche hohe Lesegeschwindigkeiten mit den vorgestellten Verfahren nicht zu erreichen.

### 5.5.3 Potentielle Anwendungen codierter Lasermarkierungen

Pflanzenproduktion ist maßgeblich an eine hohe Produktsicherheit und eine damit verbundene Rückverfolgbarkeit gebunden, da bspw. viele Produkte aus dem Lebensmittelbereich direkt verzehrt werden. Daher sind die Wege vom Produzenten über Großmarkt und Einzelhandel zum Konsumenten kurz. Dabei sind Produktkontrollen erforderlich, die neben produktspezifischen auch fälschungssichere Informationen über Herkunft, Erntedatum, Lagerung und Transport enthalten. Seit 2002 sind Verfahren zur Lebensmittelsicherheit durch eine EU-Verordnung gesetzlich geregelt (EG 178/2002) und für Europa harmonisiert. Die Rückverfolgbarkeit von Lebens- und Futtermittelprodukten ist in Artikel 18 definiert, wobei von den produktspezifischen Produktions- und Handelsketten die Einführung robuster Systeme mit detaillierten und nachvollziehbar dokumentierten Produktkennzeichnungen gefordert wird. Zur Kontrolle der erforderlichen Maßnahmen wurde die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) eingerichtet. Während für die standardisierte Markierung von Eiern eine Verordnung erlassen wurde (EG 2295/2003), wurde ein Kennzeichnungsverfahren von gartenbaulichen Produkten bislang nicht vorgegeben.

Jedoch haben Markierungen von gartenbaulichen Produkten hinsichtlich ihrer Rückverfolgbarkeit gesellschaftliche Relevanz, wie sich z.B. bei einer Epidemie des hämolytisch-urämischen Syndroms (HUS) aufgrund von enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC)-Erregern im Mai 2011 in Deutschland zeigte. Aufgrund einer zunächst mangelnden Identifizierung der verantwortlichen Produkte (Sprossen) wurden Warnungen veröffentlicht, wodurch der entsprechende Absatz benannter Produkte (Tomaten, Gurken, Blattsalat) stark abnahm und große Erntemengen vernichtet wurden. Daher wurden Bestrebungen verfolgt, die Lebensmittelsicherheit durch eine Erhöhung der Rückverfolgbarkeit von Produkten zu verbessern. Das Interesse an alternativen Markierungsverfahren ist demnach gestiegen. Individuelle Produktmarkierungen wurden von den Produzenten teils auch kritisch angesehen, wenn Mitbewerber und Konsumenten unverschlüsselte Informationen erhalten könnten. Dies wäre insbesondere von Bedeutung, wenn bei einem vermeintlich frischen Produkt das tatsächliche Erntedatum nicht mit dem vermuteten Erntedatum übereinstimmt.

Entsprechend würden Hinweise auf Transportwege sowie Maßnahmen zur Qualitätssicherung (Lagerung) offengelegt. Daher sollten individuelle Produktmarkierungen stets verschlüsselt werden können. Auch lediglich für die Dauer der Vermarktung lesbare Markierungen wären wünschenswert. Lasermarkierungen stellen daher eine Alternative zur Direktmarkierung dar. Die Vorteile liegen in der Untrennbarkeit von Markierung und Produkt sowie dem Verzicht auf jegliche, nicht-essbaren Zusätze, wie sie etwa bei Farbdruckverfahren verwendet werden.

Ein Lasermarkierungsprozess von Einzelprodukten wird durch die komplexe Wechselwirkung verschiedener Laser- und Pflanzenmaterialparameter bestimmt. Neben der Laserleistung, der Betriebsart und dem Laserfokusdurchmesser hatte auch die Mustergeometrie und deren Positionierung aber auch die Pigmentierung der Pflanzenproduktoberfläche, der subkutane Wassergehalt und der Krümmungsradius einen Einfluss auf das Markierungsergebnis. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch gezeigt werden, dass eine schonende und direkte Lasermarkierung auch von Gehölzstecklingen und Äpfeln bei angepassten Laserparametern möglich ist. Dahingegen gelang eine testweise Lasermarkierung von Salatgurken aufgrund der stark gerieften Oberfläche und den hohen Wasseranteilen unter der Epidermis nicht (Ergebnisse nicht dargestellt). Dies konnte darauf zurückgeführt werden, dass die hohe Wärmeleitung in tieferliegendes Gewebe eine kurzzeitige lokale Überhitzung an der Oberfläche zur Erzeugung eines erkennbaren Farbumschlags verhinderte. Das Spektrum, der bislang hinsichtlich Lasermarkierung untersuchten Produkte (vgl. Tab. 5.1, S. 94) wurde dennoch erweitert. Folgende Gruppen konnten unterschieden werden: Lebensmittel, bei denen die lasermarkierte Schale nicht (Avocado, Grapefruit, Kürbis, Orange, Wassermelone, Zitrone) bzw. mit verzehrt wird (Apfel, Paprika, Pfirsich, Pflaume, Tomate) sowie Zierpflanzen (Rosen, Rhododendron, Chrysanthemen). Insbesondere die Lasermarkierung von Gehölzen eröffnet einen weiten Einsatzbereich in der Baumschulproduktion.

Eine mögliche Integration der Lasermarkierungsverfahren in die Produktionsabläufe wäre an die Zulassung durch die Aufsichtsbehörden gebunden. In den USA hat die *Food and Drug Administration* die Lasermarkierung der Schale von Zitrusfrüchten erst 2012 auf Antrag der Durand-Wyland Inc. zugelassen (FDA, 2012), die wiederum Patente von Drouillard & Kanner (1997, 1999) bereits 2002 erworben hatten (LaserFocusWorld, 2004). Darin wurde die Lebensmittelsicherheit von mit Punktrastern lasermarkierten Produkten bei Verwendung eines CO<sub>2</sub>-Lasers unter Einhaltung einer maximalen Energiedichte (9,8 mJ cm<sup>-2</sup>), einer gesamtapplizierten Laserenergie (1,5 mJ) sowie einer maximal markierten Fläche (0,122 cm<sup>2</sup>) bestätigt. Darüber hinaus sollten die Zitrusfrüchte vor der Lasermarkierung gewaschen und gewachst werden, sowie die lasermarkierte Stelle direkt nach der Bestrahlung erneut mit Wachsspray versiegelt werden. Die Zulassung basierte im Wesentlichen darauf, dass im Vergleich zu mit Infrarotstrahlung gekochten Kartoffeln, Tomaten und Äpfeln bei CO<sub>2</sub>-Laser gestützter Markierung keine anderen chemischen Substanzen entdeckt wurden. Dies ist somit auch ein Grund dafür, dass alle bisherigen Veröffentlichungen und Patente auf CO<sub>2</sub>-Lasern basieren.

Trotz der bereits genannten Patente mit den entsprechenden Verfahrensbeschreibungen sind lasermarkierte Lebensmittel auf dem deutschen Markt nicht bzw. nur bei besonderen Ereignissen (Werbeaktionen in geschlossenen Veranstaltungen, etc.) begrenzt verfügbar. In den USA (Stiles,

2004) sowie in Australien (White, 2008) scheint sich die Lasermarkierung von Zitrusfrüchten zu etablieren. Ein Grund dafür könnten die weitgehende Einheitlichkeit und Robustheit der Früchte sein, wodurch sowohl die Lasermarkierung als auch die Wiedererkennung der Markierung vereinfacht sind. Denn die technischen Handhabungs- und Lasermarkierungsmaßnahmen, die in anderen Branchen (Maschinenbau, Elektroindustrie) bereits weite Verbreitung finden, sind in der gartenbaulichen Massenproduktion besonders bei individuellen Erzeugnissen eine Herausforderung. Für hohe Verarbeitungsgeschwindigkeiten der Einzelprodukte müssten zeit- und kosteneffektive Lösungen entwickelt werden. Der Einsatz von Kamera- und Bildverarbeitungstechnik sowie Lasertechnologie müsste in die innerbetriebliche Produktionskette und Logistik eingebunden werden. Das in dieser Arbeit entwickelte Lasermarkierungsverfahren ist somit noch nicht marktfähig. Insbesondere die Weiterentwicklung von selbstadaptierenden Techniken steht im Vordergrund. So müssen die jeweiligen Pflanzenproduktparameter sensorisch erfasst und modellbasiert in Markierungsszenarien überführt werden. Entsprechend würde die Lasertechnik dynamisch nachgeführt (Laserleistung, Fokusslage, Verfolgung der Produkte) und die Laserparameterwahl optimiert werden. Auf diese Weise könnten einheitliche, beliebig skalierbare und gut leserliche Markierungen realisiert werden.

Die Akzeptanz gegenüber Lasermarkierungen auf Lebensmitteln wurde in einer Konsumentenstudie in den USA untersucht (Clark, 2004). Demnach bevorzugten Konsumenten lose Produkte und empfanden Klebeetiketten als störend. Einerseits verblieben Klebereste auf den Produkten, andererseits mussten die Etiketten entsorgt werden. Daher begrüßten die Befragten lasermarkierte Produkte. Die Konsumenten beurteilten Markierungen auf nicht-verzehrbaren Fruchtschalen als wenig kritisch, wobei einige jedoch der Lasertechnik und dem Begriff „Strahlung“ skeptisch gegenüberstanden. Das Fazit der Studie war, dass die Konsumenten von der Unschädlichkeit einer oberflächlichen Lasermarkierung überzeugt werden müssten.

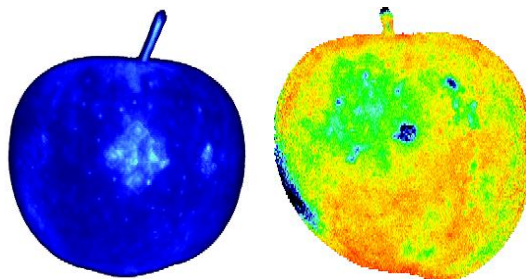
## 5.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Lasermarkierung von Pflanzen und Pflanzenprodukten (Obst sowie Ziergehölze) war mit den untersuchten Verfahren unter Berücksichtigung minimaler Schäden der Oberflächen möglich. Die verwendete Laserwellenlänge in Kombination mit der Laserleistung waren dabei wichtige Einflussfaktoren, denn die Übertragung von Mustergeometrien auf die Oberflächen von Pflanzenmaterial war an eine absorptionsabhängige Ausprägung von Wärmeeinflusszonen gebunden. Diese wiederum beeinflussten eine spätere Re-Identifizierung mittels Bildverarbeitung. Die begrenzte Erkennungsgüte der entwickelten Bildverarbeitungsverfahren basierte im Wesentlichen auf nicht standardisiertem Pflanzenmaterial und teils auf für einen hochwertigen Lasermarkierungsprozess ungünstigen Musterpositionierungen auf dem Pflanzenmaterial.

Ziel zukünftiger Arbeiten ist daher die Entwicklung eines adaptiven Lasermarkierungssystems, das mittels Bildverarbeitung eine optimale Lage einer Lasermarkierung für individuelle Produkte berücksichtigt. Entsprechend können Handhabungs- und Lasersystem gesteuert werden, um entweder das jeweilige Produkt im Bearbeitungsfeld zu positionieren oder mithilfe moderner 3D-Fokussieroptiken eine Markierung bei Fortbewegung der Pflanzen bzw. Pflanzenprodukte zu realisieren. Durch die

bildgestützte Erkennung der Pflanzenart können darüber hinaus spezifische Laserparametersätze (auf Basis von Grundlagenstudien erhobene Lerndaten) verwendet werden, sodass die Ausprägung der lasermarkierten Muster stets optimal für eine nachfolgende Re-Identifizierung in der Weiterverarbeitung ist.

Bei angepassten Lasermarkierungen sollte die automatisierte Erkennung ermöglicht und die Belastung des Gewebes aufgrund der genannten Folgen für das Pflanzenmaterial gering gehalten werden. Außerdem sollte der Konsument die Lasermarkierung nicht als störend empfinden. Das Ziel für die Anwendung sind daher schwache und somit nur bei bekannter Position detektierbare Markierungen. Daher könnte ein spektrometrisches Signal genutzt werden, um Hinweise auf die Position der relativ kleinen Lasermarkierung zu erhalten. Der Einsatz eines bildgebenden Fluorometers (Open FC 800-O/1010, Photon Systems Instruments spol. s r.o., Brno, Tschechien) wurde bereits getestet (Abb. 5.24).



**Abb. 5.24: Aufnahmen an zwei unterschiedlich lasermarkierten Äpfeln mithilfe eines Fluorometers; links: schwache Anregung aktinischen Lichts; rechts: lokale Fluoreszenz-Quantenausbeuten**

Eine stark vereinfachte Erläuterung zum messbaren Fluoreszenzsignal ist ein Unterschied in der Reaktion aktiver Pigmente auf spezielle Photonenanregungen (künstliche Belichtung bestimmter Energie und Intensität). Nach einer Dunkeladaption reagieren die Photosynthesekomplexe sensibel auf eine schwache Anregung, entsprechend wird der Großteil der Strahlungsenergie über die Photosysteme abgeleitet. Bei hochintensiver Anregung funktioniert dies nicht mehr, sodass die nicht verwertbare Energie in Form von Fluoreszenz abgegeben wird (Maxwell & Johnson, 2000). Schwache Laserbestrahlung führte zu einer lokalen Beeinflussung (bis letztlich zum Zellabtrag) der Chlorophyll-Aktivität und somit zu einer detektierbaren Abschwächung der Fluoreszenz. Sowohl die Strukturen eines 2D-Barcodes (Abb. 5.24, links) als auch die entwickelten Miniaturmarkierungen (Abb. 5.24, rechts, dunkelblaues Quadrat in der Bildmitte) wurden detektiert. In Kombination mit einem Kamerasystem im VIS Bereich könnte so die Re-Identifizierung der Lasermarkierungen vereinfacht werden.

Zur Vermeidung selbst minimaler Schädigungen an den Produktoberflächen wird derzeit in Kooperation zwischen dem Laser Zentrum Hannover und der Leibniz Universität Hannover ein Verfahren entwickelt, die Markierung mittels Ultrakurzpulslaser (800 nm Wellenlänge, 300 fs Pulsdauer, 15  $\mu$ J Pulsenergie, 10 kHz Repetitionsrate) ins Gewebe unterhalb der Epidermis einzubringen. Dies gelingt durch eine begrenzte Transmission durch die äußeren Zellschichten sowie eine spezielle Laserstrahlführung, mit der die Energiepulse nur im engbegrenzten Fokus wirksam werden. Die Markierungen konnten bereits mit Optischer Kohärenztomografie (Huang et al., 1991) re-identifiziert werden. Derzeit werden vergleichend mit oberflächlichen Lasermarkierungen Belastungstests mit gezielten Inokulationen durchgeführt. Erste Ergebnisse werden in Kürze veröffentlicht.

## 6 Fazit zum Einsatz von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion

Für den Einsatz von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion wurden die Kenntnisse zur Wirkung von Laserstrahlung auf biologisches Material erweitert und darüber hinaus grundlegende Parameter erforscht, die erfolgreiche Applikationen ermöglichen. Eine Übertragung von industriellen Lasertechnologien insbesondere bei der Nutzung von letaler Laserlichtwirkung auf Pflanzen und Pflanzenschädlinge sowie von nicht-letaler Laserlichtwirkung zur Markierung von Pflanzenprodukten wurde durchgeführt.

Die Wirkung von Laserbestrahlung auf unterschiedliche Unkrautarten und Wuchsstadien wurde erstmals in einem Schädigungsmodell abgebildet. Durch die Kombination mit Bildverarbeitungstechnologie wurde zudem eine hochgenaue Applikation ermöglicht, die erstmals eine selektive, thermische Bekämpfung von Unkraut in der Pflanzreihe erlaubt. Auch konnte die Wirkung von Laserstrahlung auf tierische Schädlinge (Blattläuse) für eine effektive Bekämpfung bei Schonung der Pflanzen genutzt werden. Darüber hinaus wurden mithilfe der nicht-letalen Laserbestrahlung von Pflanzenprodukten erstmals codierte, nicht schädigende Miniaturmarkierungen realisiert und mithilfe von Bildverarbeitungsalgorithmen re-identifiziert.

Nichtsdestotrotz ergeben sich Fragestellungen für zukünftige Untersuchungen in den genannten Bereichen. Für den Einsatz von Lasertechnik im Freilandanbau muss der Einfluss von externen Störfaktoren (bspw. Vibrationen, Wetter) auf die Arbeitsgeschwindigkeit eruiert werden, um weitere Applikationsgrenzwerte abzuleiten. Dabei müssen lasersicherheitstechnische Themen integriert werden, was insbesondere bei der Integration in autonome Systeme zu beachten ist. Weiterhin müssen die Erkenntnisse zur bildgestützten Laserstrahlpositionierung auf den Lasereinsatz zur Schädlingsbekämpfung übertragen werden, um eine automatisch selektive Applikation zu ermöglichen. Die Lasermarkierung von Pflanzenprodukten muss sowohl hinsichtlich des Lasermarkierungsprozesses durch kurzgepulste, punktuelle Laserbestrahlungen mit Anpassung der Laserstrahlleistung während des Markierungsprozesses in Abhängigkeit bildanalytisch erkannter Variationen der Pflanzenprodukte als auch durch adaptive Bildverarbeitungsalgorithmen zur Re-Identifikation optimiert werden.

Bei den durchgeführten Experimenten haben sich zudem verschiedene Effekte durch Laserbestrahlungen gezeigt, deren Erforschung über die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit hinausgeht. Mit Lasertechnik sind Mikroabtrags-, Mikroschneid- oder Mikrobohrverfahren von Pflanzenmaterial denkbar. Damit könnten gezielt physiologisch-physikalische Schädigungen auf vitalem Gewebe simuliert werden, um zum Beispiel den Einfluss von Mikrorissen auf die Entwicklung von Pflanzenkrankheiten (Apfelschorf auf norddeutschen Plantagen) zu untersuchen. Auch zeigten sich durch schwache Laserbestrahlung wuchsfördernde Effekte (so genannte Hormesis), was teilweise bekannt ist (Erhöhung der Samenfertilität von Ackerbohne (Podlesny et al., 2012) oder Raps (Mohammadi et al., 2012); Homogenisierung des Keimlingswachstums von Zierpflanzen (Danaila-Guidea et al., 2011) oder die gesteigerte Schwermetallaufnahme bei Gehölzstecklingen zur Bodenremediation (Jakubiak

und Sliwka, 2010). Die Stimulierung der Stecklingsbewurzelung von schwer bewurzelbaren Pflanzenarten sowie des Wachstums von Algen sollten jedoch noch erforscht werden.

Die hohe Präzision und die parametrisierbare Dosierung von Lasertechnologie bieten Vorteile, die in pflanzenbaulichen Produktionsprozessen genutzt werden können. Die stetige (Weiter-)Entwicklung von Laserstrahlquellen wird das Spektrum nutzbarer Laserwellenlängen erweitern sowie die Laserkosten mindern, um die Übertragung der Forschungsergebnisse in die Praxis zu ermöglichen.

## 7 Zusammenfassung

In der intensiven Pflanzenproduktion werden derzeit verschiedene, chemische Verfahren eingesetzt, deren Effektivität hoch ist, wobei direkte und indirekte Belastungen der Umgebung der Applikationsflächen auftreten. Alternative Verfahren auf Basis von mechanischen, thermischen, biotechnologischen oder biologischen Maßnahmen haben sich aufgrund geringerer Präzision sowie ungewollter Nebeneffekte auf Nicht-Ziel-Objekte nur teilweise durchgesetzt. Die vorliegende Arbeit befasst sich daher mit unterschiedlichen Bereichen des Einsatzes von Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion. Insbesondere die energetische Dosierbarkeit, die hohe räumliche Auflösung und die Geschwindigkeit einer Laserstrahlapplikation stellen die Vorteile von Lasertechnik heraus. Dabei wurden zwei wesentliche Effekte unterschieden. Einerseits wurde eine Schädigung des bestrahlten Gewebes mit ganzheitlich letaler Wirkung auf den Organismus untersucht. Dabei wurden Einflussgrößen auf eine effektive Wirkung sowie Möglichkeiten zur Umsetzung der grundlegenden Erkenntnisse an den Beispielen Unkraut- und Pflanzenschädlingsbekämpfung eruiert. Weiterhin wurde eine durch Laserbestrahlung möglichst unschädliche, aber nachweisbare Gewebeveränderung untersucht, die sich nur auf einen Teil des Organismus auswirkte. Dies wurde am Beispiel der Lasermarkierung vitaler Pflanzen und Pflanzenprodukte evaluiert.

Maßnahmen der Unkrautbekämpfung sind Teil eines langfristigen Unkrautmanagements, ohne das eine intensive Pflanzenproduktion nicht möglich ist. Die konventionelle Unkrautbekämpfung vor Kulturbeginn beruht auf mechanischen (Pflügen) und chemischen Verfahren (Herbizide). In der juvenilen Wuchsphase sind die Bekämpfungsmöglichkeiten innerhalb der Pflanzreihen jedoch meist auf Herbizidapplikationen beschränkt, da mechanische und thermische Alternativen zu unpräzise arbeiten und somit Ernteverluste verursachen. Der Einsatz von Lasertechnologie hatte daher zum Ziel, eine sowohl ortsaufgelöste als auch dosierbare Applikation und somit eine selektive Unkrautbekämpfung zu ermöglichen. Die letale Wirkung von Laserstrahlung auf juvenile Pflanzen wurde bei Einsatz unterschiedlicher Laserstrahlquellen belegt, wobei stark absorbierte und daher thermisch wirkende CO<sub>2</sub>-Laserstrahlung geeignet war. Durch die Modellierung der Schädigung in Abhängigkeit von Pflanzen- und Laserparametern konnten signifikant schädigende Laserenergien ermittelt werden (mindestens 125 J), die durch Bestimmung der auf möglichen Einsatzflächen bildanalytisch erfassten Unkrautsituationen zur individuellen Parametrisierung der Laserbestrahlungen genutzt werden konnten. Mit der Entwicklung eines Prototyps mit scannerbasierter Laserstrahlführung und automatischer Unkrauterfassung mittels eines validierten Bildverarbeitungsalgorithmus wurden die Applikationsgrenzwerte bezüglich Unkrautdichte und Bearbeitungsgeschwindigkeit ermittelt. Mit dem Prototyp wurde eine Applikationsgenauigkeit von 2 mm auch bei Unkrautdichten von 200 Pflanzen m<sup>-2</sup> erreicht. Daher wurde erstmals die selektive Bekämpfung von Unkrautpflanzen in der unmittelbaren und entscheidenden Umgebung von Kulturpflanzen ermöglicht.

Auch zur Schädlingsbekämpfung wurde der Einsatz von Lasertechnologie eruiert. Aufgrund einer begrenzten Zugänglichkeit von Blattläusen ist deren Bekämpfung besonders mit chemischen Pestiziden verbreitet. Alternativ können bereits angesiedelte Blattlauskolonien nur mit biologischen Wirkstoffen



oder durch Fressfeinde bekämpft werden. Der Einsatz von präziser Lasertechnik bietet Vorteile, die eine physikalische Bekämpfung ermöglichen. Daher war es das Ziel, eine bestgeeignete Laserwellenlänge zur letalen Schädigung von Blattläusen bei gleichzeitiger Schonung des Wirtspflanzenmaterials zu bestimmen. Mittels Spektroskopie wurde die größte Differenz zwischen der Absorption im Schädling und im Pflanzengewebe generell im Übergang vom VIS- zum NIR-Bereich und speziell bei  $\lambda = 740 \text{ nm}$  bestimmt. Eine sichere Bekämpfung gelang dabei in Abhängigkeit der Blattlausart bei Laserenergiedichten von 4 bis  $6 \text{ J mm}^{-2}$  bei  $\lambda = 1.064 \text{ nm}$  (Nd:YAG-Festkörperlaser, gepulst (5 kHz)). In der Literatur waren bislang langandauernde Laserbestrahlungen ( $> 2 \text{ s}$ ) von Schädlingen mit subletalen Effekte belegt, die zu einer Beeinträchtigung der Populationsentwicklung führten. Diesbezüglich notwendige Untersuchungen sind zusammen mit einer bildanalytischen Bestimmung der räumlichen Position einzelner Pflanzenschädlinge Teil zukünftiger Versuche bei Verwendung kurzer Applikationszeiten.

Als weiterer Einsatzbereich für Lasertechnologie in der Pflanzenproduktion wurde die schonende Markierung von Produktoberflächen identifiziert. In globalisierten Wertschöpfungsketten, in denen Qualitätstests und Zertifizierungen von Einzelprodukten (bspw. Test auf Freiheit von latenten Virusbelastungen von Lebensmitteln) zur Erhöhung der Produkt- und Produktionssicherheit stärkere Bedeutung erlangen, sind zuverlässige und vom Produkt untrennbare Lasermarkierungen notwendig. Da Lasersysteme zur gezielten, skalierbaren Oberflächenveränderung durch präzise Applikation von angepasster Laserenergie eingesetzt werden, war es das Ziel auch vitale Objekte unschädlich zu markieren und so eine Re-Identifikation mittels Bildverarbeitungsalgorithmen zu ermöglichen. In den Untersuchungen konnten die Einflussfaktoren Laserwellenlänge, Laserstrahlintensität, Laserstrahlprofil und Laserstrahlführung in Abhängigkeit des zu markierenden Pflanzenprodukts auf die Qualität eines bildanalytisch ausgewerteten Musters bestimmt werden. Dabei stellte sich  $\text{CO}_2$ -Laserstrahlung bei einer Intensität von maximal  $80 \text{ W mm}^{-2}$  als geeignet heraus. Das gaußsche Strahlprofil sowie die zeilenweise Laserstrahlführung ermöglichten dabei eine minimale Größe des markierten Musters von  $3 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ . Produktschädigungen wurden in Lager-, Kultivierungs- und Inokulationstests mit mikroskopischen und histologischen Verfahren untersucht, wobei das Ausmaß der Oberflächenschäden mit der applizierten Laserstrahlintensität korrelierte und bei angepassten Laserparametern nicht signifikant verschieden von einer Kontrollgruppe war. Mit der Entwicklung eines Bildverarbeitungsalgorithmus auf Basis von statistischer Diskriminanz zwischen lasermarkierter und unbehandelter Produktoberfläche sowie zweifacher Hough-Transformation konnte gezeigt werden, dass rückverfolgbare Markierungen möglich waren. Für eine Optimierung der Lesegüte (derzeit 50 %) ließe sich der Markierungsprozess hinsichtlich der Laserparameter verbessern indem gepulste Laserstrahlung mit gleichmäßiger Energieverteilung im Laserstrahlprofil verwendet wird.

In der vorliegenden Arbeit wurde somit anhand von unterschiedlichen Anwendungen der erfolgreiche Einsatz von Lasertechnologie in der hochintensiven Pflanzenproduktion belegt. Es wurden die Grundlagen zur Parametrisierung von Laserstrahlapplikationen geschaffen, mit denen ein effektiver Lasereinsatz bei Berücksichtigung unterschiedlicher Randbedingungen möglich ist.

## 8 Summary

In the intensive plant production different chemical treatments with high effectiveness are used, but also cause direct and indirect stress to the surrounding areas around the site of application. Alternative techniques on the basis of mechanical, thermal, biotechnological or biological measures only have partially been established due to minor precision as well as unwanted side effects on non-target objects. Therefore, the present studies deal with different areas of the application of laser technology in plant production. The energetic dosing, the high spatial definition and speed of a laser application are special advantages of the laser technique. Here, two main effects were distinguished. On the one hand side the effect of laser radiation on tissue with a subsequent systemic and lethal effect on the organism was investigated. The main influencing factors for an effective lethality as well as means to implement the findings were investigated on the examples of weed and pest control. Furthermore, a rather harmless but verifiable tissue change after laser irradiation was analyzed, which only affected parts of the treated organism. This was evaluated for laser markings of vital plants and plant products.

Weed control techniques are part of a long term weed management. Any intensive plant production is not possible without weed control. The conventional weed control prior to the beginning of the cultivation is based on mechanical (plowing) and chemical techniques (herbicides). In the juvenile growth stages of the crop the methods of control within the crop rows are limited to the application of chemicals, since mechanical and thermal alternatives work imprecisely and therefore cause crop losses. The use of laser technology aimed at a spatially defined and easily dosed application, leading to a selective weed control in the close surroundings of crops. The lethal effect of laser radiation on juvenile plants has been proven for different laser beam sources, where highly absorbed and hence thermally effective CO<sub>2</sub> laser radiation was most suitable. With the modeling of any lethal damage depending on plant and laser parameters, the significantly damaging laser doses could be determined (minimum 125 J per plant). These values were used with an individual adaptation of laser irradiations for any weed situation identified by image processing. The development of a prototype with a scanner-based laser beam guidance and automated weed detection using image processing algorithms validated led to the determination of application limit values concerning the weed density and the application speed. Using the prototype, an application accuracy of about 2 mm for weed densities about 200 plants m<sup>-2</sup> was achieved. Thus, a selective weed control in the important surroundings of crop was possible for the first time.

The use of laser technology was explored for pest control as well. The control of aphids is mostly based on the use of pesticides due to their limited accessibility. Already settled aphid colonies can only be alternatively controlled using biologically active substances or by the mass release of natural predators. The use of precise laser technique offers advantages, which allow for a physical pest control. Therefore, the objective was to determine the best suited laser wavelength to damage settled aphids, but not the host plants. The biggest spectral difference between the absorption in the pest body and the plant tissue was determined using spectroscopy for the transition area from VIS to

NIR and especially for  $\lambda = 740$  nm. A safe pest control succeeded depending on the aphid species at laser energy densities of 4 to 6 J mm<sup>-2</sup> at  $\lambda = 1.064$  nm (Nd:YAG solid state laser, pulsed at 5 kHz). Consulting the literature, only long-term irradiations (> 2 s) of pests with sub-lethal effects were known, which resulted in a negative impact on the population development. The necessary investigations for these effects as well as an image processing determination of the spatial position of single pests should be a part of future studies concerning short application times and single shot irradiations.

The marking of product surfaces was identified as another field of application for laser technology in plant production. In globalized value-added chains, where the importance of quality tests and certifications of single products is rising (such as tests on latent virus infection of foods), reliable and inseparable laser markings are needed. As laser systems are used for the targeted and scalable surface modification via precise applications of adapted laser energy, the objective was to mark vital objects in an as harmless as possible way to allow for a re-identification using image processing algorithms. The main factors laser wavelength, laser intensity, laser beam profile and laser beam guidance were determined which influence the quality of an imaging processed pattern depending on the marked plant product. Here, CO<sub>2</sub> laser radiation at intensities of 80 W mm<sup>-2</sup> turned out to be suited. The Gaussian beam profile and the line-by-line laser beam guidance allowed for a minimum size of the laser marked pattern of 3 mm x 3 mm. Product damages were investigated with storage, cultivation, and inoculation tests, where microscopic and histological methods were used. Hence, the extent of surface damages correlated with the applied laser intensity, while there was no significant difference to an untreated control group when using adapted laser parameters. The development of image processing algorithms on the basis of statistical discriminant analyses between laser marked and untreated product surfaces as well as a double Hough transform showed that traceable markings were possible. An optimization of the detection rate (up to 50 % now) could be achieved by improving the marking process in regard of laser parameters such as pulsed laser irradiation with a regular energy distribution across the laser beam profile.

This thesis demonstrated the successful use of laser technology for high-intensity plant production on the basis of different applications. A fundamental parameterization of laser applications was achieved, which can be used for an effective use of laser techniques in consideration of various boundary conditions.

## 9 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Thomas Rath danke ich herzlichst für die freundliche Betreuung und stets konstruktive Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit. Thomas war mir mit seiner wissenschaftlichen Neugierde, seiner Art neue Themen anzugehen und seinem Drang diese umzusetzen, ein wahrer Doktorvater und ein Vorbild fürs Leben. Auch in der Lehre habe ich so Vieles von ihm lernen dürfen. Danke vielmals.

Herrn Prof. Dr.-Ing. Ludger Overmeyer, Herrn Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. E.h. Dr. med. h.c. Heinz Haferkamp und Herrn Prof. Dr.-Ing. Stephan Barcikowski danke ich für die Impulse und wissenschaftliche Betreuung bei der Erforschung der Themenschwerpunkte dieser Arbeit.

Herrn Dr. Michael Hustedt und Herrn Dr.-Ing. Stefan Kaierle, Laser Zentrum Hannover e.V., Abteilung Werkstoff- und Prozesstechnik danke ich für die unermüdliche und direkte Unterstützung. Ich habe mich unschätzbar gefreut, dass meine „exotischen“ Themen nicht untergegangen sind und immer wieder in den Vordergrund gerückt wurden.

Ohne die maßgebliche Unterstützung von Dr. Julio Pastrana und seine unfassbaren Kenntnisse in den Bereichen Bildverarbeitung und Automatisierung wären einige Teile dieser Arbeit nicht möglich gewesen. *Te lo agradezco mil veces*. Gleiches sende ich auch an Manuel Romero.

Mein Dank gilt den lieben Kollegen der Abteilung Biosystemtechnik, ohne deren Diskussionsbeiträge die Arbeit sicher langsamer vorangegangen wäre. Zu meiner Zeit waren und sind dies: Gökhan Akyazi, Johannes Bialon, Thorsten Bornwaßer, Felix Eyahanyo, Kerstin Geidel, Sandra M. Haase, Anne Kersebaum, Klaus Knösel, Frederik Langner, Sebastian Menke, Erick Ronoh, Abdel Samak, Boris Selsemeier, Hans-Jürgen Tantau, Burkhard von Elsner, Christian von Zabeltitz, Solveig Wilshusen und Serge Zagermann. Gleiches gilt für die lieben Kollegen der Gruppe Sicherheitstechnik am Laser Zentrum Hannover: Christian Hennigs und Jürgen Walter sowie die Abteilung WP.

Mein besonderer Dank gilt meinem Bürokollegen Holger Hoffmann, dessen wissenschaftliche Ausdauer und Präzision ich äußerst schätze, sowie meiner Kollegin Stefanie Grade für die intensive Hilfe zur Korrektur der Arbeit. Auch die Hilfe der technischen Mitarbeiter war von unschätzbarem Wert. Dank an Euch: Thomas Bauche, Norbert Grisat, Werner Hock, Andreas Meyer und Matthias Schrader. Des Weiteren danke ich Heiderose Hoja, Tobias Kiesow und Christoph Bohlius, die mit ihren Studienarbeiten an der Leibniz Universität Hannover zu dieser Dissertation beitrugen.

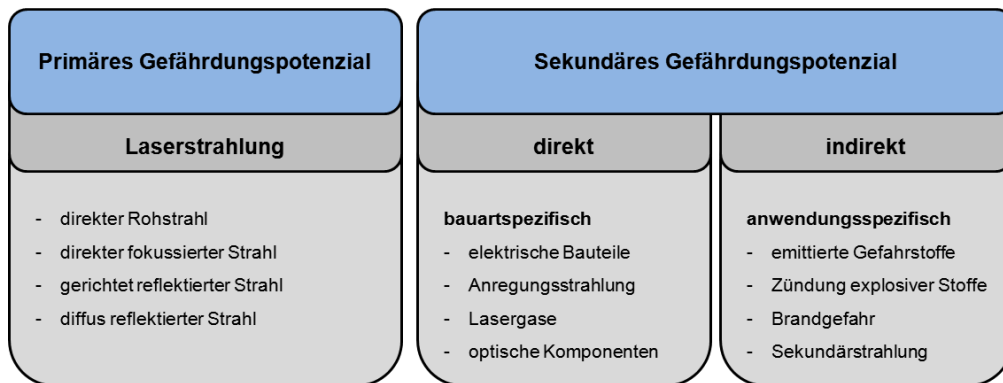
Neben der fachlichen Unterstützung durch Kollegen und Mitarbeiter bin ich für die ausdauernde Motivation und Geduld meiner Familie sehr dankbar. Danke Papa, danke Mama, dass Ihr mich so interessiert aufgezogen und mir meine Studien ermöglicht habt. Ohne Euch wäre dies alles nicht möglich gewesen. Danke Brüder, ihr seid immer an meiner Seite.

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie dem WeGa-Kompetenznetz Gartenbau (BMBF AgroClustEr) für die finanzielle Förderung der Projekte.

## 10 Anhang

### 10.1 Anmerkungen zur Lasersicherheit

Der Umgang mit Laserstrahlung birgt generell Gefahren für die unmittelbare Umgebung. Es werden primäre und sekundäre Gefährdungspotenziale unterschieden (Abb. 10.1).



**Abb. 10.1: Gefährdungspotenziale beim Umgang mit Laserstrahlung  
(verändert nach: LZH Laser Akademie GmbH Hannover, Thomas Püster, 2012)**

Das primäre Gefährdungspotenzial ist die Laserstrahlung selbst, wenn der Normalbetrieb gestört ist. Dies kann bspw. bei Beschädigung oder Fehlen optischer Elemente wie Umlenkspiegeln oder Lichtleitfasern auftreten. Der Laserstrahl wird dann nicht mehr entlang des planmäßigen Strahlengangs geführt, sodass er vagabundiert. Der Strahl kann auch durch störende/reflektierende Gegenstände im Strahlengang abgelenkt werden. In beiden Fällen besteht Gefahr für die Umgebung, da sowohl Menschen als auch sensible Materialien geschädigt werden können. Der Grad der Gefährdung ist dabei abhängig von der Intensität der Strahlung (vgl. OStrV, 2010 und BGV B2, 1997).

Das sekundäre Gefährdungspotenzial umfasst sowohl direkte, also bauartspezifische, als auch indirekte, also anwendungsspezifische, Gefährdungen. Bauartspezifische Gefährdungen basieren auf dem verwendeten Lasersystem (Klassifizierung nach DIN EN 60825-1), in dem zur Erzeugung der Laserstrahlung unterschiedliche Komponenten verbaut sind. Bei Beschädigung von Gehäusen oder Behältern besteht die Gefahr, dass die Umgebung in direkten Kontakt mit elektrischen Bauteilen oder Lasermedien (darunter auch hochgiftige, halogenierte Lasergase z.B. bei Excimer-Lasern) gerät. Im planmäßigen Laserprozess treten anwendungsspezifische Gefährdungen auf. Bei der Laserbestrahlung von Materialien wirken in Abhängigkeit von der Laserleistung pyrolytische Prozesse. Dadurch werden gas- und partikelförmige Nebenprodukte erzeugt. Letztere werden als Feinstäube und Aerosole aus der Prozesszone emittiert. Die Belastung ist dann bestimmt durch die Immissionen, die in den Arbeitsbereich eingetragen werden, wobei z.B. die Lungengängigkeit der Partikel ein wichtiger Bewertungsfaktor ist. Nach Messung im Abgasstrom können eine Partikelgrößenverteilung der Nebenprodukte sowie eine Bestimmung der pyrolytisch erzeugten Verbindungen Aufschluss über dieses Gefährdungspotenzial geben. Dementsprechend sind stationäre Filteranlagen sowie persönliche Schutzausrüstung (Maskenfilter) vorzusehen. Bei der Bestrahlung von pflanzlichen

Materialien ist der Hauptbestandteil der Emissionen Wasserdampf. Zudem werden die vorhandenen Kohlenstoffpolymere (bspw. Zellulose u.a. in den Zellwänden) thermisch gecrackt und maßgeblich mit Luftsauerstoff zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O oxidiert. Die Emissionen bei der Laserbestrahlung von gartenbaulichen Produkten sind daher als weitestgehend ungefährlich zu erachten.

Hinsichtlich des Arbeitsschutzes ist die Lasersicherheit rechtlich in verschiedenen Gesetzen, Richtlinien, Verordnungen und Vorschriften geregelt. Daraus leiten sich folgende Maßnahmen ab:

- Gefährdungsanalyse nach EU Richtlinie 89/392 EWG, DIN EN ISO 12100, DIN EN ISO 11553-1, ArbSchG § 5, BetrSichV § 3, GefStoffV § 7 und BetrVG § 81.
- Einhaltung der Expositionsgrenzwerte nach der EU Richtlinie 2006/25/EG und OStrV § 6: Strahlungsgrenzwerte werden in eine maximal zulässige Bestrahlung (MZB) (Haut und Auge) und in Grenzwerte zugänglicher Strahlung (GZS) unterschieden (siehe auch EU Richtlinie 2006/42/EG und abgeleitet daraus DIN EN 60825-1, DIN EN ISO 11553-1 sowie allgemein OStrV).
- Umgang mit Laserstrahlung nach Unfallverhütungsvorschrift OStrV und BGV B2 (bald abgelöst durch TROS Laser), DIN EN 207 und DIN EN 208 für Laserschutzfilter und -brillen sowie DIN EN 12254 und DIN EN 60825-4 für Abschirmungen und Laserschutzwände.
- Ausbildung und Benennung eines Laserschutzbeauftragten nach OStrV § 5 zu den Themen physikalisch-technische Grundlagen sowie biologische Wirkung von Laserstrahlung, Lasersicherheit und -schutz, Gefahrstoffe und Schutzmaßnahmen sowie rechtliche Grundlagen.
- Wiederholte Sicherheitsunterweisungen nach ArbSchG § 12 und § 14 sowie BetrVG § 81 und entsprechende Aus-/Fortbildung nach SGB VII § 23.

Der Laserbearbeitungsprozess selbst wird nach dem TOP-Prinzip (technisch, organisatorisch, persönlich) abgesichert, das sich aus obigen Vorschriften ableiten lässt. Bei der technischen Absicherung müssen zunächst alle technischen Möglichkeiten ausgeschöpft werden, um das Lasersystem und die Laserbearbeitungszone so sicher wie möglich zu konstruieren. Das Lasersystem darf nur über Schlüsselschalter in Betrieb genommen werden. Laserstrahl-Austrittsöffnungen aus Gehäusen müssen eindeutig gekennzeichnet werden. Alle sicherheitsrelevanten Bauteile (bspw. Bedienelemente, Gates, Positionsendschalter, Türverriegelungen, Umlenkspiegelkühlung, Not-Aus-Schalter) müssen redundant in eine Sicherheitssteuerung eingebunden werden, um auch bei Ausfall von einzelnen Bauteilen oder Baugruppen die Sicherheit der Anlage zu gewährleisten. Ein Störfall sollte demnach schnellstmöglich zur Abschaltung des Lasers führen. Zur Absicherung der Gefahr bei fehlenden Werkstücken oder Strahlführungselementen müssen Strahlfallen vorgesehen werden, die die Laserstrahlung ortsnah absorbieren und somit unkontrolliert vagabundierende Laserstrahlung verhindern. Bei vertikaler Strahlführung kann auch die Bodenoberfläche als Strahlfalle genutzt werden. In Abhängigkeit von der Laserwellenlänge muss der Bereich der zugänglichen Laserstrahlung durch eine geeignete Einhausung begrenzt werden. Während bspw. Laserstrahlung der Wellenlänge 10.600 nm (CO<sub>2</sub>-Laser) gut in lichttransparenten Materialien (bspw. PMMA bei 4 mm Wandstärke) absorbiert wird, transmittieren Laserwellenlängen im NIR (bspw. Dioden- oder Nd:YAG-Laserstrahlung) gut durch Kunststoffe, so dass hier Metallwände eingesetzt werden müssen.

Die organisatorische Absicherung greift, sobald der Laserbearbeitungsbereich nicht weiter durch technische Maßnahmen abgesichert werden kann. Dazu kann zunächst die zugelassene Nutzergruppe eingeschränkt werden. Auch kann die Zugangsberechtigung in den Bearbeitungsbereich begrenzt werden. Mit Hinweisschildern muss von außerhalb des Bearbeitungsbereichs auf das verwendete Lasersystem und seine Spezifikationen hingewiesen werden (Wellenlänge, Leistung, Betriebsart). Im Betrieb aktivierte Warnleuchten sowohl innerhalb als auch außen an der Bereichsabschirmung müssen „Vorsicht Laserstrahlung“ anzeigen. Mitarbeiter müssen auf die aktuelle Gefährdung hingewiesen werden und können erst nach Rücksprache und Anlegen der erforderlichen Schutzausrüstung hinzutreten. Wenn auch durch organisatorische Maßnahmen nicht vermieden werden kann, dass Nutzer eines Lasersystems mit der Laserstrahlung in Kontakt kommen könnten, muss persönliche Schutzausrüstung getragen werden. Die Laserstrahlung kann Schäden an Auge und Haut verursachen. Da durch das optische Element der Augenlinse die Netzhaut auch bei kleinen Intensitäten und Bestrahlungsdauern geschädigt werden kann, müssen vorwiegend angepasste Laserschutzbrillen getragen werden. Dies ist insbesondere beim Einrichtungs- und Wartungsbetrieb von Bedeutung. Weitere Schutzausrüstungen sind Laserschutzhandschuhe oder Maskenfilter bei auftretenden Emissionen aus der Bearbeitungszone.

Bei Einhaltung der genannten Sicherheitsmaßnahmen ist die Lasersicherheit der Lasersysteme im Grundsatz gegeben. Für jede Anlage ist nach den individuellen Gegebenheiten eine detaillierte Risikoanalyse und Gefährdungsbeurteilung sowie eine daraus abgeleitete Betriebsanweisung zu erarbeiten. Zudem ist eine Anmeldung des jeweiligen Lasersystems beim zuständigen Gewerbeaufsichtsamt sowie der Berufsgenossenschaft erforderlich. Die erläuterten Lasersicherheitsmaßnahmen wurden für die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche und Anwendungen stets eingehalten.

## 10.2 Programmcode zur Erkennung von Lasermarkierungen auf Pflanzen

```

1  # Namen der Bilddateien in namen.txt schreiben
2  # ins entsprechende Verzeichnis wechseln, dann:
3  dir *.jpg /b >> namen.txt
4  *****
5  * HDEVELOP *
6  *****
7  ## Bild einlesen und manuell Hintergrund/Laserbereiche klassifizieren
8  dev_close_window ()
9  folder0:= 'F:/diss/laser marker/nummer/folge2/'
10 folder1:= 'F:/diss/laser marker/nummer/folge2/rgb_txt/'
11 filer:='namen.txt'
12 folder0_filer:=folder0+filer
13 open_file (folder0_filer, 'input', FileHandle0)
14 IsEOF:=0
15 while(IsEOF=0)
16 fread_line (FileHandle0, imgname, IsEOF)
17 tuple_strstr (imgname, '\n', Position)
18 tuple_str_first_n (imgname, Position-1, imgname1)
19 imgname2:=folder0+imgname1
20 ****
21 read_image (Image1, imgname2)
22 get_image_pointer1 (Image1, ptr1, type1, width1, height1)
23 width2_fac := 1
24 *width2_fac := 100.0/width1
25 zoom_image_factor (Image1, Image2, width2_fac, width2_fac, 'constant')
26 access_channel (Image2, Image2R, 1)
27 access_channel (Image2, Image2G, 2)
28 access_channel (Image2, Image2B, 3)
29 get_image_pointer1 (Image2R, Pointer2R, Type2R, Width2R, Height2R)
30 get_image_pointer1 (Image2G, Pointer2G, Type2G, Width2G, Height2B)
31 get_image_pointer1 (Image2B, Pointer2B, Type2B, Width2B, Height2G)
32 dev_open_window_fit_image (Image2, 0, 0, -1, -1, WindowHandle1)
33 get_image_pointer1 (Image2, Pointer2, Type2, Width2, Height2)
34 dev_display (Image2)
35 disp_message (WindowHandle1, 'Bitte 10 Hintergrundpunkte auswaehlen', 'window', 0,
36 0, 'blue', 'true')
37 disp_message (WindowHandle1, 'mit Linksklick auswaehlen, mit Rechtsklick
38 bestaetigen', 'window', 375, 220, 'blue', 'true')
39 sizeRec:=5
40 create_matrix (sizeRec*sizeRec*10, 3, 0, H_RGBs)
41 for i := 0 to 9 by 1
42 draw_point (WindowHandle1, drawRow, drawCol)
43 dev_set_color ('blue')
44 gen_rectangle2 (rect1, drawRow, drawCol, 0, sizeRec, sizeRec)
45 dev_update_window ('off')
46 row := int(drawRow)
47 col := int(drawCol)
48 a:=0
49 for k:=-2 to 2 by 1
50 b:=0
51 for l:=-2 to 2 by 1
52 get_grayval (Image2R, row+k, col+l, R)
53 set_value_matrix (H_RGBs, i*25+a*5+b, 0, R)
54 get_grayval (Image2G, row+k, col+l, G)
55 set_value_matrix (H_RGBs, i*25+a*5+b, 1, G)
56 get_grayval (Image2B, row+k, col+l, B)
57 set_value_matrix (H_RGBs, i*25+a*5+b, 2, B)
58 b:=b+1
59 endfor
60 a:=a+1
61 endfor
62 dev_update_window ('on')
63 endfor
64 disp_message (WindowHandle1, 'Bitte 10 Markierflächenpunkte auswählen', 'window',
65 0, 0, 'red', 'true')
66 disp_message (WindowHandle1, 'mit Linksklick auswählen, mit Rechtsklick
67 bestaetigen', 'window', 375, 220, 'red', 'true')

```



```

68 create_matrix (sizeRec*sizeRec*10, 3, 0, L_RGBs)
69 for i := 0 to 9 by 1
70   draw_point (WindowHandle1, drawRow, drawCol)
71   dev_set_color ('red')
72   gen_rectangle2 (rec1, drawRow, drawCol, 0, 5, 5)
73   dev_update_window ('off')
74   row := int(drawRow)
75   col := int(drawCol)
76   a:=0
77   for k:=-2 to 2 by 1
78     b:=0
79     for l:=-2 to 2 by 1
80       get_grayval (Image2R,row+k, col+l, R)
81       set_value_matrix (L_RGBs, i*25+a*5+b,0,R)
82       get_grayval (Image2G,row+k, col+l, G)
83       set_value_matrix (L_RGBs, i*25+a*5+b,1,G)
84       get_grayval (Image2B,row+k, col+l, B)
85       set_value_matrix (L_RGBs, i*25+a*5+b,2,B)
86       b:=b+1
87     endfor
88     a:=a+1
89   endfor
90   dev_update_window ('on')
91 endfor
92 ## Abspeichern der RGB-Werte in eine externe Datei
93 tuple_strstr (imgname1, '.jpg', Position1)
94 *tuple_strstr (imgname1, '.tif', Position1)
95 tuple_str_first n (imgname1, Position1-1, imgname3)
96 folder1_filer:=folder1+'RGB_'+imgname3+'.txt'
97 open_file (folder1_filer, 'output', FileHandle)
98 for m := 0 to sizeRec*sizeRec*10-1 by 1
99   fwrite_string (FileHandle, 'H ')
100   for n := 0 to 2 by 1
101     get_value_matrix (H_RGBs, m, n, value)
102     fwrite_string (FileHandle, value)
103     fwrite_string (FileHandle, ' ')
104   endfor
105   fnew_line (FileHandle)
106 endfor
107 for o := 0 to sizeRec*sizeRec*10-1 by 1
108   fwrite_string (FileHandle, 'L ')
109   for p := 0 to 2 by 1
110     get_value_matrix (L_RGBs, o, p, value)
111     fwrite_string (FileHandle, value)
112     fwrite_string (FileHandle, ' ')
113   endfor
114   fnew_line (FileHandle)
115 endfor
116 close_file (FileHandle)
117 dev_close_window ()
118 endwhile
119 stop()
120 #####
121 # Dateinamen mit RGB Werten in neue txt-Datei schreiben
122 # ins entsprechende Verzeichnis wechseln, dann:
123 dir *.txt /b >> namen2.txt
124 #####
125 # R #
126 #####
127 # Diskrimanzfaktoren bestimmen anhand der eingelesenen RGB-Werte
128 library(RODBC)
129 library(Linda)
130 library(MASS)
131 setwd("F:/diss/laser marker/nummer/folge2/rgb_txt/")
132 filer1<-"namen2.txt"
133 #filer1<- "RGB_ahorn_05W_5.txt"
134 filer2<-read.table(filer1,sep="")
135 filer3<-as.character(filer2$V1)
136 #numb = die Anzahl der Dateien, die in namen2.txt aufgefuehrt sind
137 numb <- length(filer2$V1)

```

```

138 filer4 <- rep("diskr_",times=numb)
139 filer5 <- data.frame("1"=filer3,"2"=paste(filer4,filer3,sep=""))
140 i=1
141 for (i in 1:numb)
142 {
143   dat <- read.table(filer3[i],sep="")
144   func1 <- lda(dat[2:4],dat[,1])
145   func2 <- lda(dat[2:4],dat[,1],CV=TRUE)
146   b1 <- func1$scaling[1,1]
147   b2 <- func1$scaling[2,1]
148   b3 <- func1$scaling[3,1]
149   b0 <- -
150   (b1*mean(c(func1$means[1,1],func1$means[2,1]))+b2*mean(c(func1$means[1,2],func1$mea
151 ns[2,2]))+b3*mean(c(func1$means[1,3],func1$means[2,3])))
152   dis <- c(b0,b1,b2,b3)
153   pred <- predict(func1,dat[2:4])$x
154   #pdf("diskriminanz.pdf", onefile=TRUE,height=7, width=7, pointsize=12)
155   #plot(pred)
156   #abline(h=0,col="red")
157   #dev.off()
158   output <- as.character(filer5[i,2])
159   write.table(dis, output, sep=" ",row.names=FALSE, col.names=FALSE)
160 }
161 #####
162 # Dateinamen der Diskriminanzwerte in neue txt Datei schreiben
163 dir *.txt /b >>namen3.txt
164 *****
165 * HDEVELOP *
166 *****
167 *# Diskriminanzbild erstellen mit fertigen Diskriminanzwerten aus R
168 *# Einkanalbilder multiplizieren (Bildtyp 'real') --> Alternative:
169 linear_trans_color
170 folder0:= 'F:/diss/laser marker/nummer/folge2/'
171 folder1:= 'F:/diss/laser marker/nummer/folge2/rgb_txt/'
172 filer1:='namen3.txt'
173 folder1_filer1:=folder1+filer1
174 filer2:='namen.txt'
175 folder0_filer2:=folder0+filer2
176 open_file (folder1_filer1, 'input', FileHandle0)
177 open_file (folder0_filer2, 'input', FileHandle1)
178 IsEOF0:=0
179 while(IsEOF0=0)
180 fread_line (FileHandle0, diskname, IsEOF0)
181 tuple_strstr (diskname, '\n', Position)
182 tuple_str_first_n (diskname, Position-1, diskname1)
183 diskname2:=folder1+diskname1
184 open_file (diskname2, 'input', FileHandle2)
185 fread_line (FileHandle2, b0str, IsEOF)
186 fread_line (FileHandle2, b1str, IsEOF)
187 fread_line (FileHandle2, b2str, IsEOF)
188 fread_line (FileHandle2, b3str, IsEOF)
189 tuple_str_first_n (b0str, 10, b0str2)
190 tuple_str_first_n (b1str, 10, b1str2)
191 tuple_str_first_n (b2str, 10, b2str2)
192 tuple_str_first_n (b3str, 10, b3str2)
193 tuple_number (b0str2, b0)
194 tuple_number (b1str2, b1)
195 tuple_number (b2str2, b2)
196 tuple_number (b3str2, b3)
197 dev_close_window ()
198 fread_line (FileHandle1, imgname, IsEOF)
199 tuple_strstr (imgname, '\n', Position)
200 tuple_str_first_n (imgname, Position-1, imgname1)
201 imgname2:=folder0+imgname1
202 read_image (Image1, imgname2)
203 convert_image_type (Image1, Image1conv, 'real')
204 get_image_pointer1 (Image1conv, Pointer, Type, Width, Height)
205 access_channel (Image1conv, Image2R, 1)
206 access_channel (Image1conv, Image2G, 2)
207 access_channel (Image1conv, Image2B, 3)

```

```

208 gen_image_const (Image3, 'real', Width, Height)
209 add_image (Image3, Image3, Image3conv, 1, 1)
210 get_image_pointer1 (Image3conv, Pointer2, Type2, Width2, Height2)
211 access_channel (Image3conv, Image3R, 1)
212 ##access_channel (Image3conv, Image3G, 2)
213 ##access_channel (Image3conv, Image3B, 3)
214 mult_image (Image3R, Image3R, Image5, b0, 0)
215 mult_image (Image2R, Image3R, Image4R, b1, 0)
216 mult_image (Image2G, Image3R, Image4G, b2, 0)
217 mult_image (Image2B, Image3R, Image4B, b3, 0)
218 add_image (Image5, Image4R, Image6, 1, 0)
219 add_image (Image6, Image4G, Image7, 1, 0)
220 add_image (Image7, Image4B, Image8, 1, 0)
221 threshold (Image8, Region, 0, 255)
222 dev_open_window_fit_image (Image8, 0, 0, -1, -1, WindowHandle1)
223 dev_display (Region)
224 dump_window (WindowHandle1, 'jpeg 100', imgname2+'_dneu.jpg')
225 dev_close_window ()
226 close_file (FileHandle2)
227 endwhile
228 stop ()
229 #####
230 ## Namen der Diskriminanzbilder in txt-Datei schreiben (DOS Prompt)
231 dir *.jpg /b >> namen4.txt
232 ## Erkennung mittels Hough-Transformation
233 dev_close_window ()
234 folderX:= 'F:/diss/laser marker/nummer/folge1/diskr_jpg/'
235 filerX:='namen4.txt'
236 folderX_filerX:=folderX+filerX
237 open_file (folderX_filerX, 'input', FileHandleX)
238 IsEOF:=0
239 while (IsEOF=0)
240 fread_line (FileHandleX, ImgName, IsEOFX)
241 tuple_strstr (ImgName, '\n', Position)
242 tuple_str_first_n (ImgName, Position-1, ImgName1)
243 folderX_ImgName:=folderX+ImgName1
244 read_image (Image, folderX_ImgName)
245 get_image_pointer1 (Image, Pointer, Type, Width, Height)
246 dev_open_window (0, 0, Width, Height, 'black', WindowHandle1)
247 dev_display (Image)
248 access_channel (Image, ImageTemp, 1)
249 ## Farbkanal kann entscheidend sein
250 threshold (ImageTemp, RegionTemp, 225, 255)
251 ## threshold values immer überprüfen
252 connection (RegionTemp, ConnectTemp)
253 select_shape (ConnectTemp, Region, ['row', 'column'], 'and', [Height/2-
254 Height/3, Width/2-Width/3], [Height/2+Height/3, Width/2+Width/3])
255 ## Auswahl des zentralen Bildbereichs, evtl. anpassen
256 ##erosion_rectangle1 (Region, Region, 1.5, 1.5)
257 gen_rectangle1 (erosionRec, 0, 0, 1, 1)
258 erosion1 (Region, erosionRec, Region, 7)
259 ## misklassifizierte Randbereiche ausschließen
260 gen_rectangle2_contour_xld (Rec, Height/2, Width/2, 0, (Width-2)/2, (Height-2)/2)
261 gen_region_contour_xld (Rec, Reg1, 'margin')
262 union2 (Region, Reg1, Reg2)
263 connection (Reg2, Reg3)
264 select_shape (Reg3, Reg4, 'area', 'and', 75, Width*Height)
265 ## grenzflächengröße abhängig von Bildgröße
266 area_center (Reg4, A4a, R4, C4)
267 area_holes (Reg4, A4b)
268 A4c:=A4a+A4b
269 tuple_sort_index (A4c, I1)
270 tuple_inverse (I1, I2)
271 tuple_last_n (I2, 1, I3)
272 I4:=I3+1
273 select_obj (Reg4, Reg5, I4)
274 ## verbliebene Musterflächen auswählen und einmal Dilation
275 connection (Reg5, ConnectedRegions)
276 fill_up (ConnectedRegions, RegionFillUp1)
277 area_center (RegionFillUp1, Area4, Row4, Column4)

```

```

278 select_shape (RegionFillUp1, SelectedRegions, 'area', 'and', 25,
279 0.2*Width[0]*Height[0])
280 ## auch hier Grenzflächengröße beachten
281 area_center(SelectedRegions,Area5,Row5,Column5)
282 union1(SelectedRegions,RegionUnion3)
283 gen_rectangle1(Rectangle,0,0,1,1)
284 dilation1(RegionUnion3,Rectangle,RegionDilation,2)
285 fill_up(RegionDilation, RegionFillUp2)
286 ## Rotation der Region
287 area_center(RegionFillUp2,AreaFU2,RowFU2,ColumnFU2)
288 smallest_circle(RegionFillUp2,RowCirc,ColCirc,RadCirc)
289 smallest_rectangle2 (RegionFillUp2,Row,Column,Phi,Length1,Length2)
290 rotAngle:=90*rad(180)/180-Phi
291 hom_mat2d_identity (MatId)
292 hom_mat2d_rotate (MatId, rotAngle,RowCirc,ColCirc,MatRot)
293 affine_trans_region (RegionFillUp2,RegionRot, MatRot, 'false')
294 dev_set_colored(12)
295 connection (RegionRot, ConRegions2)
296 area_center(ConRegions2,AreaCon2,RowCon2,ColumnCon2)
297 tuple_sort_index(AreaCon2,IndAreaCon2)
298 tuple_inverse(IndAreaCon2,IndAreaCon2inv)
299 if (RowCon2[IndAreaCon2inv[0]]<RowFU2)
300     if(ColumnCon2[IndAreaCon2inv[0]]<ColumnFU2)
301         rotAngle2:=-90*rad(180)/180
302     else
303         rotAngle2:=0
304     endif
305 else
306     if(ColumnCon2[IndAreaCon2inv[0]]<ColumnFU2)
307         rotAngle2:=-180*rad(180)/180
308     else
309         rotAngle2:=-270*rad(180)/180
310     endif
311 endif
312 hom_mat2d_rotate (MatId,rotAngle2,RowCirc,ColCirc,MatRot2)
313 affine_trans_region (RegionRot,RegionRot2,MatRot2,'false')
314 ## Kantendetektion mit Sobel-Operator, zuvor zeichnen auf weißem Hintergrund
315 folderX_blank:=folderX+'blankwhite.jpg'
316 ##folderX_blank:=folderX+'blankwhite.jpg'
317 ##read_image (Image1, folderX_blank)
318 gen_image_gray_ramp (Image1, 0, 0, 255, Height/2, Width/2, Width, Height)
319 ## hier wird das weiße Hintergrundbild gleicher Größe geladen
320 paint_region (RegionRot2, Image1, ImageResult, [0,0,0], 'fill')
321 sobel_dir(ImageResult, EdgeAmplitude, EdgeDirection,'sum_abs',3)
322 dev_set_color ('black')
323 threshold(EdgeAmplitude,Region1,20,255)
324 dev_set_colored (12)
325 reduce_domain(EdgeDirection,Region1,ImageReduced)
326 ## Hough-Transformation anwenden (mind. 10 Punkte in Reihe)
327 hough_lines_dir(ImageReduced,HoughImage,Lines,2,1,'mean',3,10,5,5,'true',Angle,Dist
328 )
329 ## Auswahl aller nahezu waagerechten und senkrechten --> wichtig Bildrotation im
330 Vorfeld evtl. notwendig
331 sort_pairs(Angle,Dist,'1',Sorted1,Sorted2)
332 tuple_length (Sorted1, Length_Sorted1)
333 a:=0
334 i:=0
335 for i:=0 to Length_Sorted1-1 by 1
336     if (Sorted1[i]>0)
337         if(Sorted1[i]<0.1)
338             a[i]:=1
339         else
340             a[i]:=0
341         endif
342     else
343         a[i]:=0
344     endif
345     if (Sorted1[i]>1.5)
346         if(Sorted1[i]<1.6)
347             a[i]:=1

```

```

348         endif
349     endif
350 endfor
351 tuple_sum (a, a_Sum)
352 sort_pairs(a, Sorted1, '1', a_1, Sorted1v1)
353 sort_pairs(a, Sorted2, '1', a_2, Sorted2v1)
354 tuple_last_n (Sorted1v1, Length_Sorted1-a_Sum, Selected1)
355 tuple_last_n (Sorted2v1, Length_Sorted1-a_Sum, Selected2)
356 ## Hough-Linien einzeichnen und einmal Dilation, um ein richtiges Gitter zu
357 bekommen
358 gen_region_hline(Regions, Selected1, Selected2)
359 dilation1(Regions, Rectangle, RegionDilation0, 2)
360 ## Musterrandbereich vom Innenbereich trennen --> Orientierungsfindung
361 union1(Regions, RegionUnion4)
362 dilation1(RegionUnion4, Rectangle, RegionDilation1, 11)
363 ## Anzahl Iterationsschritte beeinflusst die Erkennung des zentralen Vierecks
364 innerhalb der sich schneidenden Houghlinien
365 fill_up(RegionDilation1, RegionFillUp3)
366 difference(RegionFillUp3, RegionDilation1, RegionDifference1)
367 area_center(RegionDifference1, Area7, Row7, Column7)
368 smallest_rectangle1(RegionDifference1, Row14, Column14, Row24, Column24)
369 gen_rectangle1(Rectangle1, Row14, Column14, Row24, Column24)
370 area_center(Rectangle1, Area8, Row8, Column8)
371 zoom_region(Rectangle1, RegionZoom1, 0.85, 0.85)
372 area_center(RegionZoom1, Area10, Row10, Column10)
373 move_region(RegionZoom1, RegionMoved2, Row8-Row10, Column8-Column10)
374 connection(RegionDifference1, ConnectedRegions1)
375 area_center(ConnectedRegions1, Area6, Row6, Column6)
376 select_shape(ConnectedRegions1, SelectedRegions1, 'area', 'and', 0.0001*Width[0]*Height
377 [0], 99999)
378 ## Auswahl der Randbereiche
379 difference(SelectedRegions1, RegionMoved2, RegionDifference2)
380 connection(RegionDifference2, ConnectedRegion2)
381 area_center(ConnectedRegion2, Area9, Row9, Column9)
382 select_shape(ConnectedRegion2, SelectedRegions2, 'area', 'and', 10, 99999)
383 ## Schnitt der Randbereiche mit den diskriminierten Flächen
384 difference(SelectedRegions2, RegionRot2, RegionDifference3)
385 difference(SelectedRegions2, RegionDifference3, RegionDifference4)
386 select_shape(RegionDifference4, SelectedRegions3, 'area', 'and', 50, 99999)
387 dilation1(SelectedRegions3, Rectangle, RegionDilation2, 5)
388 union1(RegionDilation2, RegionUnion5)
389 connection(RegionUnion5, ConnectedRegions3)
390 area_center(ConnectedRegions3, Area15, Row15, Column15)
391 sort_pairs(Area15, Row15, '1', Area15b, Row15b)
392 sort_pairs(Area15, Column15, '1', Area15b, Column15b)
393 tuple_inverse(Row15b, Row15binverse)
394 tuple_inverse(Column15b, Column15binverse)
395 tuple_first_n(Row15binverse, 0, Row15c)
396 tuple_first_n(Column15binverse, 0, Column15c)
397 ## Ausgleich der Schwerpunktbestimmung (Row8, Col8), da Flächen und nicht Geometrie
398 eingeht,
399 ## daher besser: Ausgangspunkt auf Winkelhalbierende des kleinsten umschließenden
400 Rechtecksbringen
401 ## falls keine Bildrotation am Anfang möglich ist, dann hier ebenfalls anpassen
402 dev_set_line_width(3)
403 *intersection_ll (Row8, Column8, Row8-10, Column8+10, Row15c, Column15c, Row15c+10,
404 Column15c+10, Row15d, Column15d, IsParallel)
405 connection(RegionRot2, ConRegionRot2)
406 area_center(ConRegionRot2, AreaConRegionRot2, RowConRegionRot2, ColConRegionRot2)
407 tuple_find(AreaConRegionRot2, max(AreaConRegionRot2), Indi)
408 Row15d:=RowConRegionRot2[Indi]
409 Column15d:=ColConRegionRot2[Indi]
410 ## Schwerpunkt der größten Musterteilfläche als neuer Bezugspunkt
411 disp_cross(WindowHandle1, Row15d, Column15d, 30, 0)
412 dev_set_color('blue')
413 disp_cross(WindowHandle1, Row8, Column8, 30, 0)
414 dev_set_color('green')
415 disp_arrow(WindowHandle1, Row8, Column8, Row15d, Column15d, 3)
416 dev_set_colored(12)

```

```

417  ## Bestimmung der Orientierungsrichtung und des Abbildungsmaßstabs für Einpassung
418  der Musterflächen
419  RowDir:=(Row15d-Row8)/abs(Row15d-Row8)
420  ColumnDir:=(Column15d-Column8)/abs(Column15d-Column8)
421  ##Fak:=sqrt(Area8)/95
422  Fak:=min([Row24-Row14,Column24-Column14])/95.0
423  ## wichtiger Parameter für die Größe des Fitmusters
424  RowQ1:=6.8*Fak*RowDir+Row15d
425  ColQ1:=6.8*Fak*ColumnDir+Column15d
426  disp_cross(WindowHandle1,RowQ1,ColQ1,30,0)
427  RowQ2:=21.5*Fak*(-2)*RowDir+RowQ1
428  ColQ2:=21.5*Fak*(0)*ColumnDir+ColQ1
429  disp_cross(WindowHandle1,RowQ2,ColQ2,30,0)
430  RowQ3:=21.5*Fak*(-1)*RowDir+RowQ1
431  ColQ3:=21.5*Fak*(-1)*ColumnDir+ColQ1
432  disp_cross(WindowHandle1,RowQ3,ColQ3,30,0)
433  RowQ4:=21.5*Fak*(-3)*RowDir+RowQ1
434  ColQ4:=21.5*Fak*(-1)*ColumnDir+ColQ1
435  disp_cross(WindowHandle1,RowQ4,ColQ4,30,0)
436  RowQ5:=21.5*Fak*(0)*RowDir+RowQ1
437  ColQ5:=21.5*Fak*(-2)*ColumnDir+ColQ1
438  disp_cross(WindowHandle1,RowQ5,ColQ5,30,0)
439  RowQ6:=21.5*Fak*(-2)*RowDir+RowQ1
440  ColQ6:=21.5*Fak*(-2)*ColumnDir+ColQ1
441  disp_cross(WindowHandle1,RowQ6,ColQ6,30,0)
442  RowQ7:=21.5*Fak*(-1)*RowDir+RowQ1
443  ColQ7:=21.5*Fak*(-3)*ColumnDir+ColQ1
444  disp_cross(WindowHandle1,RowQ7,ColQ7,30,0)
445  dev_set_color('red')
446  dev_set_draw('margin')
447  gen_rectangle2(RecQ1,RowQ1,ColQ1,0,5*Fak,5*Fak)
448  gen_rectangle2(RecQ2,RowQ2,ColQ2,0,5*Fak,5*Fak)
449  gen_rectangle2(RecQ3,RowQ3,ColQ3,0,5*Fak,5*Fak)
450  gen_rectangle2(RecQ4,RowQ4,ColQ4,0,5*Fak,5*Fak)
451  gen_rectangle2(RecQ5,RowQ5,ColQ5,0,5*Fak,5*Fak)
452  gen_rectangle2(RecQ6,RowQ6,ColQ6,0,5*Fak,5*Fak)
453  gen_rectangle2(RecQ7,RowQ7,ColQ7,0,5*Fak,5*Fak)
454  ## Visualisierung der Schnittflächen und Musterdecodierung
455  dev_clear_window()
456  dev_display(RegionRot2)
457  dev_set_color('green')
458  dev_set_draw('fill')
459  gen_empty_region(EmptyRegion)
460  intersection(RecQ1,RegionRot2,IntQ1)
461  test_subset_region(IntQ1,RecQ1,IsQ1)
462  test_equal_obj(EmptyRegion,IntQ1,IsEqual)
463  out:=0
464  if(IsQ1+IsEqual=1)
465      out:=out+1
466  endif
467  intersection(RecQ2,RegionRot2,IntQ2)
468  test_subset_region(IntQ2,RecQ2,IsQ2)
469  test_equal_obj(EmptyRegion,IntQ2,IsEqual)
470  if(IsQ2+IsEqual=1)
471      out:=out+16
472  endif
473  intersection(RecQ3,RegionRot2,IntQ3)
474  test_subset_region(IntQ3,RecQ3,IsQ3)
475  test_equal_obj(EmptyRegion,IntQ3,IsEqual)
476  if(IsQ3+IsEqual=1)
477      out:=out+4
478  endif
479  intersection(RecQ4,RegionRot2,IntQ4)
480  test_subset_region(IntQ4,RecQ4,IsQ4)
481  test_equal_obj(EmptyRegion,IntQ4,IsEqual)
482  if(IsQ4+IsEqual=1)
483      out:=out+64
484  endif
485  intersection(RecQ5,RegionRot2,IntQ5)
486  test_subset_region(IntQ5,RecQ5,IsQ5)

```

```
487 test_equal_obj (EmptyRegion, IntQ5, IsEqual)
488 if (IsQ5+IsEqual = 1)
489     out := out + 2
490 endif
491 intersection (RecQ6, RegionRot2, IntQ6)
492 test_subset_region (IntQ6, RecQ6, IsQ6)
493 test_equal_obj (EmptyRegion, IntQ6, IsEqual)
494 if (IsQ6+IsEqual = 1)
495     out := out + 32
496 endif
497 intersection (RecQ7, RegionRot2, IntQ7)
498 test_subset_region (IntQ7, RecQ7, IsQ7)
499 test_equal_obj (EmptyRegion, IntQ7, IsEqual)
500 if (IsQ7+IsEqual = 1)
501     out := out + 8
502 endif
503 stop()
504 set_display_font (WindowHandle1, 20, 'mono', 'true', 'false')
505 disp_message (WindowHandle1, ImgName1, 'image', Height-300, Width-150, 'blue', 'false')
506 disp_message (WindowHandle1, out$'3.0f', 'image', Height-150, Width-150, 'blue',
507 'false')
508 stop()
509 dev_close_window()
510 endwhile
511 close_file (FileHandleX)
```

### 10.3 Literaturverzeichnis

- ArbSchG:1996-08-07 - Gesetz zur Umsetzung der EG-Rahmenrichtlinie - Arbeitsschutz und weiterer Arbeitsschutz-Richtlinien, Beuth Verlag GmbH
- Astatkie T., Rifai M.N., Havard P., Adsett J., Lacko-Bartosova M., Otepka P. (2007). Effectiveness of hot water, infrared and open flame thermal units for controlling weeds. *Biological Agriculture and Horticulture* 25(1), 1-12
- Atkins P.W., de Paula J. (2009). *Atkins' Physical Chemistry*. (9th edition). New York: Oxford University Press
- Baker N.R. (2008). Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59, 89-113
- Barcikowski S., Koch G., Odermatt J. (2006). Characterisation and modification of the heat affected zone during laser material processing of wood and wood composites. *Holz als Roh- und Werkstoff* 64, 94-103
- Baumjohann D., Baumjohann P. (2006). *Der BLV Pflanzen-Doktor*. BLV Buchverlag (München), 1. Auflage, ISBN 978-3835400665
- Bayer Crop Science (2008). Situationsbericht – G176. [www.agrar.bayer.de](http://www.agrar.bayer.de)
- Bayer CropScience (2012a). *AgrarBerater 2012 – Empfehlungen mit Versuchsergebnissen im Ackerbau*
- Bayer CropScience (2012b). *Resistenzmanagement im Ackerbau 2012 – Vielfalt ist die Zukunft*
- Bayramian A., Fay P.K., Dyer W.E. (1992). Weed control using carbon dioxide lasers. *Proceedings of the Western Society of Weed Science*, 45, 55-56, Salt Lake City (UT), USA, 10-12 March 1992
- Bayramian A., Fay P.K., Dyer W.E. (1993). Weed control using lasers. *Science of food and agriculture* 5(2), 2
- Bedlan G., Kahrer, A. (2002). *Wichtige Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau*. Jugend & Volk Verlag (Wien), 2. Auflage, ISBN 978-3710005909
- BEETLE – Biological and Ecological Evaluation towards Long-Term Effects (2007), BVL.Ref.Nr.: ENV.B.3/ETU/2007/0007
- Belz R.G., Piepho H.P. (2012). Modeling effective dosages in hermetic dose-response studies. *PLoS ONE* 7(3): e33432, doi: 10.1371/journal.pone.0033432
- Berge T.W., Goldberg S., Løvås D., Netland J., Overskeid Ø. (2010). Developing Sweedy – a robot for weed control in swedes (*Brassica napus* ssp. *rapifera*). *Precision Crop Protection Conference*, 19-21 Sep 2010, Bonn
- Bertram A. (1996). *Geräte- und verfahrenstechnische Optimierung der thermischen Unkrautbekämpfung*. Dissertation, TU München, Institut für Landtechnik (Freising-Weihenstephan)
- BetrSichV:2002-09-27 - Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei der Bereitstellung von Arbeitsmitteln und deren Benutzung bei der Arbeit, über Sicherheit beim Betrieb überwachungsbedürftiger Anlagen und über die Organisation des betrieblichen Arbeitsschutzes, Beuth Verlag GmbH
- BetrVG:2001-09-25 – Betriebsverfassungsgesetz, Beuth Verlag GmbH
- BGV B2 (1997). Unfallverhütungsvorschrift „Laserstrahlung“ vom November 1987 in der Fassung vom Januar 1997 (GUV-V B2), Gesetzliche Unfallversicherung
- Blanaru C., Cernat R., Chitu L., Dumitras D.C. (2003). Marking of materials by CO2 laser beam scanning. *Proceedings of SPIE* 5121, 157-163
- BMELV (2011). *Produktion, Ausfuhr und Inlandsabsatz an Wirkstoffen in Pflanzenschutzmitteln*. Industrieverband Agrar e.V., BVL, BMELV (512)
- Böhmer B., Wohanka W. (2008). *Farbatlas Krankheiten und Schädlinge an Zierpflanzen, Obst und Gemüse*. Eugen Ulmer Verlag (Stuttgart), 2. Auflage, ISBN 978-3800148714
- Bresinsky A., Körner C., Kadereit J.W., Neuhaus G., Sonnwald U. (2008). *Strasburger – Lehrbuch der Botanik*, 36. Auflage. Springer Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg



- Brinkheinrich M. (2006). Lasermarkiersysteme: Yb-Faserlaser im Vergleich zu anderen DPSS-Lasern. *Photonik* 1/2006, 42-45
- Burgner J., Müller M., Raczkowsky J., Wörn H. (2009). Robot assisted laser bone processing: Marking and cutting experiments. *Proceedings of the 14th Int. Conference on Advanced Robotics*, 1-6
- Center for Environmental Risk Assessment (2010). ILSI Research Foundation: A Review of the Environmental Safety of the CP4 EPSPS Protein. [http://cera-gmc.org/docs/cera\\_publications/pub\\_01\\_2010.pdf](http://cera-gmc.org/docs/cera_publications/pub_01_2010.pdf)
- Chambers J.M., Hastie T.J. (1992). *Statistical Models in S*. Wadsworth & Brooks/Cole.
- Christensen S., Heisel T., Schou J. (2004). Severing or damaging apparatus for unwanted plants comprises an optical recognition system that differentiates between different types of plants with a light generating source to expose the plant to electromagnetic radiation. Patent Number(s): AU9948982-A, WO200003589-A1. International Patent Classification: A01M 021/00
- Clark & Co. (2004). A qualitative research study to determine consumer acceptance, attitudes & perceptions regarding "edible" labeling on produce. Atlanta GA, USA. <http://www.durand-wayland.com/label/media.html>, 03.04.2012
- Conconi R.E.J. de (1983). Laser light as a new potential method for pest control in preserved foods. *Biodeterioration 5 Conference Proceedings*, 592-608
- Connolly C. (2005). Part-tracking labelling and machine vision. *Assembly Automation* 25(3), 182-187
- Costa C., Antonucci F., Pallottino F., Aguzzi J., Sarriá D., Menesatti P. (2013). A review on agri-food supply chain traceability by means of RFID technology. *Food and Bioprocess Technology* 6(2), 353-366
- Couch R., Gangstad E.O. (1974). Response of water-hyacinth to laser radiation. *Weed Science* 22 (5), 450-453
- Danaila-Guidea S., Niculita P., Ristici E., Popa M., Ristici M., Burnichi F., Draghici M., Geicu M. (2011). The influence of modulated redlaserlight on seedlings of some annual ornamental species (*Dianthus caryophyllus* and *Petunia hybrida*). *Romanian Biotechnological Letters* 16(6, S), 34-39
- Dawson L.H., Hulburt E.O. (1934). The absorption of ultraviolet and visible light by water. *Journal of the Optical Society of America* 24, 175-177
- Deutscher Bundestag (2011). Drucksache 17/7168 – Antwort zur Kleinen Anfrage „Risikobewertung und Zulassung des Herbizid-Wirkstoffs Glyphosat“. 27.09.2011
- Diaz B.M., Fereres A. (2007). Ultraviolet-blocking materials as a physical barrier to control insect pests and plant pathogens in protected crops. *Pest Technology* 1 (2), 85-95
- DIN EN 12254:2012-04 - Abschirmungen an Laserarbeitsplätzen - Sicherheitstechnische Anforderungen und Prüfung, Beuth Verlag GmbH
- DIN EN 207:2012-04 - Persönlicher Augenschutz - Filter und Augenschutzgeräte gegen Laserstrahlung (Laserschutzbrillen), Beuth Verlag GmbH
- DIN EN 208:2010-04 - Persönlicher Augenschutz - Augenschutzgeräte für Justierarbeiten an Lasern und Laser-aufbauten (Laser-Justierbrillen), Beuth Verlag GmbH
- DIN EN 60825-1:2007 - Sicherheit von Lasereinrichtungen - Teil 1: Klassifizierung von Anlagen und Anforderungen, Beuth Verlag GmbH
- DIN EN 60825-4 - Sicherheit von Lasereinrichtungen - Teil 4: Laserschutzwände (IEC 60825-4:2006 + A1:2008 + A2:2011), Beuth Verlag GmbH
- DIN EN ISO 11553-1:2009-03 - Sicherheit von Maschinen – Laserbearbeitungsmaschinen. Teil 1: Allgemeine Sicherheitsanforderungen, Beuth Verlag GmbH
- DIN EN ISO 12100:2011-03 - Sicherheit von Maschinen. Allgemeine Gestaltungsleitsätze Risikobeurteilung und Risikominderung, Beuth Verlag GmbH
- DIN EN ISO 22005:2007-10 - Rückverfolgbarkeit in der Futter- und Lebensmittelkette - Allgemeine Grundsätze und grundlegende Anforderungen für die Gestaltung und Verwirklichung von Systemen, Beuth Verlag GmbH

- Donner S. (2012). Biologische Wirkung von Laserstrahlung. Schulungsunterlagen zum Lasersicherheitsbeauftragten, LZH Laser Akademie Hannover GmbH
- Drouillard G., Kanner R.W. (1997). Method of laser marking of produce. Patent US 5660747
- Drouillard G., Kanner R.W. (1999). Produce Marking System. Patent US 5897797
- Duda R.O., Hart P.E. (1972). Use of the Hough Transformation to Detect Lines and Curves in Pictures. Comm. ACM 15, 11-15
- Dumitras D.C., Chitu L., Blanaru C., Cernat R., Bucatica I., Puiu A. (2002). Marking of organic materials by CO2 laser beam scanning. Proceedings of SPIE 5147, 353-362
- Eckhardt U. (1988). Verdünnung mit perfekten Punkten. In: Proceedings 10. DAGM-Symposium (Zürich), 204-210, Springer-Verlag London, ISBN 3-540-50280-7
- EG 178/2002, Europäisches Parlament und Rat. Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. <http://eur-lex.europa.eu/>
- EG 2295/2003, Europäische Kommission. Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EWG) Nr. 1907/90 des Rates über bestimmte Vermarktungsnormen für Eier. <http://eur-lex.europa.eu/>
- EG 396/2005, Europäisches Parlament und Rat. Höchstgehalte an Pestizidrückständen in oder auf Lebens- und Futtermitteln pflanzlichen und tierischen Ursprungs und zur Änderung der Richtlinie 91/414/EWG des Rates. <http://eur-lex.europa.eu/>
- Eichler J., Dünkel L., Eppich B. (2004). Die Strahlqualität von Lasern – Wie bestimmt man Beugungsmaßzahl und Strahldurchmesser in der Praxis? Laser Technik Journal 1(2), 63-66
- Eichler J., Eichler H.J. (2010). Laser: Bauformen, Strahlführung, Anwendungen. 7. Auflage, Springer Verlag Berlin, ISBN 978-3642104614
- Enserink M. (2004). Can the war on locusts be won? Science 306 (5703), 1880-1882
- Etxeberría E., Miller W.M., Achor D. (2006). Anatomical and Morphological Characteristics of Laser Etching Depressions for Fruit Labeling. HortTechnology 16(3), 527-532
- Etxeberría E., Narciso C., Sood P., Gonzales P., Narciso J. (2009). The Anatomy of a Laser Label. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 122, 347-349
- EU Richtlinie 2006/25/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 5. April 2006 über Mindestvorschriften zum Schutz von Sicherheit und Gesundheit der Arbeitnehmer vor der Gefährdung durch physikalische Einwirkungen (künstliche optische Strahlung), Amtsblatt Nr. L 114 vom 27.4.2006
- EU Richtlinie 2006/42/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 17. Mai 2006 über Maschinen und zur Änderung der Richtlinie 95/16/EG (Neufassung), Amtsblatt Nr. L 157 vom 9.6.2006
- EU Richtlinie 89/392/EWG des Rates vom 14. Juni 1989 zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten für Maschinen, Kodifizierte Fassung CF 398L0037, Amtsblatt Nr. L 183 vom 29.6.1989
- FDA (2012). Irradiation in the production, processing, and handling of food. U.S. Government Information, Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Federal Register 77(112), 34212-34215
- Fröschle H.K., Gonzales-Barron U., McDonnell K., Ward S. (2009). Investigation of the potential use of e-tracking and tracing of poultry using linear and 2D barcodes. Computers and Electronics in Agriculture 66, 126-132
- Füssler S., Köhler G., Lindner S., Niedrig R., Wedel B. (2008). Optische Anordnung für die Remote-Laser-Materialbearbeitung zur Erzeugung eines dreidimensionalen Arbeitsraumes. Patent EP 1716963B1
- GefStoffV:2010-11-26 - Verordnung zur Neufassung der Gefahrstoffverordnung und zur Änderung sprengstoffrechtlicher Verordnungen, Beuth Verlag GmbH
- Gobor Z. (2007). Development of a novel mechatronic system for mechanical weed control of the intra-row area in row crops based on detection of single plants and adequate controlling of the hoeing tool in real-time. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

- Griepentrog H.W., Nørremark M., Soriano J.F. (2006). Close-to-crop thermal weed control using a CO<sub>2</sub> laser. Proceedings of CIGR World Congress, Bonn, 3-7 Sep 2006
- Griffin J.L. (2005). The Weed Course - Louisiana State University AgCenter
- Griffiths M.J., Fox Y.E. (2011). Method and apparatus for laser marking objects. Patent US 8084712
- Grover R., Franklin C.A., Muir N.I., Cessna A.J., Riedel D. (1986). Dermal exposure and urinary metabolite excretion in farmers repeatedly exposed to 2,4-D amine. *Toxicology Letters* 33, 73-83
- Gude J.M., Damerow L. (2011). Laserstrahlen beschießen das Unkraut. *Eilbote* 7, 14-15
- Gude J.M. (2012). Wirksamkeit der Unkrautbekämpfung mittels Laser in Abhängigkeit verschiedener biologischer und technisch-physikalischer Parameter. Dissertation – Landwirtschaftliche Fakultät, Rheinisch Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
- Ha J.E. (2011). A new method for detecting Data Matrix under similarity transform for machine vision applications. *International Journal of Control, Automation, and Systems* 9(4), 737-741
- Haferkamp H., von Busse A., Barcikowski S., Ostendorf A., Bunte J. (2004). Laser transmission welding of polymer and wood composites: Material and joint mechanism related studies. *Journal of Laser Applications* 16 (4), 198-205
- Hale G.M., Query M.R. (1973). Optical constants of water in the 200 nm to 200 µm wavelength region. *Applied Optics* 12, 555-563
- Hansson D., Ascard J. (2002). Influence of developmental stage and time of assessment on hot water weed control. *Weed Research* 42, 307-316
- Hansson D., Mattsson J.E. (2003). Effect of air temperature, rain and drought on hot water weed control. *Weed Research* 43, 245-251
- Hartung J., Elpelt B. (2006). *Multivariate Statistik: Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik*. Oldenbourg Wissenschaftsverlag, München. 7. Auflage, ISBN 978-3486582345
- Häusler A. (2002). Herbologische und verfahrenstechnische Grundlagen einer teilflächenspezifischen Unkrautbekämpfung. *Gartenbautechnische Informationen*, Heft 55
- Heck R.D., Gutierrez Ibarra J., Sheffler J.B. (2007). Method and apparatus for non-invasive laser based labeling of plant products. U.S. Patent No. 2007/0252006, Washington, DC: USA
- Heisel T., Schou J., Christensen S., Andreasen C. (2001). Cutting weeds with a CO<sub>2</sub> laser. *Weed Research* 41 (1), 19-29
- Heisel T., Schou J., Andreasen C., Christensen S. (2002). Using laser to measure stem thickness and cut weed stems. *Weed Research* 42 (3), 242-248
- Hnatek H. (1997). Verfahren zum Erzeugen von Bildern und Schriften in pastösen Eßwaren wie Fleisch-, Teig- oder Süßwaren oder anderen Fertigprodukten der Lebensmittelindustrie mittels eines CO<sub>2</sub>-Laserbeschriftungssystems. Patent DE 19646813
- Hoffmann F. (1996). Laser microbeams for the manipulation of plant cells and subcellular structures. *Plant Science* 113 (1), 1-11
- Hoffmann M. (1989). *Abflammtchnik*. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (KTBL), 4. überarbeitete und erweiterte Auflage, Landwirtschaftsverlag, Münster-Hiltrup
- Hoja H. (2011). *Lasermarkierung gartenbaulicher Produkte am Beispiel von Ziergehölzen, Obst und Stecklingen*. M.Sc.-Arbeit, Leibniz Universität Hannover, FG Biosystem- und Gartenbautechnik
- Huang D., Swanson E.A., Lin C.P., Schuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Hee M.R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C.A. et al. (1991). Optical coherence tomography. *Science* 254(5035), 1178-1181
- Huber B., Kleisinger S. (2006). *Umweltgerechte thermische Unkraut- und Vegetationsregulierung*. Abschlussbericht, BMBF Förderkennzeichen 0330120A
- Hügel H., Graf T. (2009). *Laser in der Fertigung: Strahlquellen, Systeme, Fertigungsverfahren*, 2. Auflage. Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden

- Hüter J., Klöble U. (2007). Informationsgeleitete Pflanzenproduktion mit Precision Farming als zentrale inhaltliche und technische Voraussetzung für eine nachhaltige Entwicklung der landwirtschaftlichen Landnutzung – pre agro II. Abschlussbericht, Leibniz-Zentrum für Agrarlandschaftsforschung
- Izard M.G. (2008). New weed control strategy: selective weeding. Student thesis – Department of agricultural sciences, University of Copenhagen
- Jakubiak M., Sliwka M. (2010). Changes in the contents of trace elements in willows (*Salix viminalis*) as result of stimulation of cuttings with coherent light. *Proceedings of ECOpole 4(2)*, 389-395
- Kagata H., Katayama N. (2006). Does nitrogen limitation promote intraguild predation in an aphidophagous ladybird? *Entomologia Experimentalis et Applicana* 119(3), 239-246
- Kaspersen K., Berge T.W., Goldberg S., Netland J., Overskeid Ø., Stølan T. (2010). Estimation of weed pressure in creals using digital image analysis. Precision Crop Protection Conference, 19-21 Sep 2010, Bonn
- Katalyse Umweltlexikon (2012). <http://www.umweltlexikon-online.de/RUBhome/index.php>
- Katasuki M., Omae Y., Okada K., Kamura T., Matsuyama T., Haraguchi D., Kohama T., Miyatake T. (2012). Ultraviolet light-emitting diode (UV LED) trap the West Indian sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Applied Entomology and Zoology* 47(3), 285-290
- Kirchhoff C. (2001). Fingerhacke mit mechanischem Antrieb zur Unkrautbeseitigung. Patent EP 1127481
- Klaaßen H., Freitag J. (2004). Ackerunkräuter und Ackerungsgräser rechtzeitig erkennen. Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster-Hiltrup und BASF Aktiengesellschaft, Limburgerhof.
- KTBL – Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (Hrsg.) (2009). Faustzahlen für die Landwirtschaft. 14. Auflage, Darmstadt
- Kneubühl F.K., Sigrist M.W. (2008). Laser: Teubner Studienbücher Physik, 7. Auflage. Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden
- Kou L., Labrie D., Chylek P. (1993). Refractive indices of water and ice in the 0.65 to 2.5  $\mu\text{m}$  spectral range. *Applied Optics* 32, 3531-3540
- Kovach J., Petzoldt C., Degnil J., Tette J. (1992). A method to measure the environmental impact of pesticides. *New York's Food and Life Sciences Bulletin* 139, 1-8
- KrWG – Kreislaufwirtschafts- und Abfallgesetz (2012), Bundesministerium der Justiz. <http://www.gesetze-im-internet.de/krwg/>
- Kumar P., Poehling H.M. (2006). UV-blocking plastic films and nets influence vectors and virus transmission on greenhouse tomatoes in the humid tropics. *Environmental Entomology* 35 (4), 1069-1082
- Langner H.R., Ehlert D., Heisig M., Kirste A. (2006). Thermische Wirkung von Laserstrahlung auf Pflanzen. *Landtechnik* 5, 252-253
- LaserFocusWorld (2004). Laser coding turns food packages into miniature billboards. <http://www.laserfocusworld.com>
- LASER MARK (2010): EU project on marking of fruits and vegetables with an edible contrast substance which turns coloured when activated by a laser, [www.lasermarkproject.eu/en](http://www.lasermarkproject.eu/en)
- Lenk B. (2003). Handbuch der automatischen Identifikation, Band 2. Monika Lenk Fachbuch Verlag, Kirchheim unter Teck, S. 70
- Leon R.G., Ferreira D.T. (2008). Interspecific differences in weed susceptibility to steam injury. *Weed Technology* 22(4), 719-723
- LfU Bayern – Bayerisches Landesamt für Umwelt (2008a). Pflanzenschutzmittel – Stoffgruppen und Anwendung. Online
- LfU Bayern – Bayerisches Landesamt für Umwelt (2008b). Pflanzenschutzmittel in der Umwelt. Online
- Longobardi R. (2007). Verfahren und Vorrichtung für die Markierung von Obst mittels Laser mit vor der Markierung einem Reinigungs-/ Trocknungsvorgang und nach der Markierung einem Versiegelungsvorgang des markierten Bereichs. Patent EP 1747838

- López A., Molina-Aiz F.D., Valera D.L., Peña A. (2012). Determining the emissivity of the leaves of nine horticultural crops by means of infrared thermography. *Scientia Horticulturae* 137, 49-58
- Luvisi A., Panattoni A., Bandinelli R., Rinaldelli E., Pagano M., Gini B., Manzoni G., Triolo E. (2010). Radiofrequency identification tagging in ornamental shrubs: an application in rose. *HortTechnology* 20(6), 1037-1042
- Machado Neto J.B. (2005). Marking or engraving means applied over the external surface of meats in general and resulting products. Patent US 2005/0077274
- Marek R., Nitsche K. (2007). *Praxis der Wärmeübertragung*. 1. Aufl., Carl Hanser Verlag, München
- Marx C., Rath T., Barcikowski S. (2010). Methodik zur Untersuchung von Laserlichtwirkung auf der Basis von Bildanalysen auf juvenile Pflanzen zur Unkrautregulierung. *Bornimer Agrartechnische Berichte*, 16. Workshop Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft, Braunschweig, 4. Mai 2010, vol. 73, 21-31
- Marx C., Pastrana Pérez J.C., Hustedt M., Barcikowski S., Haferkamp H., Rath T. (2012a). Selektive Unkrautbekämpfung mittels Lasertechnik. *Julius-Kühn-Archiv* 434, Proceedings of the 25th German Conference on Weed Biology and Weed Control, Braunschweig, 13.-15. März 2012, vol. 1, 215-222
- Marx C., Pastrana J.C., Hustedt M., Barcikowski S., Haferkamp H., Rath T. (2012b). Untersuchungen zur Absorption und Applikation von Laserstrahlung zur Unkrautbekämpfung. *Landtechnik* 67 (2), 95-101
- Marx C., Pastrana J., Hustedt M., Haferkamp H., Rath T. (2012c). Selective weed control by means of image analysis and laser application. Proceedings of the Conference: Automation Technology for Off-Road Equipment, Valencia, 10.-11. Juli 2012, pp. 61-66
- Marx C., Barcikowski S., Hustedt M., Haferkamp H., Rath T. (2012d). Design and application of a weed damage model for laser-based weed control. *Biosystems Engineering* 113(2), 148-157
- Marx C., Hustedt M., Hoja H., Winkelmann T., Rath T. (2013a). Investigations on laser marking of plants and fruits. *Biosystems Engineering* 116(4), 436-446
- Marx C., Kiesow T., Poehling H.M., Rath T. (2013b). Application of NIR-lasers for the control of aphids and whiteflies. *DGG Proceedings* 3(12), 1-5
- Mathiassen S.K., Bak T., Christensen S., Kudsk P. (2006). The effect of laser treatment as a weed control method. *Biosystems Engineering* 95(4), 497-505
- Maxwell K., Johnson G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345), 659-668
- McCullagh P., Nelder J.A. (1989). *Generalized Linear Models*. Second Edition. Chapman & Hall/CRC.
- Meier U. (2001). *Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen – BBCH Monografie*. (2nd ed.). Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig
- Minkina W., Dudzik S. (2009). *Infrared Thermography: Errors and Uncertainties*. John Wiley & Sons
- Mirik M., Ansley R.J., Michels Jr. G.J., Elliott N.C. (2012). Spectral vegetation indices selected for quantifying Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) feeding damage in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Precision Agriculture* 13(4), 501-516
- Mohammadi S.K., Shekari F., Fotovat R., Darudi A. (2012). Effect of laser priming on canola yield and its components under salt stress. *International Agrophysics* 26(1), 45-51
- Moshou D., Bravo C., Oberti R., West J.S., Ramon H., Vougioukas S., Bochtis D. (2011). Intelligent multi-sensor system for the detection and treatment of fungal diseases in arable crops. *Biosystems Engineering* 108(4), 311-321
- Myhrvold N. (2010). [http://www.ted.com/talks/lang/en/nathan\\_myhrvold\\_could\\_this\\_laser\\_zap\\_malaria.html](http://www.ted.com/talks/lang/en/nathan_myhrvold_could_this_laser_zap_malaria.html)
- NABU – Naturschutzbund Deutschland e.V. (2011). S. Ober: Krankheiten, Unfruchtbarkeit, Tod – Dokumentarfilm über 15 Jahre Gen-Soja-Anbau in Lateinamerika. <http://www.nabu.de/themen/gentechnik/anbauundfreisetzung/soja/13327.html#header>
- Nadimi E.S., Andersson K.J., Jorgensen R.N., Maagaard J., Mathiassen S., Christensen S. (2009). Designing, modelling and controlling a novel autonomous laser weeding system. 7th World Congress on Computers in Agriculture and Natural Resources, 299-303. Reno (NV), USA, 22-24 June 2009

- Nandakumar K., Obika H., Shinozaki T., Ooie T., Utsumi A., Yano T. (2002). Impact of pulsed laser irradiations from Nd:YAG laser on the larvae of the fouling barnacle *Balanus Amphitrite*. *Biofouling* 18 (4), 257-262
- Nandakumar K., Obika H., Shinozaki T., Ooie T., Utsumi A., Yano T. (2003). Pulsed laser irradiation impact on two marine diatoms *Skeletonema costatum* and *Chaetoceros gracilis*. *Water Research* 37, 2311-2316
- Nieuwenhuizen A., Hofstee J.W., van de Zande J., van Henten E. (2010). Precision detection and spraying of volunteer potato plants in sugar beet. *Precision Crop Protection Conference*, 19-21 Sep 2010, Bonn
- Oh M.S., Lee C.H., Lee S.G., Lee H.S. (2011). Evaluation of high power light emitting diodes (HPLEDs) as potential attractants for adult *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 54(3), 416-422
- Ohmayer G. (2011). Einsatz der RFID-Technologie im Gartenbau. *KTBL-Arbeitsblatt Nr. 0729 / 2011*
- Ostendorf A., Goede M., Barcikowski S. (2002). Putting fundamentals on multiphase material balance of laser based cutting of polymers and natural fibre composites to practical use. In: 1st International Symposium on High-Power Laser Macroprocessing. Osaka, Japan, 27-31 May 2002. *Proceedings of SPIE* 4831, 459-462
- OStrV:2010-07-19- Verordnung zum Schutz der Beschäftigten vor Gefährdungen durch künstliche optische Strahlung (Arbeitsschutzverordnung zu künstlicher optischer Strahlung), BGBl. I S. 960
- Palmer R.C. (2007). *The Bar Code Book*, 5th Edition, Trafford Publishing, ISBN 978-1425133740
- Parker B.E. (2011). Method and apparatus for marking egg with an advertisement, a freshness date and a traceability code. Patent US 7951409
- Pastrana J.C. (2012). *Active Shape Models With Focus on Overlapping Problems Applied to Plant Detection and Soil Pore Analysis*. Dissertation, Leibniz Universität Hannover
- PEIB (Produce Electronic Identification Board) (1995). *Guide to coding fresh produce*. PEIB, ProduceMktg. Assn., Newark, Del
- PfSchG:2012-02-14 – Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen (Pflanzenschutzgesetz). Bundesministerium der Justiz
- Philipp I., Rath T. (2002). Improving plant discrimination in image processing by use of different colour space transformations. *Computers and Electronics in Agriculture* 35, 1-15
- Philipp I. (2004). *Development and use of automatic weed detection in sugar beet based on image processing*. Dissertation – Universität Hannover. *Gartenbautechnische Informationen*, Heft 60
- Piliero R., Billyon M. (1990): Verfahren und Vorrichtung zum Versehen von Lebensmitteln mit einer Oberflächenkennzeichnung durch thermische Behandlung und so gekennzeichnete Lebensmittel. Patent DE 3836821
- Piliero R. (1992). Installation for the laser marking of the surface of a cheese or delicatessen food product. Patent US 5120928
- Podlesny J., Stochmal A., Podlesna A., Misiak L.E. (2012). Effect of laserlight treatment on some biochemical and physiological processes in seeds and seedlings of white lupine and faba bean. *Plant growth regulation* 67(3), 227-233
- Quickenden T.I., Irvin J.A. (1980). The ultraviolet absorption spectrum of liquid water. *Journal of Chemical Physics* 72, 4416-4428
- Raffaelli M., Fontanelli M., Frascioni C., Sorelli F., Ginanni M., Peruzzi A. (2011). Physical weed control in processing tomatoes in Central Italy. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 26(2), 95-103
- Ren K., Tu K., Li H.W. (2006). Control effects of semiconductor laser on *Drosophila melanogaster*. *Zhongguo Jiguang/Chinese Journal of Lasers* 33(8), 1148-1152
- RHEA (2010). *Robot fleets for highly effective agriculture and forestry management*. EU Projekt - NMP-CP-IP 245986-2, [www.rhea-project.eu](http://www.rhea-project.eu)
- Ritz C., Streibig J.C. (2005). Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software*, 12(5), 1-22
- Romanov N.P., Shuklin V.S. (1985). Transparency of water over the range 186-500 nm. *Zhurnal Prikladnoi Spektroskopii* 41, 642-652 (English translation, Plenum Publishing Corp.)

- Rosenberg J. (2006). Control of laser rays for agricultural use. Master thesis - The Maersk Mc-Kinney Møller Institute for Production Technology, University of Southern Denmark
- Rueda Ayala V., Weis M., Gerhards R. (2012). From key research concepts in weed harrowing to an automatic adjustment of the intensity. Precision Crop Protection Conference, 19-21 Sep 2010, Bonn
- Rusk A.N., Williams D., Querry M.R. (1971). Optical constants of water in the infrared. *Journal of the Optical Society of America* 61, 895-903
- Samoiloff M.R., McNicholl P., Cheng R., Balakanich S. (1973). Regulation of nematode behavior by physical means. *Experimental Parasitology* 33, 253-262
- Sartorato I., Zanin G., Baldoin C., De Zanche C. (2006). Observations on the potential of microwaves for weed control. *Weed Research* 46, 1-9
- Sato K., Umezaki T., Hoki M., Takaki S. (2000). Fundamental study of laser application for weed and pest control - Effect of laser emissions on rice plant leaves. *J. of the Jap. Soc. of Agricultural Machinery* 62 (5), 98-103
- Scharr H. (2000). Optimale Operatoren in der Digitalen Bildverarbeitung. Dissertation: Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
- Schinkel H., Jacobs P., Schillberg S., Wehner M. (2008). Infrared Picosecond Laser for Perforation of Single Plant Cells. *Biotechnology and Bioengineering* 99 (1), 244-248
- Schmutterer H., Huber H. (2005). *Natürliche Schädlingsbekämpfungsmittel*. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart
- Selim H.M., Bengston R.L., Zhu H., Ricaud R. (2000). Runoff losses of atrazine, metribuzin, and nutrients as affected by management practices for sugarcane. Louisiana State University AgCenter.
- SGB VII:1996-08-07 - Siebtes Buch Sozialgesetzbuch- Gesetzliche Unfallversicherung
- Sherman D., Barras A. (2004). Efficacy of a laser device for hazing Canada geese from urban areas of Northeast Ohio. *Ohio Journal of Science* 103(3), 38-42
- Shibuya T., Tsukuda S., Tokuda A., Shiozaki S., Endo R., Kitaya Y. (2013). Effects of warming basal ends of Carolina poplar (*Populus x canadensis* Moench.) softwood cuttings at controlled low-air-temperature on their root growth and leaf damage after planting. *Journal of Forest Research* 18(3), 279-284.
- Shulman S. (1990). Star warriors seek new foes. *Nature* 344, 802
- Siggelkow G., Becker F. (2003). Verfahren zur Einprägung dreidimensionaler Strukturen in Lebensmittel. Patent DE 10158115
- Smith R.C., Baker K.S. (1981). Optical properties of the clearest natural waters (200-800 nm). *Applied Optics* 20, 177-184
- Søgaard H.T., Lund I. (2005). Robotic weed control with plant recognition and micro-spraying. In: Proceedings of the 5th European Conference on Precision Agriculture, Uppsala (Sweden)
- Sood P., Ference C., Narciso J., Etxeberria E. (2008). Effects of laser labeling on the quality of tangerines during storage, Proceedings of Florida State Horticultural Society 121, 297-300
- Sood P., Ference C., Narciso J., Etxeberria E. (2009). Laser Etching: A Novel Technology to Label Florida Grapefruit. *HortTechnology* 19 (3), 504-510
- Soriano J.F. (2005): Using Laser for Thermal and High-Resolution Weed Control. KVL, Frederiksberg, Denmark, project report
- Spektrum der Wissenschaft (2010). Wenn Froschmännchen Eier legen. *PNAS*, Heft 4, S. 12
- Stiles G. (2004). Laser labeling. New technology could revolutionize the way fruit is marked. Mail Tribune, Southern Oregon's News Source
- Sui Y.Y., Yu H.Y., Zhang L., Luo H., Ren S., Zhao G.G. (2012). Fluorescence Spectrum Monitor for Early Warning of Greenhouse Cucumber Aphis Pests. *Spectroscopy and Spectral Analysis* 32 (7), 1834-1837
- Tayeb W., Nakbi A., Trabelsi M., Attia N., Miled A., Hammami M. (2010). Hepatotoxicity induced by sub-acute exposure of rats to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid based herbicide "Désormone lourde". *Journal of Hazardous Materials* 180, 225-233

- Thies C., Haenke S., Scherber C., et al. (2011). The relationship between agricultural intensification and biological control: experimental tests across Europe. *Ecological Applications* 21(6), 2187-2196
- Uyanıkgil Y., Yalçınkaya M., Ateş U., Baka M., Karakişi H. (2009). Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid formulation on medulla spinalis of *Poecilia reticulata*: A histopathological study. *Chemosphere* 76, 1386-91
- van Lenteren J.C. (2012). IOBC Internet Book of Biological Control. [www.iobc-global.org](http://www.iobc-global.org)
- White L. (2008). Laser leaves mark on fruit. *Weekly Times Now, Herald & Weekly Times Pty. Ltd. (HWT)*, Melbourne (Australia)
- Wiedemann G., Pueschner K., Wust H., Kempe A. (2005). The Capability of the Laser Application for Selective Cleaning and the Removal of Different Layers on Wooden Artworks. *Lasers in the Conservation of Artworks (LACONA V)*, Springer Proceedings in Physics 100, 179-190
- Wieliczka D.M., Weng S., Querry M.R. (1989). Wedge shaped cell for highly absorbent liquids: infrared optical constants of water. *Applied Optics* 28, 1714-1719
- Wöltjen C., Haferkamp H., Rath T., Herzog D. (2008a). Plant growth depression by selective irradiation of the meristem with CO<sub>2</sub> and diode lasers. *Biosystems Engineering* 101(3), 316-324
- Wöltjen C., Rath T., Herzog D. (2008b). Investigations about the technical basics of laser beam use for plant manipulation. Proceedings of the international symposium on high technology for greenhouse system management. Naples, Italy, 4-6 October 2007. *Acta Horticulturae*, 801 (1), 587-594
- Wozniak B., Wozniak S.B., Tyszka K., Ostrowska M., Majchrowski R., Ficek D., Dera J. (2005). Modelling the light absorption properties of particulate matter forming organic particles suspended in seawater. Part 2. Modelling results. *Oceanologia* 47, 621-662
- Yang L., Han R., Sun Y. (2012). Damage repair effect of He-Ne laser on wheat exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Plant Physiology and Biochemistry* 57, 218-221
- Yao M., Zhou Q., Liu M., Zhao J. (2008). Preliminary study of the application of semiconductor diode laser in controlling locusts. Proceedings of 2nd Int. Symp. on Intelligent Information Technology Application. Vol. 3, 426-429. Shanghai, China, 21-22 Dec 2008
- Yao M., Zhou Q., Liu M., Zhao J. (2009). Effect on locusts and Green Bristle Grass by 808 nm laser irradiation. Proceedings of Int. Conf. on Energy and Environment Technology. Vol. 3, 298-301. Guilin, 16-18 Oct 2009
- Yee W.L. (2011). Evaluation of yellow rectangle traps coated with hot melt pressure sensitive adhesive and sticky gel against *Rhagoletis indifferens*. *Journal of Economic Entomology* 104(3), 909-919
- Yuk H.G., Warren B.R., Schneider K.R. (2007). Infiltration and survival of Salmonella species on tomato surfaces labeled using low energy carbon-dioxide laser device. *HortTechnology* 17, 67-71
- Zeljezic D., Garaj-Vrhovac V. (2001). Chromosomal aberration and single cell gel electrophoresis (Comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Mutagenesis* 16 (4), 359-363
- Zhang J. (1997). Biologic effects on the *Drosophila melanogaster* by laser radiation. *Yingyong Jiguang/Applied Laser Technology* 17(6), 273-275



## Curriculum Vitae

**Christian Marx** (geb. Wöltjen)

*christian@2marx.de*

### Persönliche Daten

Geboren am 27. November 1980  
Geburtsort Achim  
Familienstand verheiratet, 2 Kinder



### Auszeichnungen

02/2012 Startup-Impuls Wissenschaftspreis  
02/2011 Posterpreis der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft  
06/2010 Landgard Grow Award (als Betreuer von Heiderose Hoja)  
02/2010 Green Challenge der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft

### Berufliche Tätigkeit

seit 08/2008 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Biologische Produktionssysteme, Fachgebiet Biosystem- und Gartenbautechnik der Leibniz Universität Hannover  
seit 08/2008 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Laser Zentrum Hannover e.V., Abteilung Werkstoff- und Prozesstechnik, Gruppe Sicherheitstechnik

### Hochschulbildung

10/2003 – 07/2007 Studium Gartenbauwissenschaften, Leibniz Universität Hannover  
Abschluss: Bachelor of Science  
10/2001 – 07/2008 Studium Maschinenbau, Leibniz Universität Hannover  
Abschluss: Diplom-Ingenieur

### Zivildienst

09/2000 – 08/2001 Caritas Kindergarten St. Josef Verden

### Schulbildung

08/1993 – 06/2000 Domgymnasium Verden, Abitur  
08/1991 – 06/1993 Orientierungsstufe Dörverden  
08/1987 – 06/1991 Grundschule Westen

## Veröffentlichungen

- 
- Artikel** **Wöltjen C.**, Haferkamp H., Rath T., Herzog D. (2008). Plant growth depression by selective irradiation of the meristem with CO<sub>2</sub> and diode lasers. *Biosystems Engineering* 101(3), 316-324
- Wöltjen C.**, Rath T., Herzog D. (2008). Investigations about the technical basics of laser beam use for plant manipulation. Proceedings of the international symposium on high technology for greenhouse system management. Naples, Italy, 4-6 October 2007. *Acta Horticulturae*, 801 (1), 587-594
- Marx C.**, Rath T., Barcikowski S. (2010). Methodik zur Untersuchung von Laserlichtwirkung auf der Basis von Bildanalysen auf juvenile Pflanzen zur Unkrautregulierung. *Bornimer Agrartechnische Berichte* 73, 21-31
- Marx C.**, Pastrana Pérez J.C., Hustedt M., Barcikowski S., Haferkamp H., Rath T. (2012). Selektive Unkrautbekämpfung mittels Lasertechnik. *Julius-Kühn-Archiv* 434, Proceedings of the 25th German Conference on Weed Biology and Weed Control, Braunschweig, 13.-15. März 2012, vol. 1, 215-222
- Marx C.**, Pastrana J.C., Hustedt M., Barcikowski S., Haferkamp H., Rath T. (2012). Untersuchungen zur Absorption und Applikation von Laserstrahlung zur Unkrautbekämpfung. *Landtechnik* 67 (2), 95-101
- Marx C.**, Pastrana J., Hustedt M., Haferkamp H., Rath T. (2012). Selective weed control by means of image analysis and laser application. Proceedings of the Conference: Automation Technology for Off-Road Equipment, Valencia, 10.-11. Juli 2012, pp. 61-66
- Marx C.**, Barcikowski S., Hustedt M., Haferkamp H., Rath T. (2012). Design and application of a weed damage model for laser-based weed control. *Biosystems Engineering* 113(2), 148-157
- Marx C.**, Hustedt M., Hoja H., Winkelmann T., Rath T. (2013). Investigations on laser marking of plants and fruits. *Biosystems Engineering* 116(4), 436-446
- Marx C.**, Kiesow T., Poehling H.M., Rath T. (2013). Application of NIR-lasers for the control of aphids and whiteflies. *DGG Proceedings* 3(12), 1-5
- Kaierle S., **Marx C.**, Rath T., Hustedt M. (2013). Find and irradiate – Lasers used for weed control. *Laser Technik Journal* 10(3), 44-47
- Marx C.**, Schultz M., Schymik K., Krüger A., Ripken T., Rath T. (unveröffentlicht). Re-Identification of superficial and sub-epidermal laser markings on plants and fruits. (eingereicht und akzeptiert: 25.09.2013) Proceedings of the International Symposium on High Technology for Greenhouse System Management 2013, Jeju, South Korea (wird veröffentlicht in: *Acta Horticulturae*)
- 
- Vorträge** **Marx C.** (2009). Laseranwendungen im Gartenbau. Fortbildungsseminar im KTBL-Arbeitskreis "Berater und Wissenschaftler für Technik im Gartenbau", 15.-18. September 2009, Berlin
- Marx C.**, Rath T. (2010). Untersuchungen zur Laserlichtwirkung auf der Basis von Bildanalysen auf juvenile Pflanzen zur Unkrautregulierung. DFG Research Training Group (Graduiertenkolleg) 722 - Use of Information Technologies for Precision Crop Protection, 12. Januar 2010, Bonn
- Marx C.**, Hoja H., Rath T. (2010). Direkte und codierte Markierung gartenbaulicher Produkte mittels Laser zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit. 46. Jahrestagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 24.-27. Februar 2010, Stuttgart-Hohenheim
- Marx C.**, Rath T. (2010). Erste Ergebnisse des DFG-Projektes: Untersuchungen zur Laserlichtwirkung auf Basis von Bildanalysen auf juvenile Pflanzen zur Unkrautregulierung. 16. Workshop Computerbild-Analyse in der Landwirtschaft, 4. Mai 2010, Braunschweig
- Marx C.** (2011). Laser-Unkrautbekämpfung: Schädigungsmodell und Zielanvisierung. 47. Jahrestagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 23.-26. Februar 2011, Hannover
- Marx C.**, Pastrana J.C., Hustedt M., Barcikowski S., Haferkamp H., Rath T. (2012). Selektive Unkrautbekämpfung mittels Lasertechnik. 25. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung (Unkrauttagung 2012), 13.-15. März 2012, Braunschweig
- Marx C.**, Pastrana J.C., Rath T. (2012). Entwicklung eines Lasersystemprototyps auf Bildanalysebasis zur Unkrautbekämpfung. 18. Workshop Computerbild-Analyse in der Landwirtschaft, 9. Mai 2012, Osnabrück

**Marx C.**, Hustedt M., Kaierle S., Rath T., Haferkamp H. (2012). Investigation into the usage of different laser systems for weed control. 15th Int. Conference Laser Optics, 6th Int. Symposium on High-Power Fiber Lasers and their Applications (LO2012), 25.-29. Juni 2012, St. Petersburg

**Marx C.**, Pastrana J., Hustedt M., Haferkamp H., Barcikowski S., Rath T. (2012). Selective weed control by means of image analysis and laser application. Int. Conference of Agricultural Engineering (CIGR-AgEng2012), 8.-12. Juli 2012, Valencia

**Marx C.**, Eyahanyo F., Schultz M., Schymik K., Britz R., Grade S., Hustedt M., Rath T. (2013). Neue Produktmarkierungen zur Sicherung der Rückverfolgbarkeit in der gartenbaulichen Produktion. 48. Jahrestagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 27. Februar – 2. März 2013, Bonn

**Marx C.**, Kiesow T., Hustedt M., Poehling H.M., Rath T. (2013). Untersuchungen zur Bekämpfung von Blattläusen mittels Laserstrahlung. 48. Jahrestagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 27. Februar – 2. März 2013, Bonn

**Marx C.**, Schultz M., Schymik K., Rath T. (2013). Re-Identifikation von oberflächlichen sowie sub-epidermalen Lasermarkierungen von Pflanzen und Früchten. 19. Workshop „Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft“ und 2. Workshop „Unbemannte autonom fliegende Systeme in der Landwirtschaft“, 6.-7. Mai 2013, Berlin

**Marx C.**, Schultz M., Schymik K., Krüger A., Ripken T., Rath T. (2013). Re-Identification of superficial and sub-epidermal laser markings. Greensys 2013 - New Technologies for Environment Control, Energy-saving and Crop Production in Greenhouse and Plant Factory, 6.-11. Oktober 2013, Jeju

---

**Poster** **Wöltjen C.**, Rath T., Herzog D. (2007). Basics and Investigations about the usage of Laser Light Beams for Weed Control in Greenhouses (GreenSys), 4.-6. Oktober 2007, Neapel

**Wöltjen C.**, Herzog D., Rath T. (2008). Laser Light Beams for Open Field Weed Control in Horticulture. Symposium on Horticulture in Europe (SHE), 17.-20. Februar 2008, Wien

Hoffmann H., **Marx C.**, Menke S. (2010). Kultivierung von Radies - Green Challenge 2010 der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 26. Februar 2010, Stuttgart-Hohenheim

**Marx C.**, Rath T. (2011). Lasermarkierungen von Gartenbauprodukten – Bildverarbeitung zur Mustererkennung. 47. Jahrestagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 23.-26. Februar 2011, Hannover

Hoja H., **Marx C.**, Winkelmann T., Rath T. (2011). Pflanzenbauliche, phytopathologische und pflanzenphysiologische Untersuchungen an lasermarkierten Pflanzen. 47. Jahrestagung der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 23.-26. Februar 2011, Hannover

**Marx C.**, Pastrana J., Rath T., Hustedt M., Kaierle S., Haferkamp H. (2012). A vision-based laser weed control system. Symposium on Horticulture in Europe (SHE), 1.-5. Juli 2012, Angers

Rath T., **Marx C.**, Eyahanyo F., Britz R., Grade S. (2013). WeGa AP3.5: Photo-elektronische Produktsiegel mit Barcode-, RFID- und Lasertechnologie. Evaluierung des BMBF-AgroClustEr: WeGa-Kompetenznetz Gartenbau, 21. Februar 2013, Hannover

Hoffmann H., **Marx C.** (2013). Modellierung pflanzenphysiologischer Prozesse (Photosyntheserate) - Green Challenge 2013 der Deutschen Gartenbauwissenschaftlichen Gesellschaft e.V., 1. März 2013, Bonn

**Marx C.** (2013). Pflanzenproduktion ohne Chemie – Unkrautbekämpfung mit Laserstrahlung. 6. InnovationsForum Photonik, 28. Mai 2013, Goslar

---

**Dipl. Arbeit** Entwicklung eines Logistikkonzeptes für den Produktionsanlauf (16. April 2008)  
Leibniz Universität Hannover, Fakultät für Maschinenbau, Institut für Fabrikanlagen und Logistik

---

**B.Sc. Arbeit** Multiple Vergleiche in gartenbaulichen Versuchen: Vergleich von Differenz- und Quotienten-basierter Formulierung (9. Juli 2007)  
Leibniz Universität Hannover, Naturwissenschaftliche Fakultät, Institut für Biostatistik