

Monitor voor bijsturing van knopvorming

Gerben Straatsma

© 2005 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

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

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van Productschap Tuinbouw,
Louis Pasteurlaan 6, 2719 EE Zoetermeer. tel. 079 - 3470707



PPO Projectnummer: 620172
PT nummer: 11636

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector Paddenstoelen

Adres : Peelheideweg 1, America
: Postbus 6042, 5960 AA Horst
Tel. : 077 – 464 75 75
Fax : 077 – 464 15 67
E-mail : infopaddestoelen.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	6
2 MATERIAAL EN METHODEN	8
2.1 Teeltproef	8
2.2 Statistiek.....	8
2.3 Mogelijkheden geautomatiseerde beeldanalyse	8
3 RESULTATEN	9
3.1 Aantallen primordia, knoppen en champignons	9
3.2 Ontwikkeling in de tijd.....	11
4 DISCUSSIE	13
4.1 Primordia en knoppen in en op dekaarde	13
4.2 Processen primordiovorming en knopuitgroei.....	13
4.3 Mogelijkheden geautomatiseerde beeldanalyse	14
5 CONCLUSIES	16
6 SUGGESTIES VOOR ONTWIKKELING EN ONDERZOEK.....	17
BIJLAGE 1. PRIMORDIA, KNOPPEN EN CHAMPIGNONS	19
BIJLAGE 2. RELATIE DEKAARDE-INGROEI BIJ AFVENTILEREN EN OOGSTTIJDSTIP	21

Samenvatting

Planning en realisatie van de oogst van champignons van gewenste kwaliteit lopen te vaak uit elkaar. De teler moet op basis van beoordelingen en aanpassingen in de teeltwijze een optimale opbrengst op het juiste moment zien te halen. Problemen uit zich bij de uitgroei van de vluchten: er zijn te veel of juist te weinig champignons, er is een grote onregelmatigheid in de verdeling over het teeltbed en in het tijdsverloop van de vlucht. Het terugdringen van de variaties in opbrengst en kwaliteit kan leiden tot een enorme financiële verbetering. Het doel van het project was om de haalbaarheid van een monitor te onderzoeken die vroeg in de teelt afwijkingen van het gewenste verloop van knopvorming kan vaststellen.

In een teeltproef bij PPO-Paddestoelen werden vanaf afventileren tot de oogst van de eerste vlucht dagelijks fotografische opnamen gemaakt van het dekaarde oppervlakte. Er werd onderscheid gemaakt worden tussen 'primordia' en 'knoppen'. Het onderscheid ontstond bij een grootte van 2 tot 4 mm in doorsnede. Uit de foto's en uit andere waarnemingen tijdens de teelt werd geconcludeerd dat primordiovorming begon op het moment dat in de dekaarde een samenhangend mycelium ontstond. Het aantal primordia nam vanaf dat moment snel toe tot meer dan 50 000 stuks per m². Waarschijnlijk stopte de vorming van primordia op het moment dat de eerste knoppen en uitgroeïende champignons ontstonden. Tot vier dagen voor de oogst traden, afhankelijk van de teeltwijze van de proefbehandeling, grote veranderingen op in het aantal zichtbare knoppen aan het oppervlakte van de dekaarde. Tijdens het project is de kennis over het knopvormingsproces toegenomen. Er zijn verschillende deelprocessen te onderscheiden. Elk deelproces is een potentieel aanknopingspunt voor de bijsturing van knopvorming en uitgroei.

1 Inleiding

Voor champignonkwekerijen is het noodzakelijk om een goede afstemming te realiseren tussen productie en afzet. Het moment van oogst en levering is belangrijk evenals de hoeveelheid en kwaliteit van de geoogste champignons. Planning en realisatie lopen te vaak uit elkaar. De problemen worden deels veroorzaakt door variaties in de gebruikte grondstoffen, compost en dekaarde, en deels door de variatie in de teeltomstandigheden. Ondanks de kwaliteitszorgen bij de grondstofleveranciers blijven de variaties in de grondstoffen bestaan. De teler moet op basis van beoordelingen en aanpassingen in de teeltwijze een optimale opbrengst op het juiste moment zien te halen. De genoemde variaties hebben met name moeilijk te voorspellen effecten op het aantal knoppen en de verdeling daarvan. Dit uit zich bij de uitgroei van de vluchten: er zijn te veel of juist te weinig champignons, er is een grote onregelmatigheid in de verdeling over het teeltbed en in het tijdsverloop van de vlucht. Het terugdringen van de variaties in opbrengst en kwaliteit kan leiden tot een grote financiële verbetering. Een verbetering van de afstemming leidt tot een lagere frequentie van leveringsproblemen aan klanten.

Het is onvoldoende bekend welke relatie er bestaat tussen het tijdstip en de mate van knopvorming enerzijds en de opbrengst en kwaliteit van de vluchten anderzijds. Het is onbekend hoe een afwijking van het gewenste patroon van knopvorming kan worden waargenomen op een zó vroeg moment dat bijsturing nog mogelijk is. Champignonkwekers geven aan zes à zeven dagen voor de oogst de knopvorming nog te kunnen bijsturen met bijvoorbeeld een tijdelijke temperatuursverhoging, het tijdelijk laten oplopen van het CO₂ gehalte in de teeltruimte of het sproeien met water.

Om vroeg in de teelt waarnemingen te doen die het teeltverloop kunnen voorspellen, komen waarnemingen aan de knopvorming in aanmerking. Vroeg in de teelt zou het aantal knoppen kunnen worden geteld en de telling zou voorspellend kunnen zijn voor het aantal champignons dat later geoogst wordt. Om een relatie vast te kunnen stellen tussen aantallen knoppen en aantallen geoogste champignons zijn gegevens nodig waarin aantallen variëren. Dergelijke gegevens kunnen verkregen worden met behulp van een teeltproef met behandelingen die effect hebben op het aantal champignons dat per oppervlakte eenheid ontstaat.

Hyfen, mycelium, strengen, knoppen en volgroeide vruchtlichamen van de champignon werden beschreven door Atkinson 1906, Levine 1922, Hein 1930a 1930b, Craig 1979, Wood et al. 1985 en Heckman et al. 1989. Desondanks bestaat er geen volledig samenhangend beeld van het proces dat tot knopvorming en uitgroei leidt (Flegg & Wood 1985, Moore 2005). Op basis van beschrijvingen van Umar & Van Griensven (1997-1999) kunnen drie ontwikkelingsstadia bij de knopvorming worden herkend: primordia, knoppen en champignons. Primordia zijn gedefinieerd als kleine myceliumklompjes aan strengen waaraan nog geen verdere ontwikkeling te herkennen is. Knoppen zijn gedefinieerd als myceliumklompjes die meestal iets groter zijn dan primordia en waaraan een beginnend onderscheid tussen hoed en steel te zien is doordat het myceliumklompje een insnoering tussen een bovenste en onderste deel laat zien. Champignons worden gedefinieerd als gesloten tot geopende vruchtlichamen met duidelijk herkenbare lamellen. De indeling in ontwikkelingsstadia van Umar & Van Griensven (1997-1999) wordt in dit project gevolgd. Ter verduidelijking wordt de volledige indeling van stadia, samen met enkele karakteristieke afbeeldingen, gegeven in Bijlage 1.

Het is denkbaar dat er vroeg in de teelt kenmerken van de ontwikkeling van champignons te zien zijn die (nog) onbekend zijn. Dergelijke kenmerken zouden op foto's van het dekaarde oppervlakte kunnen zijn vastgelegd. Het is in beginsel denkbaar dat met geautomatiseerde beeldanalyse foto's te verwerken zijn tot kengetallen die een relatie hebben met het onbekende kenmerk. Het is onbekend of dit tot de mogelijkheden van automatische beeldanalyse behoort.

Het doel van het project was om de haalbaarheid van een monitor te onderzoeken die vroeg in de teelt afwijkingen van het gewenste verloop van knopvorming kan vaststellen.

Het project richtte zich op de volgende vragen:

- kunnen er voorspellende waarnemingen gedaan worden?
- kunnen deze voorspellingen vroeg genoeg gedaan worden zodat bijsturen mogelijk is?
- kunnen de waarnemingen naar alle waarschijnlijkheid geautomatiseerd worden?

- welk soort technologie is nodig voor automatisering?

De te ontwikkelen monitor voor waarneming zou het teeltbed moeten 'scannen', te vergelijken met een scanner in een plukrobot-prototype.

2 Materiaal en Methoden

2.1 Teeltproef

In het proefbedrijf van PPO-Paddestoelen werd een teelt op kisten in een cel uitgevoerd. De teeltkisten hadden een oppervlakte van 0.2 m² en werden gevuld met 18 kg doorgroeide compost met het ras Amycel Alfa 2810. Er werd ge-'cact' afgedekt. Door middel van behandelingen van de dekaarde en met verschillende manieren van afventileren werden teeltkisten verkregen met variaties in de niveaus van knopvorming. Er werden acht behandelingen in vijfvoud ingezet. De ontwikkeling van de eerste vlucht werd kwantitatief in beeld gebracht door tellingen uit te voeren van de aantallen primordia, knoppen en champignons die in de loop van de teelt ontstonden.

Vanaf drie dagen na het afventileren werd om de dag de dekaarde bemonsterd. Per behandeling werd hiervoor één kist gebruikt. Met een holle pijp met een inwendig oppervlakte van 4.15 cm² werden over de gehele dikte van de dekaardelaag, tot aan de compostlaag, drie monsters genomen. De drie monsters van een kist werden samengevoegd tot één verzamelmonster van 12.5 cm² dekaarde. Monsters werden opgeslagen in een -20 °C diepvries tot het tijdstip van analyse. Na ontdooien werden de monsters op een zeef gelegd en werd de dekaarde weggespoeld met water. Myceliumstrengen met primordia bleven op de zeef achter. Het aantal primordia werd geteld.

Vanaf het afventileren werden dagelijks foto's gemaakt van het oppervlakte van teeltkisten. Van elke behandeling werden hiervoor twee kisten gebruikt en van elke kist werd een van te voren gemarkeerd stukje van het oppervlakte van 10 × 13 = 130 cm² gefotografeerd. Dit werd 10 dagen lang, tot vier dagen voor de oogst gedaan. De foto's werden geanalyseerd en de knopvorming werd gekwantificeerd.

In de oogstfase werden twee van de vier kisten in elke behandeling met de hand geoogst. Eénmaal daags werden champignons met een diameter groter dan 40 mm geplukt. Kleinere champignons werden geplukt als bleek dat deze gingen vliezen. Het oogstmoment voor deze kisten werd berekend door 'weging': de productsom van oogstdag en opbrengst gedeeld door de som van de opbrengst. De andere twee kisten werden ook handmatig geoogst maar alle champignons werden op één moment geplukt, op de dag dat de vlucht ging vliezen, als ware het mechanische oogst.

2.2 Statistiek

De effecten van de behandelingen 'vochtigheid van dekaarde', 'opruwen' en 'afventileren' op de aantallen primordia, knoppen en champignons werden onderzocht met variantie analyses (ANOVA's). Aansluitend op de ANOVA's en gebruikmakend van de 'Student' t-verdeling werden kleinst betrouwbare verschillen berekend tussen behandelingen. Relaties werden onderzocht met regressie analyse.

2.3 Mogelijkheden geautomatiseerde beeldanalyse

De mogelijkheden voor geautomatiseerde beeldanalyse werden besproken met een specialist op het gebied van beeldanalyse bij PRI-Greenvision, Wageningen, en met een zelfstandig ontwikkelaar die verbonden is geweest aan TNO.

3 Resultaten

3.1 Aantallen primordia, knoppen en champignons

In de teeltproef werden tijdens de ontwikkeling van de eerste vlucht primordia, knoppen en champignons geteld. Eén van de bronnen voor de tellingen waren fotografische opnamen van het oppervlakte van de ingezette teeltkisten. Een voorbeeld van de opnamen is gegeven in Fig 1. De getelde aantallen primordia, knoppen en champignons staan vermeld in Tabel 1. De aantallen primordia in de dekaarde op dag zeven na het afventileren waren voor de verschillende behandelingen niet significant verschillend (Tabel 1, kolom 5). Het aantal primordia op de dekaarde op dag acht na het afventileren was afhankelijk van de vochtigheid van de dekaarde en van het al dan niet opruwen (Tabel 1, kolom 6). De aantallen waren het hoogst als dekaarde met normale vochtigheid was gebruikt en als er niet was opgeruwd. Tussen beide factoren bestond een interactie: de aantallen waren bijzonder laag als natte dekaarde was gebruikt en als ook was opgeruwd. Het aantal knoppen dat op dag 10 zichtbaar was hing af van de vochtigheid van de dekaarde en van het al dan niet opruwen (Tabel 1, kolom 8). De hoogste aantallen werden gevonden op dekaarde met normale vochtigheid, maar het effect van het opruwen was anders dan op het aantal primordia. De hoogste aantallen werden bereikt als er was opgeruwd. Tussen de factoren vochtigheid en opruwen bestond een interactie: het aantal knoppen was buitengewoon hoog op dekaarde met normale vochtigheid en als ook was opgeruwd. De verandering in het effect van opruwen hing samen met het plotseling verschijnen van knoppen op dag 10 op de opgeruwde behandelingen die daarvoor niet zichtbaar waren (Tabel 1, kolom 7). Het aantal geogste champignons op dag 14 was het hoogst op dekaarde met normale vochtigheid en als er was opgeruwd (Tabel 1, kolom 9).

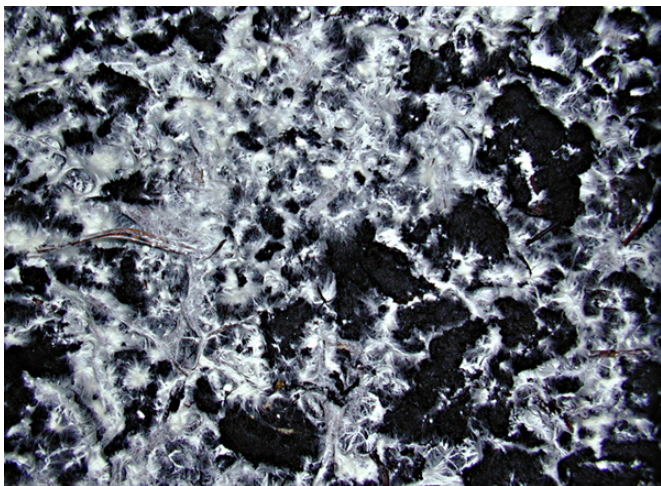
Tabel 1. Aantallen primordia in de dekaarde op dag 7 na het afventileren en op de dekaarde op dag 8, aantallen knoppen op dag 10 en aantallen champignons op dag 14 in de teeltproef. Alle aantallen per m². K.b.v. is kleinste betrouwbare verschil op een kansniveau van 5 %. Aantallen die statistisch gezien niet verschillen op een kansniveau van 5 % zijn voorzien van overeenkomende letters.

kolomnummer																	
1		2		3		4		5		6		7		8		9	
behandeling						dekaarde		foto's						eerste vlucht			
nr.	dekaarde	opruwen	afventileren	monsters		primordia		primordia		knoppen plotse-		knoppen		champignons			
				dag		7		8		ling verschijnend		totaal		14			
1	normaal	niet	normaal	65000	a	1040	abc	0	b	370	b	430	d				
2	normaal	niet	snel	77000	a	1050	abc	0	b	590	b	500	d				
3	normaal	opruwen	normaal	-		790	bc	160	a	1370	a	1010	ab				
4	normaal	opruwen	snel	57000	a	620	cd	180	a	1300	a	1160	a				
5	extra nat	niet	normaal	48000	a	1410	a	0	b	500	b	390	d				
6	extra nat	niet	snel	-		1160	ab	0	b	410	b	350	d				
7	extra nat	opruwen	normaal	-		120	de	210	a	640	b	730	c				
8	extra nat	opruwen	snel	-		110	e	180	a	610	b	870	bc				
k.b.v. (p=0.05)				56000		510		100		480		200					

Het geogste aantal champignons op dag 14 verhiel zich omgekeerd evenredig met het aantal primordia op dag acht (Fig 2A). Het verband werd sterk beïnvloed door de waarnemingen aan behandelingen drie, vier, zeven en acht, die op dag 10 na het afventileren een groot aantal plotseling verschijnende knoppen lieten zien (Tabel 1, kolom 7). Het geogste aantal champignons op dag 14 hing samen met het aantal knoppen dat op dag 10 zichtbaar was op foto's (Fig 2B).

Fig 1. Opnamen van een teeltkist op vier verschillende tijdstippen (kistnummer 1, behandeling 3).

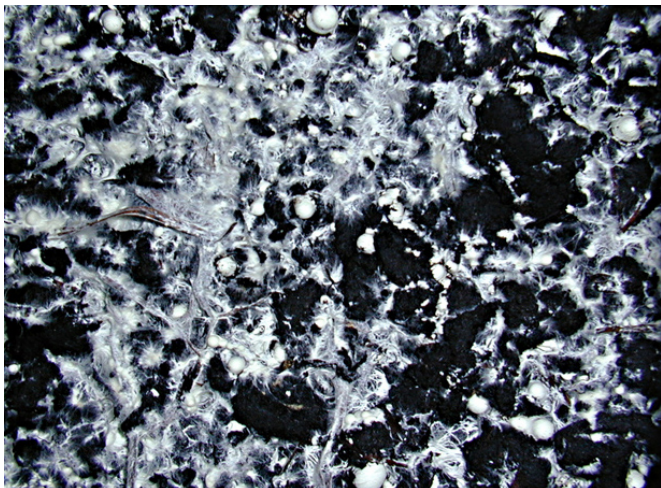
Dag 4 na afventileren; 10 dagen voor oogst



Dag 6 na afventileren; 8 dagen voor oogst



Dag 8 na afventileren; 6 dagen voor oogst



Dag 9 na afventileren; 5 dagen voor oogst

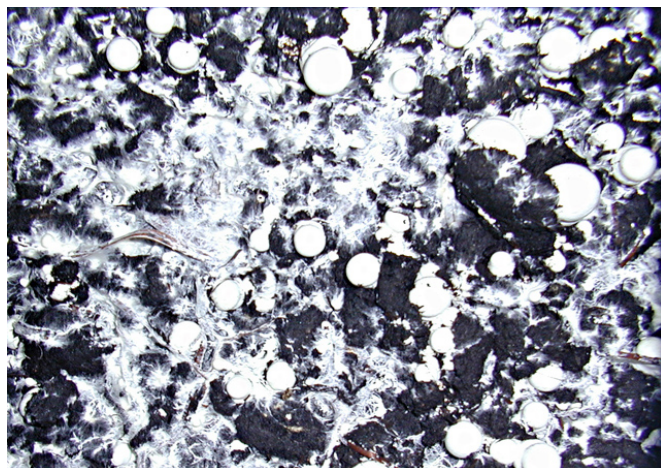
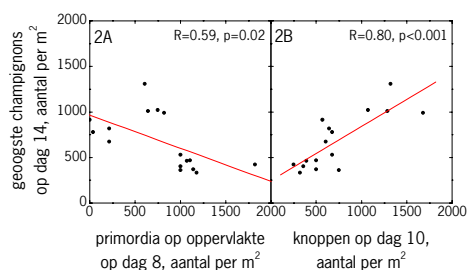


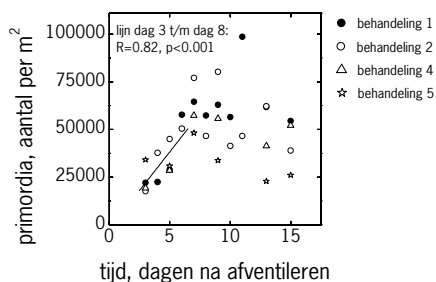
Fig 2. A: relatie tussen het geogoste aantal champignons op dag 14 en de aantallen primordia op het oppervlakte van de dekaarde op dag acht. B: relatie tussen het geogoste aantal champignons op dag 14 en de aantallen knoppen op dag 10.



3.2 Ontwikkeling in de tijd

In de dekaarde ontstond een aantal primordia van ongeveer 60 000 per m² (Tabel 1, kolom 5). Dit aantal was ongeveer 50 maal groter dan het aantal champignons dat in de eerste vlucht ontstond (Tabel 1, kolom 9). Tussen dag 3 en dag 8 na het afventileren leek het aantal primordia op een regelmatige manier toe te nemen in de tijd (Fig 3). De best passende rechte lijn tussen de meetwaarden in deze periode loopt vrijwel door de oorsprong van de grafiek. Dat wijst er op dat er op dag nul, de dag van het afventileren, nog geen, of zeer weinig, knoppen waren en dat er tot aan dag acht dagelijks ongeveer 8 000 primordia ontstonden. Na het bereiken van een maximum niveau van ongeveer 60 000, negen dagen na het afventileren en vijf dagen voor de oogst, nam het aantal af. De aantallen primordia varieerden zo sterk dat bleek, al voordat alle monsters geteld waren, dat er geen betrouwbare verschillen vast te stellen zouden zijn tussen de behandelingen. Er kon geen relatie vastgesteld worden tussen aantallen primordia en de aantallen uitgroeiende champignons. Gezien de overmaat aan primordia valt een relatie niet te verwachten.

Fig 3. Ontwikkeling van het aantal primordia in de dekaarde vanaf het afventileren. Tussen dag 3 en dag 8 leek het aantal primordia op een regelmatige manier toe te nemen in de tijd; door de meetwaarden in deze periode werd de best passende rechte lijn getrokken.



Er trad een vertraging van het oogstmoment op door het opruwen ($p < 0.001$), met ruim een dag, door het gebruik van extra natte dekaarde ($p < 0.001$), met ongeveer een halve dag, en door minder snel, normaal, af te ventileren ($p = 0.01$), met ongeveer zes uren (Tabel 2).

Tabel 2. De oogstmomenten van de eerste vlucht bij normale handoogst in dagen na de start van het afventileren. K.b.v. staat voor kleinst betrouwbare verschil. Aantallen die statistisch gezien niet verschillen zijn voorzien van een overeenkomende letter.

behandeling				oogstmoment, dag	
nr.	dekaarde	opruwen	afventileren	na afventileren	
1	normaal	niet	normaal	12.5	a
2	normaal	niet	snel	12.7	a
3	normaal	opruwen	normaal	14.3	c
4	normaal	opruwen	snel	13.5	b
5	extra nat	niet	normaal	13.3	b
6	extra nat	niet	snel	13.2	b
7	extra nat	opruwen	normaal	14.4	c
8	extra nat	opruwen	snel	14.2	c
k.b.v. (p=0.05)				0.4	

4 Discussie

4.1 Primordia en knoppen in en op dekaarde

Het aantal primordia dat in de dekaarde ontstond was veel groter dan het aantal champignons dat uitgroeide. Het ging om een bijna 50-voudige overmaat (Tabel 1). Op negen dagen na het afventileren werd een maximum in het aantal primordia bereikt op een niveau van 60 000 per m² (Fig 3). Na de negende dag bleef het aantal primordia niet constant maar nam af. Op dat tijdstip waren groeiende knoppen en champignons aanwezig. De gelijktijdigheid van het bereiken van een maximum in het aantal primordia en de aanwezigheid van de eerste groeiende knoppen leidde tot de veronderstelling dat de uitgroei van knoppen de vorming van nieuwe primordia verhindert. Dat na het bereiken van het maximum een daling in het aantal primordia inzette kan mogelijk verklaard worden door het 'leeg zuigen' van rustende primordia door groeiende knoppen die veel 'voeding' vragen aan de myceliumstrengen waaraan ook rustende primordia verbonden kunnen zijn. Het is onbekend hoever de afname van het aantal primordia zich voortzet in de teelt en of het overblijvende aantal uiteindelijk beperkend wordt voor de uitgroei van champignons. De waarnemingen en interpretatie zijn een ondersteuning voor de opvattingen van Flegg (1978) en Tschierpe (1981) dat primordia, in een toereikend aantal voor de gehele teelt, worden geproduceerd in het begin van de teelt.

Bij enkele behandelingen verschenen er tot vier dagen voor de oogst nieuwe knoppen aan het oppervlakte van de dekaarde (Tabel 1, kolom 7). Deze verandering in zichtbare aantallen tot in de periode van uitgroei van de eerste vlucht hingen samen met opruwen. Omdat het wenselijk is om zes à zeven dagen voor de oogst te kunnen voorspellen zal een voorspelling niet uitsluitend gebaseerd kunnen worden op het kwantificeren van de zichtbare primordia en knoppen.

Een bijzonder aspect van de teeltproef was de afhankelijkheid van het oogsttijdstip van de behandeling. Het verschil in tijdstip was bijna twee dagen (Tabel 2). Omdat het niet aannemelijk is dat de champignons op de behandelingen verschillende groeisnelheden hadden, zal het tijdsverschil vroeg in de teelt veroorzaakt zijn. Deze vaststelling betekent dat het vergelijken van behandelingen op één bepaald moment niet bijzonder zinvol is en dat het belangrijk is om met de dynamische aspecten van ontwikkeling en uitgroei rekening te houden.

4.2 Processen primordiovorming en knopuitgroei

Hoe de perioden van primordiovorming en knopuitgroei in elkaar overgaan is onbekend. Het kan echter afgeleid worden uit de resultaten van het onderzoek. De eerste champignons werden geoogst op dag 10. De geoogste aantallen waren nog laag en het ging om champignons die ver uit elkaar stonden. Op dag 11 werden meer champignons geoogst waarbij de indruk gewekt werd dat ze min of meer regelmatig verdeeld stonden over het teeltoppervlakte. Dag 11 kan als de 'werkelijke' eerste oogstdag beschouwd worden. Als het stuksgewicht op dag 11 op 20 gram gesteld wordt en voor de verdubbeling van het gewicht van champignons 18 uur wordt aangehouden, kan berekend worden dat er knoppen met een stuksgewicht van 1 gram, ongeveer 10 mm in doorsnede, aanwezig waren op dag 8. Rond dag 8 werd de periode van de primordiovorming afgesloten (Fig 3). Het verloop van de primordiovorming en de uitgroei tot de eerste vlucht wordt schematisch weergegeven in chronologische volgorde Fig 4. In de figuur wordt zichtbaar dat de perioden van primordiovorming en uitgroei elkaar opvolgen in plaats van sterk met elkaar overlappen.

Fig 4. Periode van primordiavorming tot aan dag negen en periode van vlucht uitgroei vanaf dag acht.

tijd, dagen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
	start afventileren								maximum aantal primordia						
primordia vorming															
uitgroei															
								eerste 10 mm knoppen		eerste oogstdag		gemiddelde oogstdag			

Vergelijking van de ontwikkelingsprocessen met de teeltfasen die in de praktijk worden aangehouden leidt tot de vaststelling dat in de teelt wordt ingespeeld op de primordiavorming, namelijk door afventileren, maar dat er niet, of slechts zeer beperkt, wordt ingespeeld op de overschakeling van primordiavorming tot knopen vluchtuitgroei. Het is onbekend of er mogelijkheden zijn om het proces van primordiavorming na het bereiken van een gewenst niveau te laten stoppen of om het proces korter of langer te laten duren. Het is aannemelijk dat er nog een proces voorafgaat aan de primordiavorming. Voor deze aanname spreekt praktijkkennis dat aard en hoeveelheid mycelium op de dekaarde bij het afventileren samenhangt met het oogsttijdstip van de eerste vlucht. Bestaande gegevens van PPO-Paddestoelen bevestigden dit. Uit de gegevens was een duidelijk verband af te leiden tussen de beoordeling van de myceliumgroei op de dekaarde op het moment van afventileren en het oogsttijdstip (Bijlage 2). Een interpretatie van het verband is dat het mycelium in de dekaarde een bepaalde mate van dichtheid en samenhang moet hebben voordat de primordiavorming kan beginnen. Is de samenhang er nog niet dan wordt de primordiavorming uitgesteld tot het moment dat de samenhang ontstaan is. Iets dergelijks is vroeger aangetoond voor de geschiktheid van doorgroeide compost om dekaarde te kunnen koloniseren. Ook in dat geval was volledige doorgroei, van de compost, een voorwaarde (Straatsma *et al.* 1991). Er is een andere interpretatie mogelijk. Het tot stilstand komen van de myceliumgroei in de dekaarde en de primordiavorming worden met elkaar in verband gebracht (Flegg & Wood 1985, Van Gils 1987, Noble *et al.* 2003), maar het is onduidelijk of er een functioneel verband tussen beide bestaat. Het is denkbaar dat het tot stilstand komen van de myceliumgroei in de dekaarde een voorwaarde is voor primordiavorming. De mate van doorgroeiing van de dekaarde kan een indicatie zijn voor de tijd die nodig is om de myceliumgroei tot stilstand te laten komen en de primordiavorming te laten beginnen.

De overgang van de vorming van primordia naar hun uitgroei, zeven à acht dagen na het afventileren, vindt plaats zes à zeven dagen voor de oogst. Bij de start van het project werd uitgegaan van de ervaringskennis van champignonkwekers dat bijsturing van de knopvorming mogelijk is tot zes à zeven dagen voor de oogst. Op dat tijdstip zou een goede voorspelling van de ontwikkeling van de eerste vlucht mogelijk moeten zijn zodat afwijking van de gewenste ontwikkeling bijgestuurd kan worden. Bovengaande analyse zet de overgang van vorming naar uitgroei van primordia tot knoppen centraal. Tijdens deze overgang, of nog daarvoor, moeten de voorspellende waarnemingen worden gedaan en moeten bijsturingsmogelijkheden aangrijpen.

4.3 Mogelijkheden geautomatiseerde beeldanalyse

De in de teeltproef gedane waarnemingen werden besproken met beeldspecialisten. Zij gaven aan dat de gemaakte fotografische opnamen niet direct geanalyseerd kunnen worden met zelflerende software en/of met 'fuzzy' logic. Zonder inhoudelijke voorkennis van beelden bevatten beelden alleen enorme aantallen pixels waarvan rekenkundige bewerking geen zin heeft. De beeldspecialisten maakten duidelijk dat er voor geautomatiseerde analyse van te voren een goede indruk dient te bestaan over de relevante informatie in beelden, in dit geval over de knopvorming en de ontwikkeling van de eerste vlucht. Alleen op basis van deze voorkennis kunnen computeralgoritmes, software hulpmiddelen, gekozen en/of ontwikkeld worden voor automatische beeldanalyse.

Het onderscheiden van het primordium- en knopstadium op de foto's (Fig 1) was bij het gebruikte oplossende vermogen niet eenvoudig. Het is denkbaar dat het maken van onderscheid eenvoudiger is bij

een groter oplossend vermogen. De resultaten (Tabellen 1 en 2, Fig 3) maken duidelijk hoe belangrijk de dynamische aspecten van primordiovorming en knopuitgroei zijn. De beeldspecialisten adviseerden om in een vervolgonderzoek meer aandacht te besteden aan de veranderingen, de dynamiek, van het teeltoppervlak vroeg in de teelt. Zij stelden voor een serie opnamen in de tijd, met een frequentie in de orde grootte van enkele uren, in plaats van een dag, te maken. Het 'afdraaien' van opeenvolgende foto's in een 'filmpje', kan bijdragen aan een betere herkenning. Door opnamen met elkaar te vergelijken, en dat zou vrij eenvoudig automatisch kunnen, kunnen kleine, zich snel ontwikkelende objecten, zoals groeiende primordia, herkend worden. Precies deze informatie kon onvoldoende uit de gemaakte foto's in de proefteelt worden afgeleid.

De ontwikkeling van een prototype van een monitor bestaat uit de volgende stappen:

- de beeldanalyse-specialist selecteert software hulpmiddelen, algoritmes, voor automatische beeldanalyse op basis van de ervaringen die werden en worden opgedaan met de (semi)-handmatige beeldanalyse.
- de geselecteerde algoritmes dienen getest en aangepast te worden.
- de procedures voor beeldopnamen en de algoritmes voor beeldanalyse dienen te worden geëvalueerd.

Door het maken van de fotoseries in de tijd en het tellen van de primordia en knoppen op de foto's is duidelijk geworden hoe dynamisch de periode rond de knopvorming is. Ook is duidelijk geworden dat er in deze periode ten minste drie opeenvolgende ontwikkelingsprocessen te onderscheiden zijn. Deze kennis is belangrijk, zo niet essentieel, bij de ontwikkeling van een monitor voor knopvorming.

5 Conclusies

Uit het onderzoek kan het volgende worden geconcludeerd:

- Er zijn ten minste drie opeenvolgende ontwikkelingsprocessen te onderscheiden bij de groei van champignons.
 - stap 1: het ontstaan van samenhang in het mycelium in de dekaarde en / of het tot stilstand komen van de myceliumgroei in de dekaarde. Het laat tot stand komen van deze stap leidt tot oogstvertraging.
 - stap 2: de periode van primordiavorming. Het aantal primordia dat gevormd wordt is veel groter dan het aantal champignons dat in de teelt uitgroeit. De periode van primordiavorming wordt afgesloten op het moment dat knoppen en champignons van de eerste vlucht uitgroeien.
 - stap 3: de periode van uitgroei van knoppen en champignons in vluchten.
- Tot vier dagen voor de oogst zijn grote veranderingen mogelijk in het aantal zichtbare knoppen op het oppervlakte van de dekaarde. Een monitor voor knopvorming dient zes à zeven dagen voor de oogst het oogstverloop te kunnen voorspellen. Een monitor zal niet uitsluitend gebaseerd kunnen worden op het kwantificeren van de zichtbare primordia en knoppen. Er lijken twee mogelijkheden om dit potentiële knelpunt aan te pakken. Enerzijds kan een monitor wellicht 'geijkt' worden voor specifieke teeltwijzen. Anderzijds zou een monitor een aanvullend kenmerk dienen waar te nemen zoals de dynamiek van het zichtbare aantal primordia.
- Op een enkele opname kan niet eenduidig herkend worden welke primordia in rust zullen blijven en welke primordia zich zullen doorontwikkelen tot knoppen.
- Met een enkele opname, een statisch beeld, kan de teelt voor zover nu bekend niet worden gekarakteriseerd en kan het oogstverloop niet worden voorspeld. Met een serie beelden in de tijd, dynamische beelden, zijn niet alleen de statische kenmerken te analyseren maar zijn ook veranderingen in de tijd te analyseren waaruit aanvullende, nieuwe, kenmerken kunnen worden afgeleid.
- Voor geautomatiseerde beeldanalyse met een monitor voor knopvorming is kennis over de in beelden van knopvorming aanwezige informatie noodzakelijk. Het gaat hierbij over de herkenning van de vroege ontwikkelingen in het mycelium in de dekaarde die tot knopvorming en uitgroei van champignons leiden.
- De verzamelde gegevens over het aantal primordia in de dekaarde suggereren dat een deel van de primordia verdwijnt vanaf het moment dat knoppen van 10 mm doorsnede ontstaan en uitgroeien. De afname wordt mogelijk veroorzaakt door de onttrekking van voedingsstoffen uit de primordia, 'leegzuigen', door uitgroeierende champignons.

6 Suggesties voor ontwikkeling en onderzoek

Deze studie heeft een goede basis gelegd om met de ontwikkeling van een monitor voor knopvorming door te gaan.

Kennis over de ontwikkeling van mycelium tot groeiende champignons

Het ontwikkelen van meer kennis over de ontwikkeling van mycelium tot groeiende champignons zal leiden tot een betere herkenning van de opeenvolgende ontwikkelingsstappen en de factoren die daarop invloed hebben. Deze kennis is van direct belang voor de ontwikkeling van een monitor maar kan ook op andere manieren gebruikt worden. Bijvoorbeeld: de opeenvolgende processen van het ontstaan van samenhang in het mycelium in de dekaarde en/of het tot stilstand komen van de myceliumgroei in de dekaarde, de primordiavorming en de uitgroei worden in de teelt niet afzonderlijk aangestuurd. Meer kennis zou kunnen leiden tot nieuwe en goed gefundeerde manieren om de uitgroei te beïnvloeden en te sturen.

Dynamische beelden voor verbetering informatie

Om de opeenvolgende processen die tot uitgroei leiden beter te herkennen en te kwantificeren is het noodzakelijk om beeldopnamen te maken met een frequentie van meerdere malen per dag. Het kan van belang zijn om dergelijke dynamische beelden op meerdere niveaus van vergroting te analyseren. De uitwerking van dynamische beelden kan in overleg met een beeldanalyse-specialist in eerste instantie met (semi)-handmatige beeldanalyse worden uitgevoerd. Dynamische veranderingen in de beelden kunnen worden opgespoord zodat de extractie van informatie uit de beelden verbeterd. Dit is van direct belang voor de ontwikkeling van een monitor.

Opzetten van database voor 'ijking' van monitor

Dynamische beeldopnamen op praktijkbedrijven van de vroege knopvorming kunnen verzameld worden in een voorlopige database. In deze database kunnen ook de klimaatgegevens van de desbetreffende teelten worden verzameld. De database kan een belangrijke bron van gegevens zijn bij de 'ijking' en toepassing van een monitor bij een individueel, specifiek, bedrijf.

Dankwoord

Bij de uitvoering van het project was er overleg met een begeleidingscommissie bestaande uit Wiel Clabbers, Paul van de Berg, John Ebben, Niek Franzmann en Hans Vogelzangs. Graag bedank ik de leden van de commissie voor hun inbreng. Dr.Ir. Jacqueline Baar bedank ik graag voor kritisch commentaar op het concept van dit rapport en voor suggesties voor verbeteringen en aanvullingen.

Literatuur

- Atkinson G F. 1906. The Development of *Agaricus campestris*. *The Botanical Gazette*, 42, 215-221.
- Craig GD. 1979. Morphogenesis in *Agaricus bisporus*. PhD Thesis, University of Kent, Canterbury.
- Flegg PB. 1978. Effect of temperature on sporophore initiation and development in *Agaricus bisporus*. *Mushroom Science* 10(1), 595-602.
- Flegg PB & Wood DA. 1985. Growth and fruiting. In *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Eds Flegg PB, Spencer DM, Wood DA. Wiley. pp 141-177.
- Heckman CA, Pelok SD, Kimpel SA & Wu LC. 1989. Scanning electron microscope studies on fruitbody primordium formation in *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 81, 717-727.
- Hein I. 1930a. Studies on the mycelium of *Psalliota campestris*. *American Journal of Botany* 17, 197-211.
- Hein I. 1930b. Studies on morphogenesis in *Agaricus (Psalliota) campestris*. *American Journal of Botany* 17, 882-915.
- Levine M. 1922. The origin and development of lamellae in *Agaricus campestris* and in certain species of *Coprinus*. *American Journal of Botany* 9, 509-533.
- Moore D. 2005. Principles of mushroom developmental biology. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 7, 79-101.
- Noble R, Fermor TR, Lincoln S, Dobrovin-Pennington A, Evered C, Mead A & Li R. 2003. Primordia initiation of mushroom (*Agaricus bisporus*) strains on axenic casing materials. *Mycologia* 95, 620-629.
- Straatsma G, Gerrits JPG, Gerrits TM, Op den Camp HJM & Van Griensven LJLD. 1991. Growth kinetics of *Agaricus bisporus* mycelium on solid substrate (mushroom compost). *Journal of General Microbiology* 137, 1471-1477.
- Tschierpe HJ. 1981. Cultural practice from casing to cropping. *Mushroom Science* 11(1), 463-494.
- Umar MH & Van Griensven LJLD. 1997a. Morphogenetic cell death in developing primordia of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 89, 274-277.
- Umar MH & Van Griensven LJLD. 1997b. Hyphal regeneration and histogenesis in *Agaricus bisporus*. *Mycological Research* 101, 1025-1032.
- Umar MH & Van Griensven LJLD. 1997c. Morphological studies on the life span, developmental stages, senescence and death of fruit bodies of *Agaricus bisporus*. *Mycological Research* 101, 1409-1422.
- Umar MH & Van Griensven LJLD. 1998. The role of morphogenetic cell death in the histogenesis of the mycelial cord of *Agaricus bisporus* and in the development of macrofungi. *Mycological Research* 102, 719-735.
- Umar MH & Van Griensven LJLD. 1999. Studies on the morphogenesis of *Agaricus bisporus*: the dilemma of normal versus abnormal fruit body development. *Mycological Research* 103, 1235-1244.
- Van Gils JJ. 1987. De teelt. In *De teelt van champignons*. Ed Van Griensven LJLD. CNC. Pp 267-314.
- van Loon PCC, Sonnenberg ASM, Swinkels HATI, van Griensven LJLD & van der Heijden GWAM. 1995. Objective measurement of developmental stage of white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Mushroom Science* 14, 703-708.
- van Loon PCC. 1996. Het bepalen van het ontwikkelingsstadium bij de champignon met computer beeldanalyse. *Champignoncultuur* 40, 347-353.
- Wood DA, Craig GD, Atkey PT, Newsam RJ & Gull K. 1985. Ultrastructural studies on the cultivation processes and growth and development of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Food Microstructure* 4, 143-164.

Bijlage 1. Primordia, knoppen en champignons

Beschrijvingen van Umar & Van Griensven (1997- 1999) over de ontwikkeling van primordia, knoppen en champignons werden bij elkaar gebracht en overzichtelijk samengevat. Umar & Van Griensven beschreven ontwikkelingsstappen in uitgerepareerd en microscopisch onderzocht materiaal. De verschillende ontwikkelingsstappen worden samengevat in Tabel 3. De ontwikkelingsstappen worden verduidelijkt met Figuren 5 t/m 7. Primordia konden gedefinieerd worden als kleine myceliumklompjes aan strengen waaraan nog geen verdere ontwikkeling te herkennen was. Knoppen konden worden gedefinieerd als myceliumklompjes die meestal iets groter waren en waaraan een beginnend onderscheid tussen hoed en steel te zien was doordat het myceliumklompje een insnoering tussen een bovenste en onderste deel liet zien.

Tabel 3. Overzicht van ontwikkelingsstadia van mycelium tot veroudering van vruchtlichamen. Afgeleid uit Umar & Van Griensven (1997-1999).

stadium	dag	
1		witte hyfen
2		strengen
3	0-2	primordia, tot 6 mm
4	2-4	aanzet orgaanvorming
5	4-9	weefsels, sporevorming (gesloten vlies)
6	9-18	openen, volledige uitgroei, sporenruï
7	18-36	veroudering (inscheuringen, verslappen)

Fig 5: Stadium 2, strengen in dekaarde; Umar & Van Griensven (1998) Fig 5: "Following the application of the casing soil on the full-grown compost, ascending mycelial cords are formed. They are frequently interconnected. Scale bar, 10 mm".

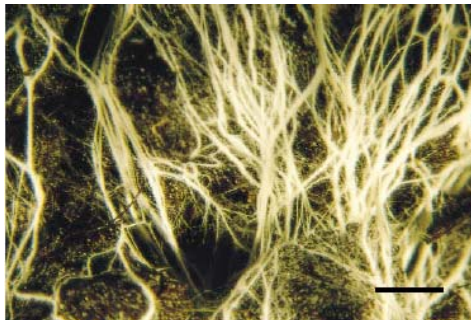


Fig 6: Stadium 3, primordium; Umar & Van Griensven (1997b) Fig 14: "Mycelial cord and a 2 mm tall primodium of *A. bisporus* covered by fluffy white hyphae. Scale bar, 0.3 mm".

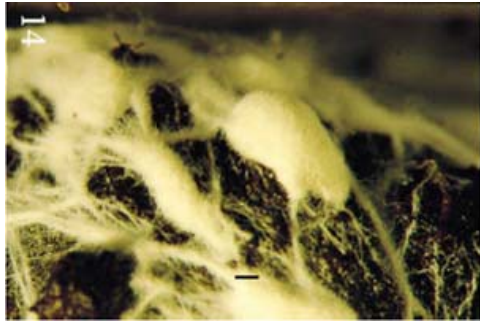
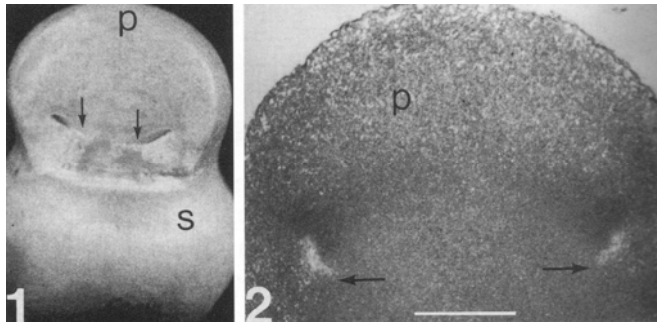


Fig 7. Stadium 4, knop; Umar & Van Griensven (1997a) Fig's 1 and 2: "Gross anatomical and histological appearance of growing primordia. A 8.0 mm tall primodium clearly showing the stipe and pileus. The latter is cut vertically to demonstrate the internal structures. Arrows indicate the stipo-hymenial junction".



Bijlage 2. Relatie dekaarde-ingroei bij afventileren en oogsttijdstip

PPO-Paddestoelen beschikt over gegevens die geschikt zijn om de samenhang tussen ingroei en oogsttijdstip getalsmatig te beschrijven. In een teeltproef was het mycelium op de dekaarde bij het afventileren beoordeeld op een schaal van 1 tot 10. De champignons waren in de proef volgens een strak protocol met de hand geoogst zodat het gemiddelde oogstmoment berekend kon worden, het 'gewogen' oogstmoment. De mate van myceliumkolonisatie van het oppervlakte van de dekaarde bij het afventileren had een voorspellende betekenis voor het tijdstip van verschijnen van de eerste vlucht (Fig 7). Hoe vollediger het oppervlakte van de dekaarde gekoloniseerd was hoe vroeger de vlucht kwam. Het ging hierbij om de aanwezigheid van mycelium op het grote geheel van het oppervlakte en minder om de hoeveelheid en/of dichtheid van het mycelium pleksgewijs. Fig 8 laat zien dat relatief kleine beoordelingsverschillen gekoppeld waren met een verschuiving in het oogsttijdstip van een halve tot een hele dag.

Fig 8. Relatie tussen de kolonisatie van het mycelium op de dekaarde bij het afventileren, beoordeeld op een schaal van 1 tot 10, en het 'gewogen' oogstmoment van de eerste vlucht.

