

Smart Ziekzoeker 2015

Detectie van virus- en bacteriezieke pootaardappelen met behulp van vision- en sensortechnologie

Jan Kamp, Pieter Blok, Gerrit Polder, Jan van der Wolf, Henk Jalink



WAGENINGENUR

For quality of life

Smart Ziekzoeker 2015

Detectie van virus- en bacteriezieke pootaardappelen met behulp van vision- en sensortechnologie

Auteurs

Jan Kamp¹, Pieter Blok², Gerrit Polder³, Jan van der Wolf⁴, Henk Jalink⁵

1 PPO – AGV

2 PRI – Agrosysteemkunde

3 PRI – Glastuinbouw

4 PRI – Bio-interacties

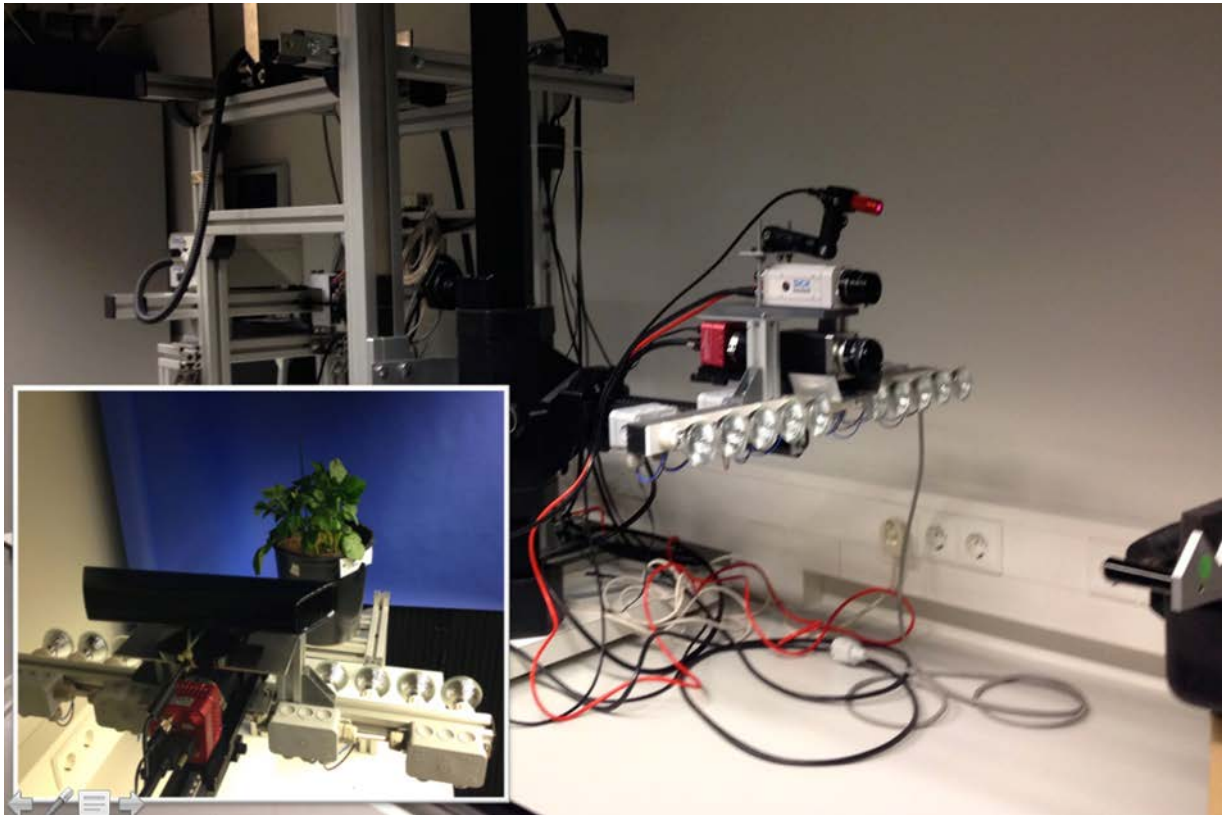
5 PhenoVation

Wageningen UR is een samenwerkingsverband tussen Wageningen Universiteit en Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek.

Wageningen, maand 2016

PPO/PRI-rapport 703

Jan Kamp, Pieter Blok, Gerrit Polder, Jan van der Wolf, Henk Jalink, 2016. Smart Ziekzoeker 2015 . Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek. Research Institute Praktijkonderzoek Plant & Omgeving / Plant Research International, Wageningen UR (University & Research centre), PPO/PRI-rapport 703.



© 2016 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, Research Institute Praktijkonderzoek Plant & Omgeving/Plant Research International, Postbus 430, 8200 AK Lelystad; T 0320 29 11 11; www.wageningenur.nl

KvK: 09098104 te Arnhem
VAT NL no. 8113.83.696.B07

Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO). Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeveelvoudigd, 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 DLO.

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

PPO/PRI-rapport 703

Inhoud

Samenvatting	5
1 Inleiding	7
2 Proefuitvoering	9
2.1 Doel van de proef	9
2.2 Opzet van de proef	9
2.3 Spectrale metingen	11
2.4 Chlorofylfluorescentie metingen	14
2.5 Thermische camera	15
2.6 3D technologie	17
2.7 Force-A	18
3 Resultaten	21
3.1 Spectrale virus detectie	21
3.2 Chlorofylfluorescentie virus detectie	22
3.3 Spectrale Erwinia detectie	25
3.4 Chlorofylfluorescentie Erwinia detectie	26
3.5 Thermische camera	29
3.6 3D techniek	36
3.7 Force-A techniek	39
4 Conclusies, discussie en aanbevelingen	41
Literatuurlijst	45
Bijlage 1 Overzicht van plantmetingen (per datum) en bijbehorende expertbeoordelingen van ziektebeelden	47
Bijlage 2 Resultaten van virus-zieke planten	49

Samenvatting

Virus- en bacterieziekten vormen één van de grootste problemen in de pootaardappelteelt. Eenmaal aangetroffen in het veld kunnen viruszieke (Y-virus) en Erwinia zieke aardappelen leiden tot afkeuringen van partijen pootgoed met een financiële schade tot gevolg. De directe schade door Erwinia aandoeningen bedraagt voor de pootgoedtelers jaarlijks ca. € 12 miljoen.

De huidige detectie van ziek pootgoed vindt plaats door menselijke selecteurs. Jaarlijks wordt er in Nederland voor ongeveer € 6.5 miljoen aan kosten gemaakt voor handmatige selectie om de ziektedruk op het veld onder controle te houden. Veel schade ontstaat doordat de ziekte niet in een vroeg stadium wordt ontdekt. Daarom bestaat er de behoefte naar een snelle en adequate ziektedetectie. Een vroege detectie van zieke planten met moderne vision technieken kan de kosten voor selectie flink drukken. De nadruk ligt hierbij op de detectie van Erwinia, gezien de grote financiële schade.

Na een voorloopproject in 2010 en 2011 is het onderzoek in 2015 gericht op een brede(re) verkenning van mogelijk geschikte technieken voor de herkenning van Erwinia en virus zieke planten. De gebruikte technieken en ervaringen daarmee zijn als volgt:

1. Spectrale camera techniek

Voor het onderzoek is gebruikt gemaakt van een hyperspectraal camera (193 banden van 3 nm) in een opstelling, die scans maakt van de zijkant van de plant, om zodoende zowel de onderste als de bovenste delen van de plant te kunnen analyseren. Als onderdeel van het onderzoek is ook geanalyseerd of op eenvoudige wijze pixels van blad en stengel te onderscheiden zijn (voor Erwinia waarschijnlijk relevant). Dit blijkt eenvoudig te zijn door een lineaire classifier te trainen op het reflectiespectrum.

Viruszieke planten blijken goed vroegtijdig te herkennen te zijn. De resultaten zijn in de eerste meetweek gelijk aan de score van de gewas expert. Pixels uit de bladeren dragen iets meer bij aan het resultaat dan pixels uit de stengel. Bovendien blijken pixels uit het onderste deel van de plant beter resultaat te geven dan pixels die hoger in het gewas liggen.

Detectie van Erwinia blijkt heel moeilijk te zijn. Belangrijkste reden is dat de symptomen heel lokaal zijn, zoals verwelking van top bladeren, zwartbenigheid in het onderste deel van de stengel. De analyse is gedaan op een random selectie van blad en stengel pixels van de hele plant. In het vervolg onderzoek moet veel specifiekere naar verschillende plantonderdelen gekeken worden en gezocht worden naar discriminerende criteria die het mogelijk maken om pixels te selecteren op plekken die ertoe doen.

2. Chlorofyl Fluorescentie techniek

De meetresultaten met de chlorofylfluorescentie methode zijn op hoofdlijn vergelijkbaar met die van de spectrale techniek, zowel voor viruszieke als Erwinia zieke planten. Een voorwaarde voor dit resultaat is dat de planten geadapteerd moeten zijn aan een laag niveau van licht (bij voorkeur minimaal een half uur). Dit is een probleem voor meten in de praktijk situatie: alleen 's nachts meten met een zieke robot is vooralsnog geen reële optie. Dit is de reden om deze techniek, die niet wezenlijk beter "presteert" dan (hyper)spectraal opnames, vooralsnog niet verder mee te nemen in het onderzoek.

3. Thermische camera

De hypothese dat verwelkende Erwinia planten uit het veld een groter temperatuurverdeling laten zien binnen de plant blijkt juist. Bij een van de experimenten bleek dat planten die zijn opgegroeid in de proefruimte geen temperatuurverschil tussen Erwinia zieke en gezond laten zien. Bij jonge planten die met Erwinia geïnfecteerd zijn laten de onderste en oudere bladeren een verstoorde bladafkoeling / wateropname zien in vergelijking met de gezonde planten.

De verschillen zijn meetbaar in een geconditioneerde omgeving. In absolute zin zijn de verschillen in bladtemperatuur klein, zodat bij een vertaling naar een praktijktoepassing temperatuurreacties van een plant in buitencondities sterker gerelateerd zullen zijn aan zonstraling, temperatuurwisselingen, luchtvochtigheid en bodemvocht dan aan plant-infecties. Daarnaast vraagt de techniek real-time dataloggings en zijn beeldcorrecties nodig. Dit maakt het minder kansrijk om deze techniek in te zetten in een praktijkomgeving, zeker niet als leidende (discriminerende) techniek, hoogstens als een ondersteunende.

4. 3D techniek

Deze techniek is niet toegepast op virus besmette planten omdat het virusziek minder invloed heeft op de groei en groeisnelheid van een plant dan bij Erwinia zieke planten. De experimenten met de 3D camera tonen aan dat het plantoppervlak en de groeisnelheid bij Erwinia geïnfecteerde planten, bepaald uit het kleurenbeeld, significant kleiner is dan die van gezonde planten. Daarbij blijken de Erwinia geïnfecteerde planten minder compact zijn dan gezonde planten. Per saldo heeft een Erwinia geïnfecteerde plant een significant kleiner volume dan een gezonde plant.

Met een 3D camera met additionele kleurbeelden kan goed onderscheid gemaakt worden tussen Erwinia ziek en gezond, mits dit gebeurt over een tijdreeks. De techniek lijkt geschikt voor ziekzoekers, mits een groeiachterstand tijdig in het groeiseizoen kan worden vastgesteld. Dit dient nader verkend te worden.

5. Force-A techniek

Force-A beschikt over een 2 typen handmeters, die veel in de druiventeelt worden ingezet voor de detectie van meeldauw aantasting en rijpheid van de druif. Uit een 1 op 1 vertaling naar Erwinia detectie komt naar voren dat deze technieken geen onderscheidend vermogen tussen Erwinia zieke en gezonde planten als het gaat om de chlorofyl index en de flavonolen.

Een nadeel van de Force-A sensoren is dat zij zogenoemde spotmetingen doen en omdat ze niet beeldvormend (niet de hele plant wordt gemeten) worden mogelijk zieke plekken gemist. De huidige MX-330 en MX-375 zijn in de huidige uitvoering contactsensoren en dus minder geschikt voor veldmetingen.

In deze vorm zijn Force-A sensoren niet zinvol inzetbaar. De basis van de Force-A benadering is het zoeken naar specifieke afbraakproducten die te detecteren zijn. Dit vraagt om een nadere analyse van afbraakstoffen van de Erwinia bacterie en te verkennen of hiervoor een meetmethode te ontwikkelen is. Dit maakt deze techniek minder passend in het lopende project.

Het project heeft in 2016 de volgende focus:

- Verdere verdieping van de spectraal- en de 3D technieken, waarbij voor een betere statistische betrouwbaarheid een groter aantal planten doorgemeten zal worden.
- Veel energie richt zich op het beter herkennen van Erwinia. Hierbij zal een verband gezocht worden tussen gemeten kenmerken en de aanwezigheid van de Erwinia bacterie. Met andere woorden, er zal vooral naar afwijkende planten met secundaire kenmerken (verkleuring van het top blad, achtergebleven groei, krinkel, chlorose en necrose zwartbenigheid) en op de relevante plekken pixels geselecteerd voor ziekteherkenning.
- Op basis van de hyperspectraal techniek moet worden gezocht naar een geschikt alternatief in de vorm van een (schuin gerichte) multispectraal camera, die inzetbaar is onder praktijkomstandigheden. Het gaat daarbij om het bepalen van de 5 tot 10 meest onderscheidende banden om op basis daarvan een maatwerk camera te kunnen ontwerpen. De proef in 2016 wordt opnieuw een nieuwe laboratoriumproef, maar in 2017 is een vertaling naar veldomstandigheden gewenst.
- Naast de spectrale kenmerken kunnen, gelet op de wijze waarop ziekten zich presenteren, ook 3D vormkenmerken in de analyse meegenomen worden. Hiervoor is een hoge resolutie 3D camera (range-camera) nodig. Op dit moment is nog niet duidelijk welke camera hiervoor het meest geschikt is en wat de kosten zijn. In 2016 wordt een evaluatie van geschikte 3D technieken uitgevoerd, gevolgd door een aantal initiële tests.

1 Inleiding

Virus- en bacterieziekten, bijvoorbeeld veroorzaakt door Erwinia bacteriën, vormen één van de grootste problemen in de pootaardappelteelt. Eenmaal aangetroffen in het veld kunnen viruszieke (Y-virus) en Erwinia zieke aardappelen leiden tot afkeuringen van partijen pootgoed met een financiële schade tot gevolg. De directe schade door Erwinia aandoeningen bedraagt voor de pootgoedtelers jaarlijks € 12 miljoen (Meijering, 2008). Deze directe schade is onder te verdelen in schade ten gevolge van declassering van poters (€ 5.9 miljoen), afkeuring van poters (€ 5.3 miljoen) en aanschaf van nieuw uitgangsmateriaal (€ 0.8 miljoen). De directe schade door Erwinia bedraagt 3.5% van de omzet van pootaardappelen, ofwel € 1 per 100 kilo pootgoed. Daarnaast bestaat er ook indirecte schade door Erwinia volgens Meijering (2008). Dit kan vooral optreden als afnemers van het pootgoed de kwaliteit van het pootgoed door Erwinia problemen in twijfel gaan trekken. Optelling van de gemiddelde directe schade door Erwinia en de indirecte schade leveren een totaal van ongeveer € 22 miljoen per jaar. Dit komt neer op 6% van de omzet van pootaardappelen of te wel € 1,80 per 100 kilo pootgoed.

Omdat de huidige detectie van ziek pootgoed door menselijke selecteurs vaak plaatsvindt als de ziekte al in een vergevorderd stadium is, bestaat er de behoefte naar een snelle en adequate ziektedetectie, door middel van automatisering. Ter vergelijking: jaarlijks wordt er in Nederland voor ongeveer € 6.5 miljoen aan kosten gemaakt voor handmatige selectie om de ziektedruk op het veld onder controle te houden. Een vroege detectie van zieke planten met moderne vision technieken kan dergelijke kosten flink drukken. De nadruk ligt hierbij op de detectie van Erwinia, gezien de grote financiële schade.

In 2011 heeft PPO-AGV in samenwerking met PRI Biometris een project voor de ontwikkeling van een pootgoed-ziekzoeker uitgevoerd. Het betrof een haalbaarheidsstudie met de volgende vraagstelling: "Is het mogelijk om met moderne vision technieken de symptomen van (latente) Erwinia aantastingen onder veldomstandigheden betrouwbaar te herkennen?" Bij het ontwikkelen van deze techniek is de herkenning van virusziekten meegenomen. De belangrijkste conclusies van de haalbaarheidsstudie waren:

1. viruszieke planten zijn goed herkenbaar met de hyperspectraal techniek. Verbetering is echter nodig omdat nog te veel gezonde planten als ziek worden aangemerkt.
2. voor Erwinia detectie geldt hetzelfde: planten met duidelijk symptomen worden met de hyperspectraal techniek herkend. Opvallend is dat er zieke planten worden gevonden die door de expert niet als ziek herkend zijn (geen symptomen): waar de expert bij 18 van de 61 zieke planten symptomen heeft gevonden, vindt de spectraal camera 33 van de zieke planten. Kennelijk zijn er effecten die voor het menselijk oog onzichtbaar zijn, die wel door de spectraal camera worden opgepikt. Met de Chlorofyl Fluorescentietechniek worden eveneens veel Erwinia zieke planten. Echter, de huidige opstelling geeft in 38% van de gevallen een vals positieve classificatie (onterecht als gezond gemeten).

Op basis van deze meetresultaten en discussies is geconcludeerd worden dat de technieken nog niet rijp zijn om naar de praktijk te brengen. Nader onderzoek is nodig waarbij de volgende perspectieven worden gezien:

- meten in een jong en dus nog open gewas waarbij niet alleen van bovenaf, maar ook vanaf de zijkant (stengels, lager gelegen bladlagen) wordt gemeten. Dit sluit goed aan bij de wens om zo vroeg mogelijk tot detectie van ziekten te komen.
- het classificatieprotocol (hoe ziek en gezond onderscheiden) kan nog verder geoptimaliseerd worden door meer te focussen op relevante delen van de plant.
- het inzetten van zowel de spectraal- als de chlorofylfluorescentie camera voor Erwinia detectie.
- Voor virusziekten tevens een combinatie onderzoeken van spectraal metingen en 3-D metingen.

De bovenstaande ervaringen hebben als basis gediend bij de uitvoering van het voorliggende project. Dit verslag beschrijft de proefresultaten van de detectie van virus- en bacteriezieke pootaardappelen met behulp van diverse technieken waaronder spectrale- en chlorofyl fluorescentie camera's.

2 Proefuitvoering

2.1 Doel van de proef

De proef heeft tot doel om vroegtijdige detectie van virus- en bacteriezieke pootaardappelen mogelijk te maken met diverse digitale technieken (sensoren). Dit betekent dat virus- en bacteriezieke planten periodiek worden gemeten met deze technieken,

In het project is gekozen voor de volgende technieken:

1. Hyperspectrale beeldanalyse
Meting en analyse van spectrale reflectie van 193 banden met bandbreedte van 3 nm per pixel van zieke en niet-zieke planten. Maakt ook bepaling van de meest relevante banden (-breedtes) voor het onderscheid ziek/niet-ziek mogelijk.
2. Chlorophyl fluorescentie
Met deze technologie wordt de efficiency van de fotosynthese gemeten: een zieke plant heeft een lager niveau van fotosynthese. Met de pulsed LED-camera in 300 ms 30 chlorofylfluorescentie beelden opgenomen. Uit deze reeks van beelden wordt een beeld berekend die correleert met de efficiëntie van de fotosynthese.
3. 3D technologie
Met 3D technologie worden opnamen gemaakt van het volume en bladoppervlakte van de plant. Planten die in ontwikkeling achterblijven zijn verdacht.
4. Thermische cameratechnologie
Met een thermische camera kunnen temperatuurverschillen tussen verschillende plantdelen zichtbaar worden gemaakt. Zieke planten of planten met een vorm van stress zijn minder goed in staat om de temperatuur te reguleren.
5. Force-A technologie
Het principe hiervan is om met multispectraal metingen de herkenning van chlorofyl en afbraakstoffen (zoals polyphenolen en flavonolen) mogelijk te maken.

Alle genoemde technieken zijn in staat om planten van pootaardappelen te inspecteren op een niet-destructieve manier.

2.2 Opzet van de proef

In 2011 was het noodzakelijk om te kiezen voor planten die in de kas zijn opgegroeid (in potten). Omdat het kasklimaat de plantontwikkeling sterk beïnvloedt, is in 2015 wel gekozen voor oppotten en daarnaast voor opkweken in de buitenlucht. De knollen zijn in 2 fasen (de helft van de Erwinia besmette planten is 2 weken later opgepot) gepoot in kleigrond en de potten zijn regelmatig geïrrigeerd. Het late en koude voorjaar heeft de plantontwikkeling vertraagd, waardoor de later het ontwikkelstadium bereikten om met het meten te kunnen starten. De metingen aan de Erwinia besmette planten zijn daardoor vooral aan de 1^e serie planten gedaan. Pas in juli zijn een beperkt aantal planten met symptomen geselecteerd uit de 2^e serie.

Onderstaand het aantal besmette planten met *Dickeya solani* dat beschikbaar was voor de metingen. De Erwinia knollen zijn geïnoculeerd met respectievelijk 10^6 en 10^7 *Dickeya* (stam 222) cellen/ml. Alle planten zijn beoordeeld op eventuele ziektebeelden op de momenten dat er met camera's naar gekeken is. Tevens zijn de planten na afloop bemonsterd en uitgeplaat, zodat objectief vastgesteld is

of er sprake was van besmetting. Uit tabel 1 blijkt 21 van de 44 planten niet geïnfecteerd bleken te zijn; 9 waren wel besmet, maar gaven geen ziektebeeld. De overige 14 planten lieten wel een ziektebeeld zien. Er is geen duidelijk aanwijzing voor het relatief lage aantal besmette planten. In bijlage 1 zijn per plantnummer de meetmomenten, wijze of type infectie weergegeven.

Tabel 1. **Overzicht van *Erwinia* besmette aardappelplanten (*Dickeya solani*) met en zonder ziektebeeld (aantal en type ziektebeeld).**

Progress of disease	N	Plant
Noninfected	21	22, 23, 25, 28, 33, 34, 35, 38, 39, 42, 43, 45, 47, 50, 53, 54, 55, 57, 59, 94, 113
Latently infected	9	24, 27, 40, 44, 48, 49, 51, 52, 58
Internal discoloration	5	21, 26, 36, 37, 41
Symptomatic, wilting	7	29, 30, 32, 46, 56, 87, 89
Symptomatic, blackleg	1	31
Symptomatic, stem rot	1	103

Idem voor de viruszieke planten:

Tabel 2. **Overzicht van virus besmette aardappelplanten met en zonder ziektebeeld (aantal en type ziektebeeld).**

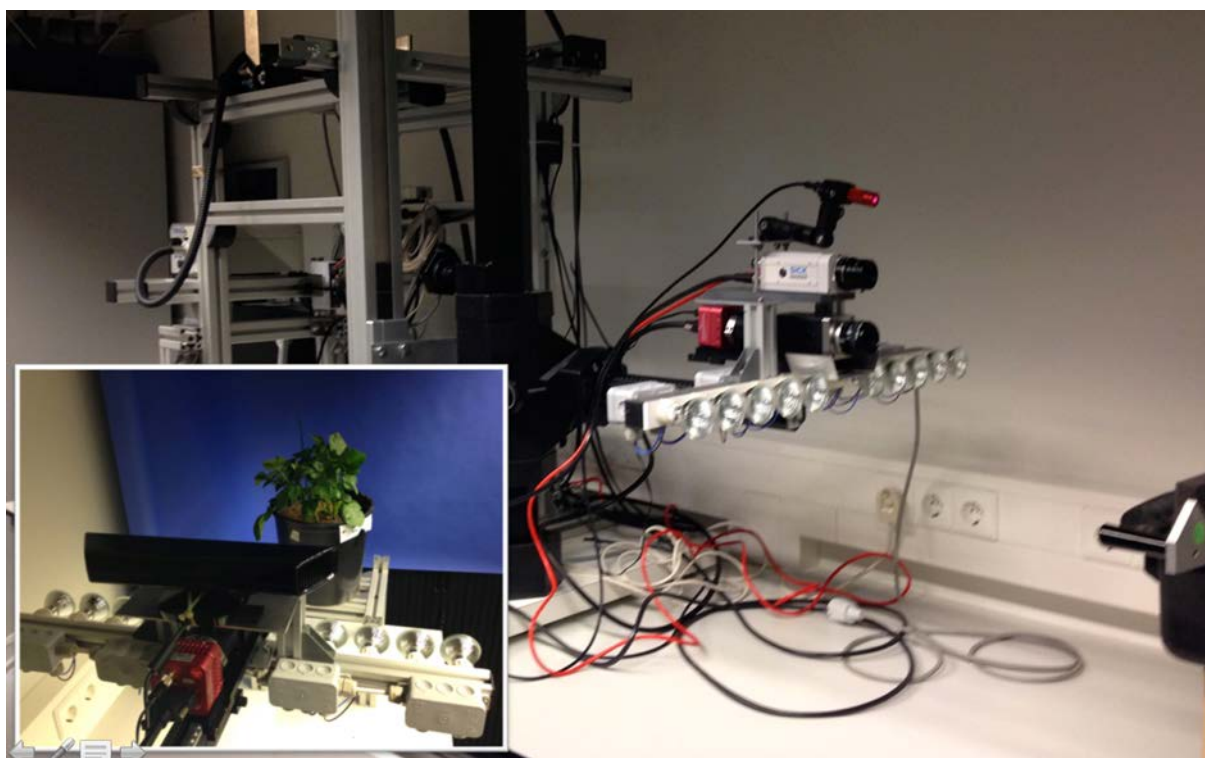
Virus	Symptom	N	Plant
PVS	Necrotic lesions on leaves	1	138
PAMV	Yellow blotching of leaves	3	139, 140, 141
PLRV	Leaf roll	3	142, 143, 144
PVA	Crinckling and mottling	1	146
PVV	Crinckling and mottling	3	148, 149, 150
PVY	Crinckling and mottling	4	151, 156, 158, 161

2.3 Spectrale metingen

Spectrale metingen zijn uitgevoerd (zie ook bijlage 1) in het volgende schema:

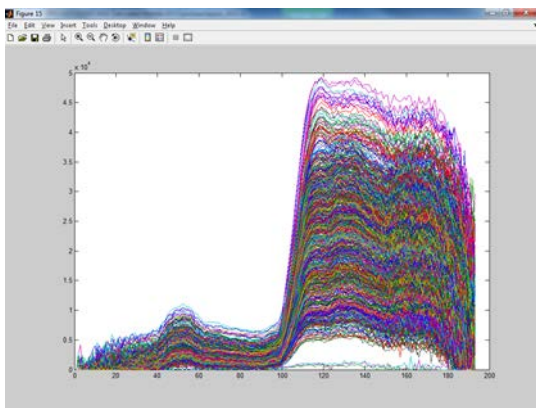
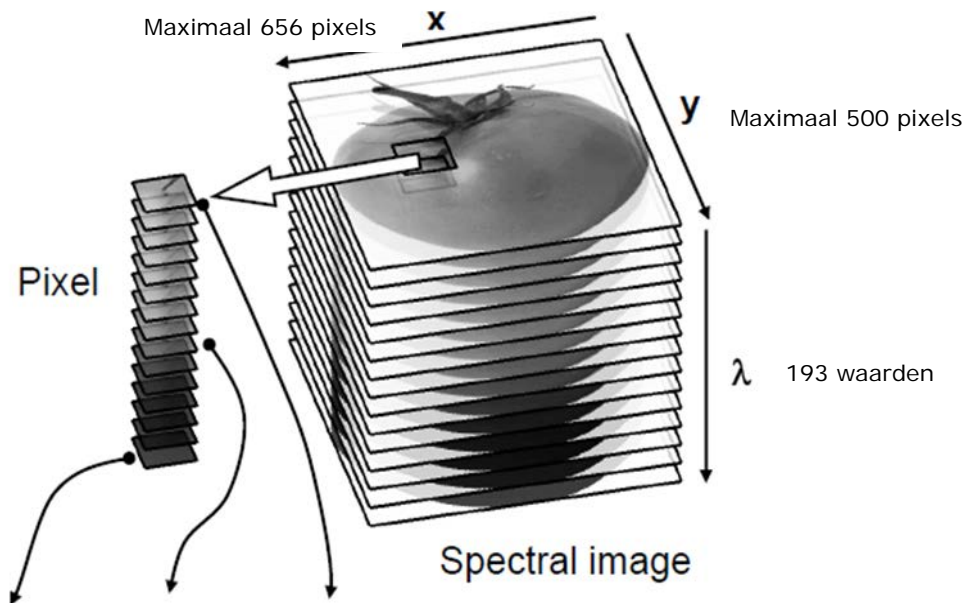
Erwinia besmette planten	Viruszieke planten
19-06-2015 -- 30 planten	16-06-2015
23-06-2015 -- 29 planten	24-06-2015
26-06-2015 -- 30 planten	01-07-2015
30-06-2015 -- 29 planten	
03-07-2015 -- 36 planten	
07-07-2015 -- 36 planten	
10-07-2015 -- 13 planten	
15-07-2015 -- 13 planten	
17-07-2015 -- 13 planten	

De meetopstelling was zo ingericht dat de spectrale camera via een instelbare stappentafel langs de pootaardappelen (opgekweekt in potten) bewogen werd om de planten van de zijkant te scannen. Er is hiervoor gekozen om zo het meetobject (de aardappelen) stil te laten staan en zo schommeling en beweging van de bladeren te voorkomen.



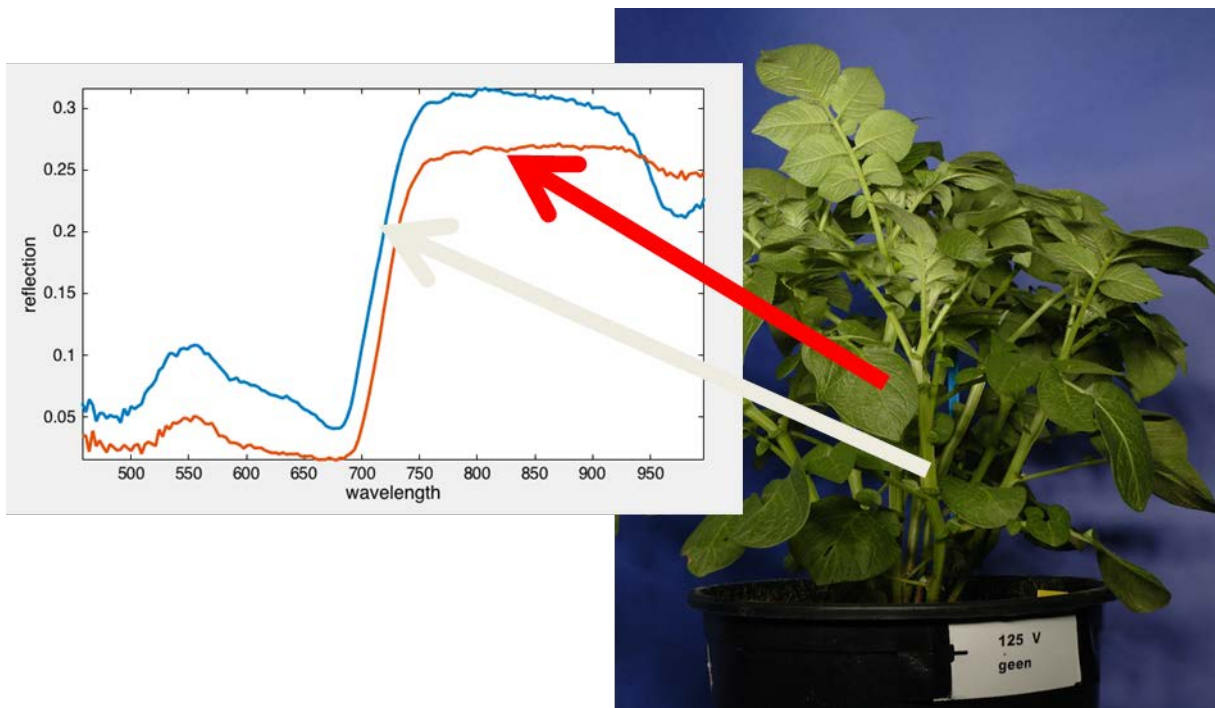
Figuur 1. De meetopstelling van de spectrale beeldanalyse.

De aardappelplanten zijn vanaf de zijkant gescand. Van alle planten is het reflectiespectrum beeldvormend gemeten tussen 400 en 1000 nm. Dit spectrum bevat het zichtbare licht (400 tot 700 nm) en het nabij-infrarode licht (700 tot 1000 nm). Laatstgenoemde ligt buiten de menselijke perceptie. Elke pixel bestaat zo uit een spectrum van 193 waarden (Figuur 1) met een golflengteverschil tussen opeenvolgende waarden van 3 nm (spectrale resolutie).



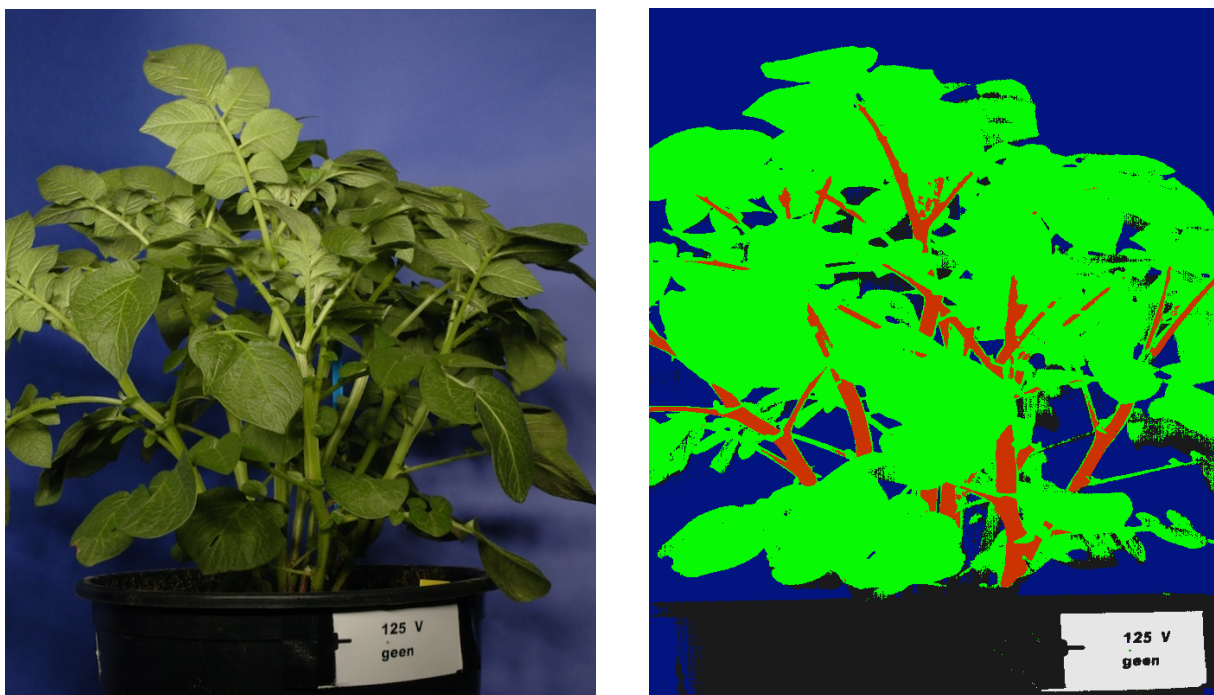
Figuur 2. Meetprincipe van de spectrale camera.

Als laatste is met behulp van software de beeldanalyse uitgevoerd. De software is ontwikkeld in Matlab (mathematisch softwarepakket), gekoppeld met de beeldverwerkingsextensie DIPimage en patroonherkenningstool analysetool perClass. De reflectiespectra (zoals weergegeven in Figuur 2) werd geanalyseerd in de software. Omdat de hypothese is dat Erwinia vooral in de vaatbundels zit, is het voor de detectie van Erwinia van belang onderscheid te maken tussen blad en stengelweefsel. Het blijkt dat in het reflectiespectrum rond de 960nm een significant verschil is tussen stengel en blad weefsel (figuur 3).



Figuur 3. Reflectiespectra van blad- en stengelweefsel.

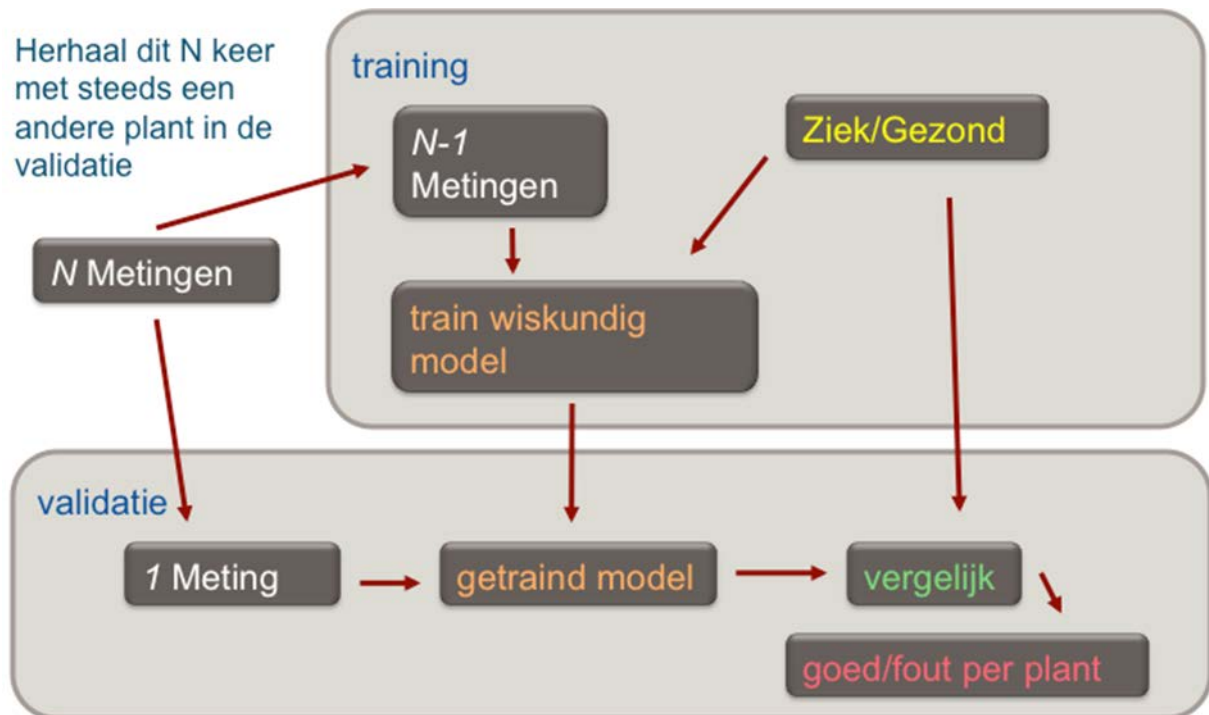
Met een lineaire classifier getraind op enkele beelden zijn maskers gegenereerd waarmee specifiek de blad of stengel pixels geselecteerd kunnen worden (figuur 4).



Figuur 4. Links kleurenbeeld van een aardappelplant, rechts blad (groen) en stengel (bruin) classificatie.

Vervolgens zijn random selecties gemaakt van 2000 blad en stengelpixels. Omdat bekend was welke plant ziek was en welke gezond, was het mogelijk om een "supervised" classificatie te doen met behulp van perClass. Een supervised classificatie zoekt statistische verschillen in reflectiedata tussen enerzijds alle zieke en anderzijds alle gezonde planten. Uit Figuur 4 blijkt dat de spectra ruis bevatten.

Bovendien zijn 193 datapunten per spectrum te veel datapunten voor classificatie. Omdat naastliggende datapunten sterk gecorreleerd zijn, zijn de spectra gereduceerd door voor elke 4 opeenvolgende punten het gemiddelde te nemen. Hiermee zijn de spectra teruggebracht van 193 naar 48 datapunten. Met deze 48 spectrale banden zijn classifiers gebouwd die onderscheid maken tussen de verschillende ziekte klassen, en gezond. Een aantal classificatie methoden is getest, uiteindelijk bleek een Gaussische classifier voor deze dataset het best te werken. In essentie komt dit neer op een stukje software die een scheidingsfunctie berekent tussen spectra van gezonde en zieke planten. Omdat er (relatief) weinig planten zijn en omdat je de scheidingsfunctie wil testen op onafhankelijke data die niet is gebruikt voor het bepalen van deze functie, is gebruik gemaakt van 'leave one out' kruisvalidatie. Deze methode komt er op neer dat je de scheidingsfunctie berekent met behulp van alle planten op één na en deze functie vervolgens valideert op basis van de overgebleven plant. Door deze procedure te roteren over alle planten, dus steeds met een andere plant voor validatie, kun je toch alle planten onafhankelijk testen (figuur 5).



Figuur 5. Principeschema van leave-one-out kruisvalidatie.

Per plant zijn 2000 spectra gebruikt. Een plant wordt als "ziek" aangemerkt als minimaal 1000 spectra ziek zijn geïdentificeerd en "gezond" als minimaal 1000 spectra als gezond zijn geïdentificeerd.

2.4 Chlorofylfluorescentie metingen

De fluorescentie metingen zijn uitgevoerd met de CropReporter (zie figuur 6) door in de virus proef de planten van bovenaf te meten en in de Erwinia proef de planten zijwaarts. Het meetprotocol bestond uit het donker adapteren, minimaal ½ uur, van de planten en vervolgens een meting uit te voeren. Bij dit protocol wordt de maximale waarde van de efficiëntie van de fotosynthese, Fv/Fm, bepaald. Deze methode geeft het grootste contrast in het beeld tussen aangetaste en gezonde delen van de plant.

De fluorescentie beelden zijn geanalyseerd met in-huis geschreven beeldanalyse software (CRopReporter Analysis V330) speciaal voor fluorescentie beelden. Met deze software wordt per beeld de gemiddelde efficiëntie van de fotosynthese berekend. Tevens kan een andere parameter worden berekend: het relatieve oppervlak van de plant met een waarde van de efficiëntie van de fotosynthese lager dan een drempelwaarde. Dit betekent dat het oppervlak van de plant wordt berekend door het aantal pixels te tellen die een Fv/Fm waarde hebben lager dan bijvoorbeeld 70%, de ingestelde

drempelwaarde. Het relatieve oppervlak wordt dan berekend door dit getal door het oppervlak van de plant te delen.

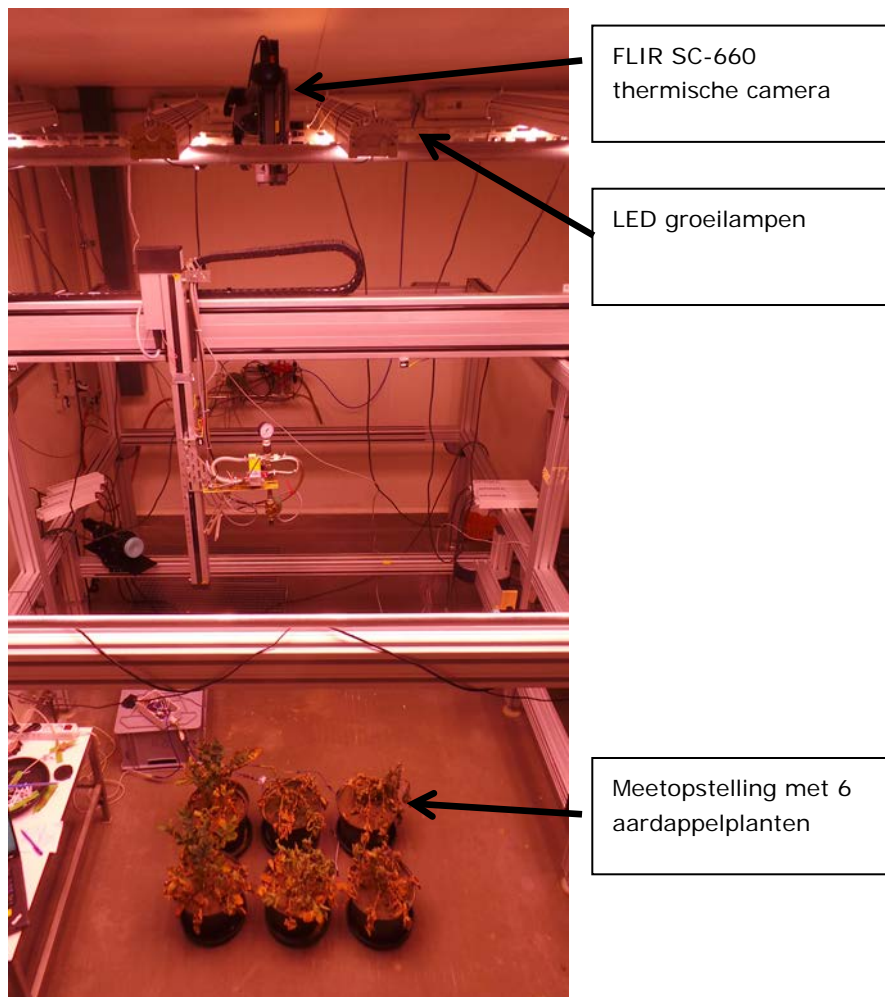


Figuur 6. De opstelling van de CropReporter die gebruikt is voor het opnemen van de fluorescentie beelden.

2.5 Thermische camera

Infrarood thermografie, het meetprincipe achter de thermische camera, is een relatief nieuw werkveld in het plantonderzoek. Met infrarood thermografie wordt de warmtestraling van een object gemeten. Verschillende wetenschappelijke publicaties tonen de potentie van deze techniek om bladtemperaturen waar te nemen. Zodoende is (indirect) de waterstatus van een plant te monitoren of plantstress. Een gevolg van een *Erwinia* infectie is verwelking van de plant doordat de vaatbundels geblokkeerd worden door bacteriekolonies. De hypothese is dat wanneer een plant gaat verwelken en waterstress gaat ondervinden, dit verschijnsel in een vroeg stadium waarneembaar is door een (lokale) stijging van de bladtemperatuur en zodoende te meten met de thermische camera.

Omdat de bladtemperatuur afhankelijk is van omgevingsfactoren zoals temperatuur, luchtvochtigheid, windsnelheid en zonstraling is ervoor gekozen om een experiment op te zetten in een klimaat-geregeld teeltruimte met kunstmatig LED groeilicht (zie figuur 7). De temperatuur was 30 °C en de luchtvochtigheid 80%, "ideale" omstandigheden om de *Erwinia* bacterie (ingebracht via inoculatie) in de plant te vermeerderen. 6 LED lampen (Valoya AP-673L) zijn opgehangen met een gemiddelde groeilicht-productie van 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ en een brandtijd van 16 uur per dag. Tussen de LED lampen is een FLIR SC-660 thermische camera geïnstalleerd die elke minuut een kleur- en warmtebeeldopname (640 bij 480 pixels) maakte.



Figuur 7. **Proefopzet in de klimaat gecontroleerde teeltruimte.**

Er zijn verschillende experiment-rotaties uitgevoerd, dit betekent dat er verschillende combinaties met telkens 6 aardappelplanten gemeten zijn. Elke pot met aardappelplant was uitgerust met een bodemvochtsensor en irrigatieregelaar om het vochniveau in elke pot gelijk te houden. Het experiment is uitgevoerd met gezonde en Erwinia geïnoculeerde planten (virusziek is buiten beschouwing gelaten).

Experiment-rotatie 1

Experiment-rotatie 1 betreft een "ground truth" meting. Deze meting is uitgevoerd om de onderzoekshypothese bij zware Erwinia infecties te valideren.

Er zijn 3 aardappelplanten uit het veld gescout, waarvan er 2 de eerste verwelkingsverschijnselen lieten zien. De overige 3 planten ("ruimte") zijn planten die vanuit een eerder stadium in de ruimte zijn geplaatst om ze daar onder geconditioneerde omstandigheden te laten uitgroeien. Gedurende 1 dag zijn er 1066 beeldopnamen gemaakt.

Experiment-rotatie 2

Het doel van deze tweede meting was om na te gaan of er temperatuurverschillen te detecteren zijn bij opgroeiende Erwinia geïnoculeerde planten.

De proef bestond uit 6 planten ("ruimte") die als jonge plant in de ruimte zijn geplaatst om daar onder geconditioneerde omstandigheden te laten uitgroeien. Gedurende 3 weken zijn er 30.240 beeldopnamen gemaakt.

Experiment-rotatie 3

Experiment-rotatie 3 is uitgevoerd om na te gaan of er temperatuurverschillen te detecteren zijn bij *Erwinia* geïnoculeerde en gezonde planten in een jong opgroeiend stadium.

De proef bestond uit 6 jonge planten ("ruimte") die in de ruimte zijn geplaatst om daar onder geconditioneerde omstandigheden verder te groeien. Gedurende 1 week zijn er 10.080 beeldopnamen gemaakt.

2.6 3D technologie

Met 3D technologie kunnen opnames worden gemaakt, waarmee een typering gegeven kan worden van de plantontwikkeling (denk aan: volume van het bladmateriaal, dichtheid van de plant). De hypothese is dat zieke planten een verstoord groeibeeld laten zien waardoor deze planten met deze techniek herkenbaar zijn.

De 3D camera beeldopnamen zijn tegelijkertijd uitgevoerd met de hyperspectrale metingen (paragraaf 2.3). Er is gebruik gemaakt van de Microsoft Kinect (v1) camera (zie figuur 8). Deze maakt gebruik van het "structured light" principe, waarbij een infrarood-beeldvervorming wordt vertaald naar een dieptebepaling.



Figuur 8. **Proefopstelling met de 3D camera en de aardappelplanten.**

Van elke plant zijn 4 vooraanzicht zijopnamen gemaakt van zowel het kleurbeeld als het dieptebeeld. In totaal zijn 135 beeldopnamen gemaakt van gezonde planten en 64 van *Erwinia* planten (tabel 3):

Tabel 3. **Het aantal meetobjecten per meetweek en per object.**

Total number of plants	Healthy	<i>Erwinia</i>
Week 25	19	6
Week 26	39	10
Week 27	41	14
Week 28	26	18
Week 29	10	16

Met beeldverwerking is het groene plantgebied uit het kleurbeeld (Figuur 9) door vertaald naar een bijpassend gebied in het dieptebeeld.



Figuur 9. **Origineel kleurbeeld opname, "excessive green" kleurfilter voor plantmateriaal en het uiteindelijke plantgebied.**

Informatie uit de 4 kleurbeelden per plant is gebruikt voor de monitoring van de (relatieve) plantgroei.

2.7 Force-A

Force-A is een Frans sensorbedrijf met ervaring in de ziektedetectie in de wijnteelt (Figuur 10). Twee verschillende Force-A sensoren zijn opgenomen in de proef om te toetsen of dit ook opgaat in de ziektedetectie bij pootaardappelen. De gebruikte sensoren waren de handhelds MX-330 en MX-375, die respectievelijk veranderingen in de plantpigmenten stilbenes en flavonols kunnen detecteren. Verandering in stilbenes worden gerelateerd aan schimmelinfecties en plantziekten. Flavonols op hun beurt plant stress en stikstoftekort.

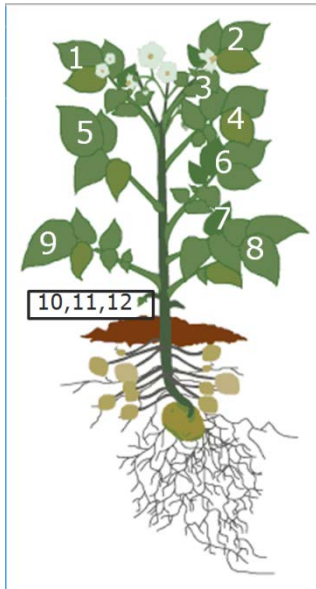


Figuur 10. **Handheld Force-A sensor zoals gebruikt in de wijnteelt.**

Tegelijkertijd met de hyperspectraal metingen zijn ook de planten gescand met beide Force-A sensoren. Van elke plant zijn 12 metingen uitgevoerd (Figuur 11):

- 3 willekeurige topbladeren
- 3 willekeurige bladeren uit het midden van de plant
- 3 willekeurige onderste bladeren
- 3 posities van de onderkant van de stengel

Per plant zijn dus 24 metingen uitgevoerd (12 met de MX-330 en 12 met de MX-375).



Figuur 11. De (willekeurige) meetposities met de MX-330 en MX-375 handheld sensoren.

3 Resultaten

3.1 Spectrale virus detectie

In Tabel 4 en 5 staan de resultaten van de "supervised" virus-classificatie met behulp van perClass. In de zogenaamde "confusion matrix" is de werkelijke ziekte-status van de planten uitgezet tegenover de door de software geschatte ziekte-status van de planten. Tabel 4 laat de resultaten zien voor de stengel pixels, tabel 5 voor de blad pixels. Omdat bekend was welke plant ziek en welke plant gezond was, is het mogelijk om een uitspraak te doen of de software een juiste scoring geeft t.a.v. een ziektebeeld. In tabel 6 staan de resultaten van de score op symptomen door de gewasexpert. Tijdens de analyses bleek dat de effecten zich vooral in het onderste deel van de plant bevonden. De resultaten die hier worden vermeld zijn dan ook gebaseerd op pixels uit de onderste 30% van de beelden.

Uit deze tabellen is op te maken dat de viruszieke planten goed gescoord worden. De resultaten voor de bladpixels zijn identiek aan de resultaten van de gewas expert. Slechts één plant is door zowel de expert als de software ten onrechte gezond gescoord (zie ook tabel 6).

Tabel 4. **Classificatie resultaten van individuele planten eerste meet week, op basis van stengel pixels.**

Werkelijke spectra	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	9	1	10
Ziek	1	13	14
Totaal	10	14	24

Tabel 5. **Classificatie resultaat van de individuele planten eerste meet week op basis van blad pixels.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	10	0	10
Ziek	1	14	15
Totaal	11	14	25

Tabel 6. **Score resultaat van de individuele planten eerste meet week op basis van symptomen door de gewas expert.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	10	0	10
Ziek	1	14	15
Totaal	11	14	25

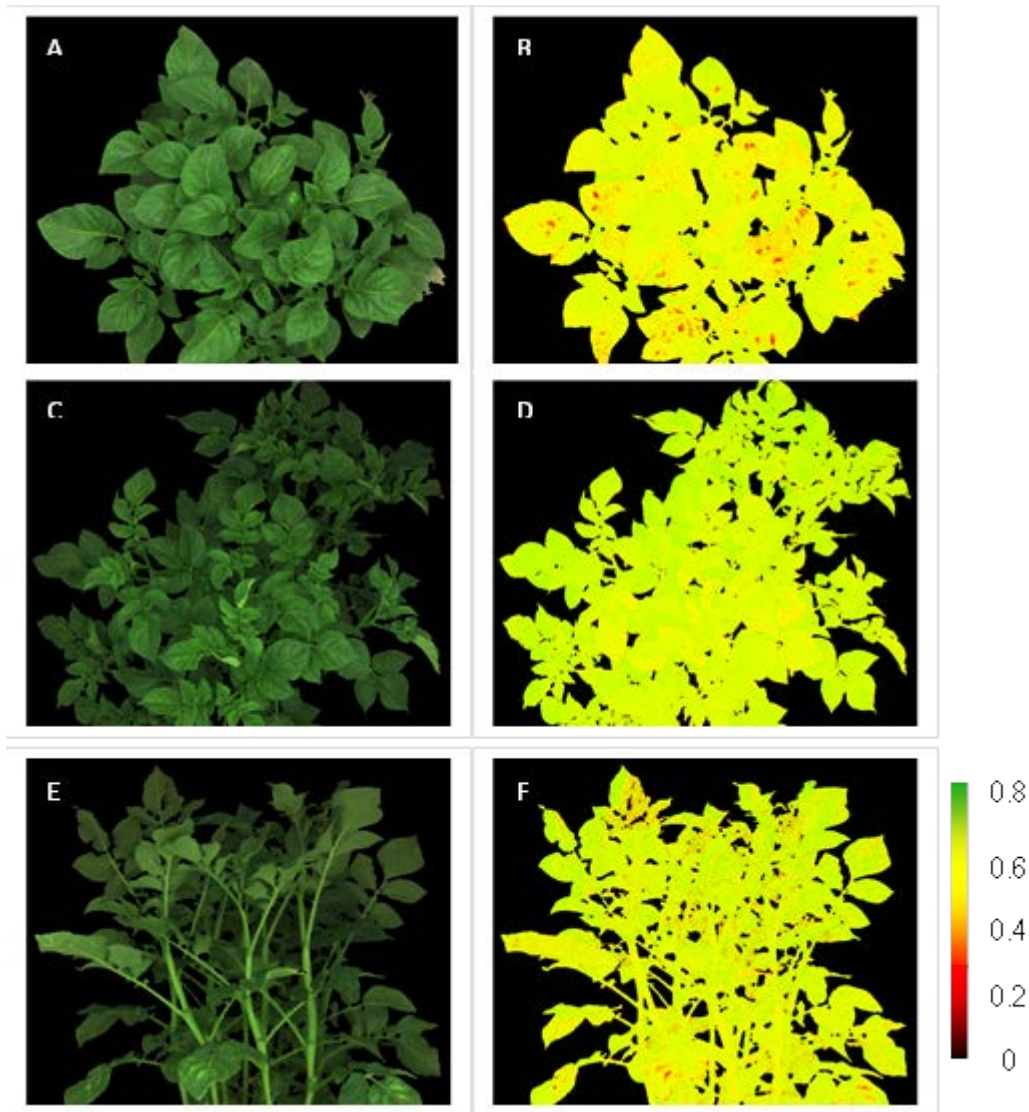
De virus zieke planten zijn in totaal drie keer gemeten. In tabel 7 staan de scores van alle meetweken samengevat. Er is in deze tabel geen onderscheid gemaakt tussen foutief gescoorde gezonde en foutief gescoorde zieke planten. De resultaten voor alle individuele planten voor alle meetweken staan in bijlage 2.

Tabel 7. Totaal score van virus detectie voor alle meetweken.

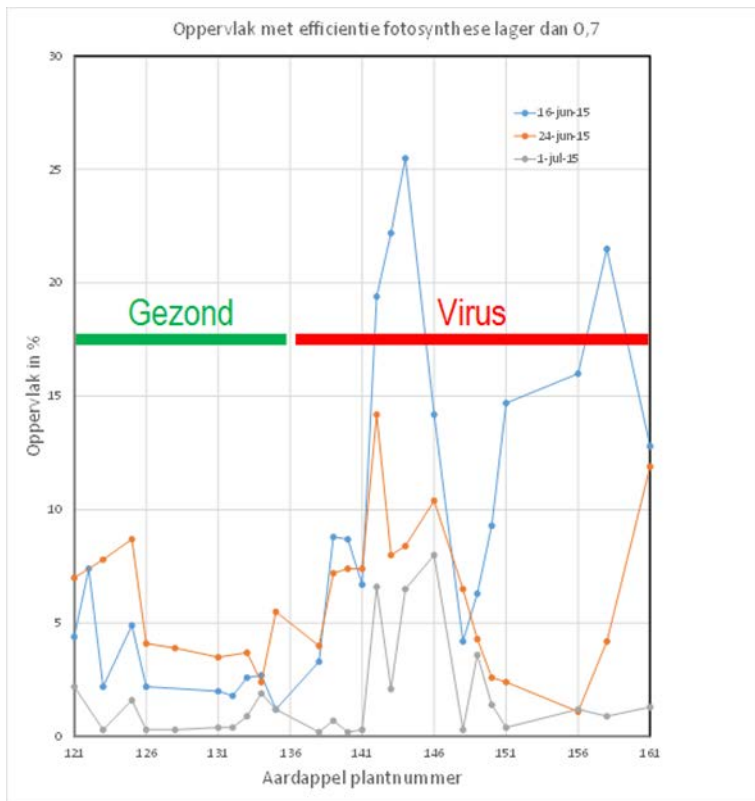
<i>Week</i>	<i>Datum</i>	<i>Bladeren</i>	<i>Stengel</i>	<i>Expert</i>
1	16/6/2015	0.96	0.92	0.96
2	24/6/2015	0.52	0.52	0.96
3	1/7/2015	0.68	0.68	1

3.2 Chlorofylfluorescentie virus detectie

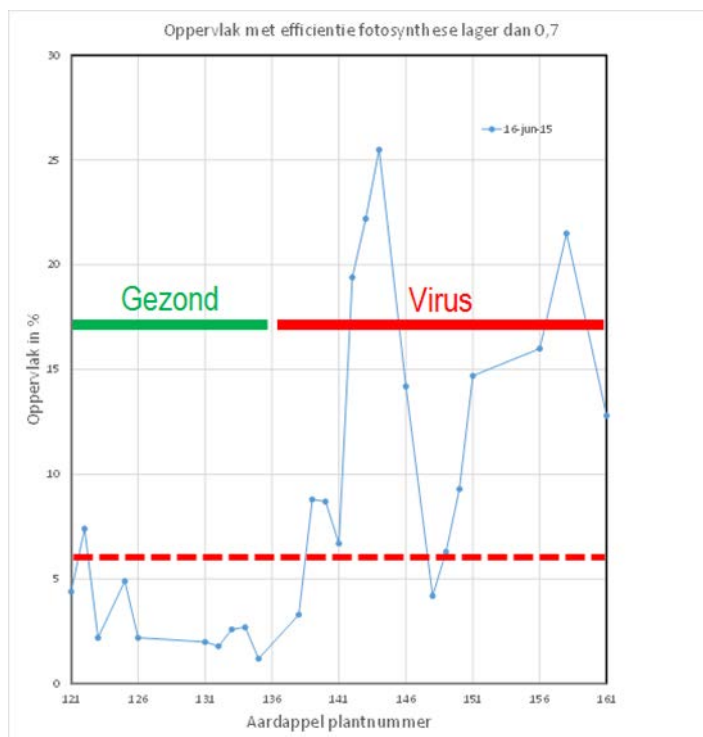
Een interactie van het virus met de fotosynthese kan onherstelbare schade geven. Dit is waarneembaar in de opnamen als een lokale lagere waarden voor de Fv/Fm. In figuur 12 panel B is dit te zien als rode vlekken op de bladeren. Deze schade is het beste te berekenen door het relatieve oppervlak te bepalen met deze verlaagde Fv/Fm waarden. De opnamen zijn met beeldanalyse software doorgerekend op het relatieve oppervlak met Fv/Fm kleiner dan 70%. Dit is weergegeven in figuur 13 voor de drie meetdagen. De resultaten van metingen gaven de beste resultaten op de eerste meetdag. Bij de volgende twee meetdagen was minder onderscheidend vermogen tussen de gezonde en viruszieke planten. Dit is goed waar te nemen bij een opname van de efficiëntie van de fotosynthese van plantnummer 140 in figuur 12. Op de eerste meetdag zijn duidelijk aangetaste plekken, panel B, met een verlaagde Fv/Fm, terwijl dit op de derde meetdag nauwelijks meer waarneembaar is, panel D. Op de derde meetdag is het alleen te meten in een zijopname in de onderste bladeren, panel F.



Figuur 12. Topopnamen van kleur en Fv/Fm van de fotosynthese op de eerste meetdag in panel A en B en op de derde meetdag in panel C en D en zijopnamen op de derde meetdag in panel E en F van plantnummer 140 met een virusaantasting. De symptomen veroorzaakt door de aanwezigheid van het virus zijn het duidelijkst waarneembaar in panel A en B op de eerste meetdag en in de onderste bladeren van de plant bij een zijopname. De Fv/Fm opnamen hebben een "false colour" voor de waarden van Fv/Fm volgens aangegeven kleurenschema.



Figuur 13. Overzicht van de resultaten bereikt op drie meetdagen voor de mate van aantasting van de planten uitgedrukt in het relatieve oppervlak van de plant met een Fv/Fm lager dan 0,7.



Figuur 14. Overzicht van de resultaten van de eerste meet dag voor de mate van aantasting van de planten uitgedrukt in het relatieve oppervlak van de plant met een Fv/Fm lager dan 0,7. De stippellijn geeft de sorteergrens aan waarbij boven deze grens de planten zijn aangetast door het virus en eronder gezond.

Om dit beter te kunnen beoordelen is een sorteergrens getrokken op 6% schadepercentage van de plant (figuur 14). Uit deze resultaten blijkt dat zieke planten in 13 van de 15 gevallen herkend worden met deze methode (2x dus niet). Daar staat tegenover dat er slechts 1 plant onterecht als ziek wordt beoordeeld tegen 9 keer goed.

In tabel 8 is de classificatie gezond / viruszieke planten vergeleken met de scores van de gewasexpert. Dit levert als beeld op dat 88% van de planten vergelijkbaar is geclassificeerd als door de expert. In 2 van de 25 gevallen werd een viruszieke plant als gezond geclassificeerd (vals negatief) en in 1 geval werd een gezonde plant als ziek geclassificeerd (vals positief).

Tabel 8. **Classificatie resultaten van gezonde en virus zieke planten ten opzichte van door de gewasexpert gescoorde symptomen.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	9	1	10
Ziek	2	13	15
Totaal	11	14	25

Door de grens waarop beoordeeld wordt groter te kiezen kan eenvoudig minder planten als onterecht ziek worden beoordeeld. Een grens van 8% gaf geen fouten bij de gezonde planten. Wel werden 4 van de 15 zieke planten als gezond beoordeeld. Er kan dus eenvoudig een grens worden ingesteld waarop de laagste score wordt bereikt voor onterecht geclassificeerde zieke planten die eigenlijk gezond zijn.

Tabel 9. **Classificatie resultaten bij een grens van 8 % van gezonde en virus zieke planten ten opzichte van door de gewasexpert gescoorde symptomen.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	10	0	10
Ziek	4	11	15
Totaal	10	15	25

3.3 Spectrale Erwinia detectie

In Tabel 10 en 11 staan de resultaten van de "supervised" bacterie-classificatie met behulp van perClass. In de zogenaamde "confusion matrix" is de werkelijke ziekte-status van de planten uitgezet tegenover de door de software geschatte ziekte-status van de planten. Als werkelijke ziekte status zijn de resultaten van de bacteriologische tests na uitplaten genomen. Tabel 10 laat de resultaten zien voor de stengel pixels, tabel 11 voor de blad pixels. Omdat bekend was welke plant ziek en welke plant gezond was, is het mogelijk om een uitspraak te doen of de software een juiste scoring geeft t.a.v. een ziektebeeld. In tabel 12 staan de resultaten van de score op symptomen door de gewasexpert. De resultaten die hier worden vermeld zijn evenals bij de virus analyse gebaseerd op pixels uit de onderste 30% van de beelden.

Uit deze tabellen is op te maken dat de Erwinia planten niet goed gescoord kunnen worden. In totaal is er negen keer gemeten. De resultaten in tabel 11 en 12 zijn voor het vijfde meet moment (3/7/2015). Op basis van de stengel pixels zijn 19 van de 31 planten goed geclassificeerd. Op basis van de blad pixels worden alle planten als gezond geclassificeerd. De resultaten voor de andere meet momenten zijn vergelijkbaar of slechter.

Tabel 10. **Classificatie resultaten voor Erwinia besmette planten (3/7/2015) op basis van stengel pixels.**

Werkelijke spectra	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	12	3	15
Ziek	9	7	16
Totaal	21	10	31

Tabel 11. **Classificatie resultaten voor Erwinia besmette planten (3/7/2015) op basis van blad pixels.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	15	0	15
Ziek	16	0	16
Totaal	31	0	31

Tabel 12. **Score resultaat van de Erwinia besmette planten (3/7/2015) op basis van symptomen door de gewas expert.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	8	7	15
Ziek	1	15	16
Totaal	9	22	31

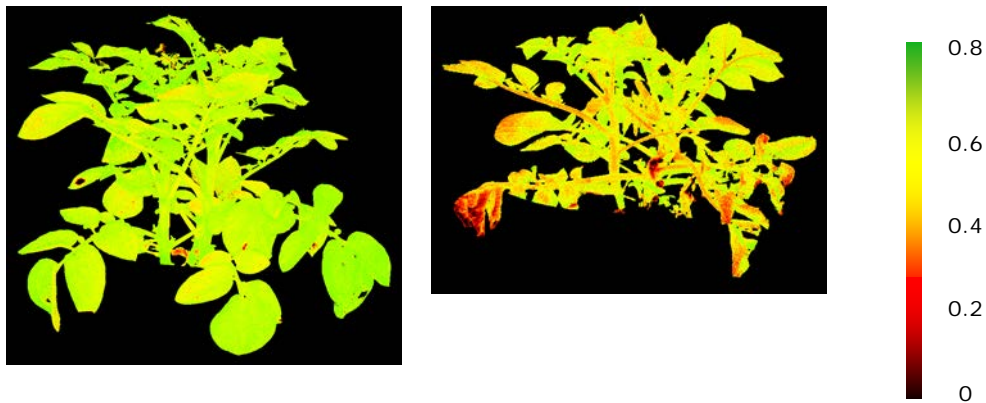
De resultaten voor de andere meet momenten staan in tabel 13. De resultaten voor alle individuele planten voor alle meetweken staan in bijlage 2.

Tabel 13. **Totaal score Erwinia classificatie voor alle meetmomenten.**

<i>Meting</i>	<i>Datum</i>	<i>Bladeren</i>	<i>Stengel</i>	<i>Expert</i>
1	19/6/2015	0.6	0.54	0.63
2	23/6/2015	0.71	0.43	0.67
3	26/6/2015	0.52	0.56	0.6
4	30/6/2015	0.58	0.63	0.75
5	03/7/2015	0.52	0.61	0.74
6	07/7/2015	0.58	0.42	0.8
7	10/7/2015	0.69	0.69	0.92
8	15/7/2015	0.62	0.69	0.92
9	17/7/2015	0.69	0.69	0.92

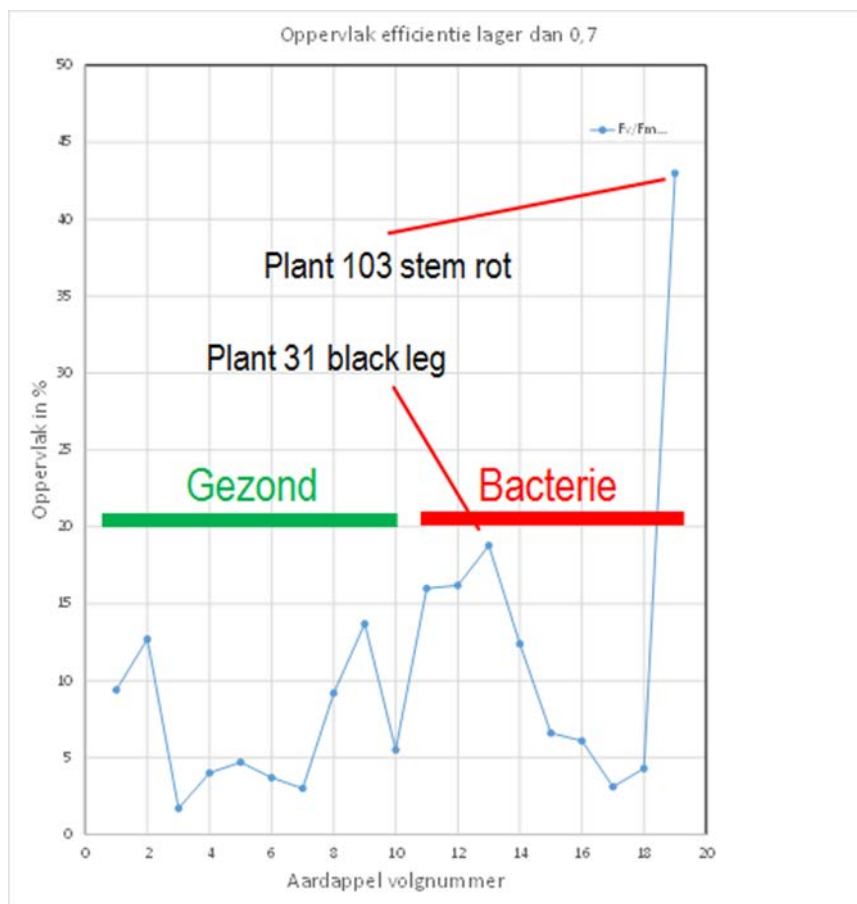
3.4 Chlorofylfluorescentie Erwinia detectie

In de fotosynthese beelden is Erwinia te detecteren als een afname in de waarde van Fv/Fm (figuur 15). Bij een gezonde plant hebben alle delen van de plant een hoge waarde van de efficiëntie van de fotosynthese, Fv/Fm. Dit wordt in het beeld weergegeven met een groene kleur. Is daarentegen de plant lokaal aangetast door Erwinia, dan resulteert dit op die plekken in een veel lagere waarde van Fv/Fm.



Figuur 15. Links een fotosynthese opname, Fv/Fm, van een gezonde plant en rechts van een plant die aangetast is door Erwinia (stem rot).

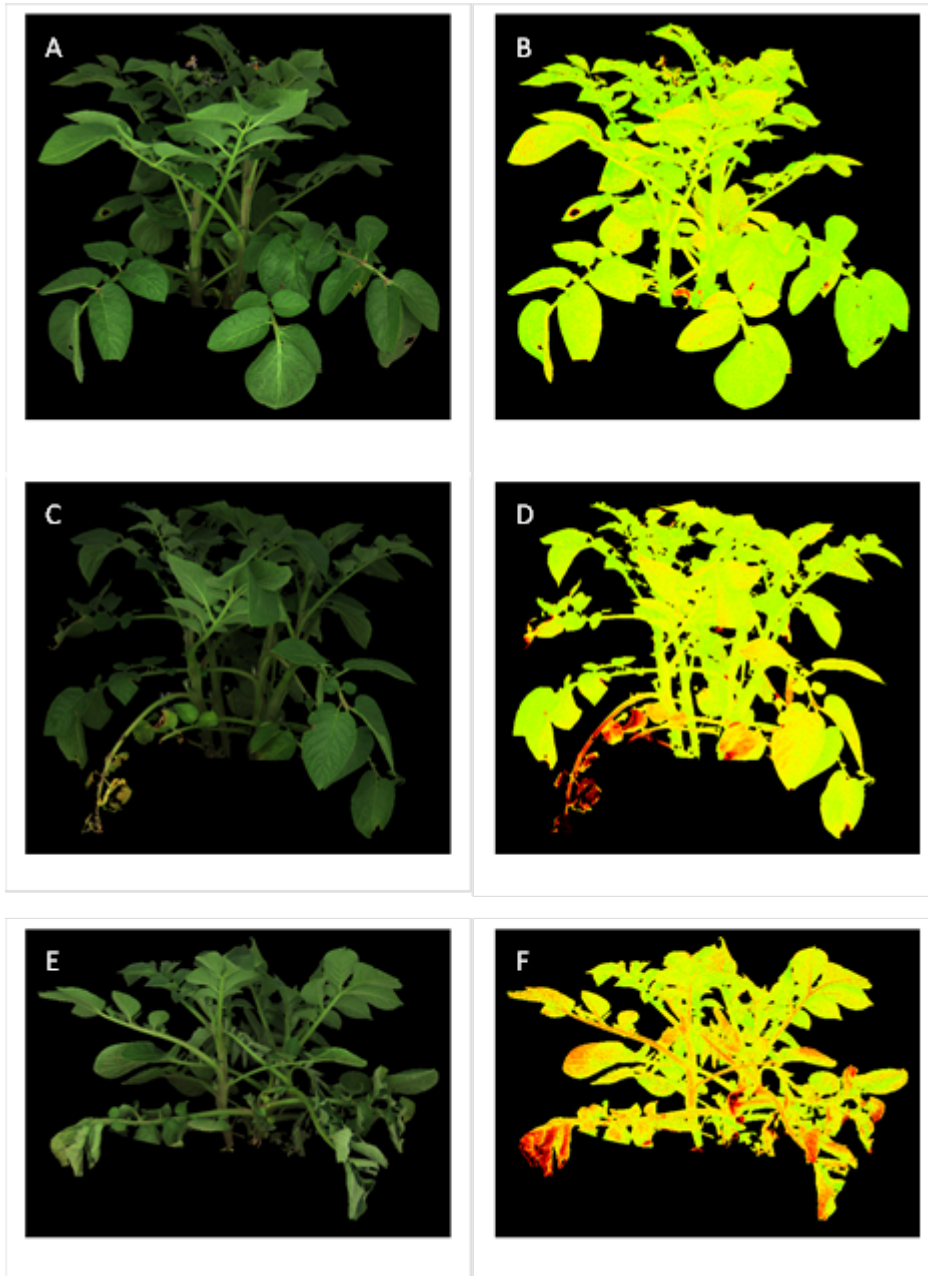
Met de beeldanalyse software werd het relatieve oppervlak met Fv/Fm kleiner dan 70% uitgezet tegen de beoordeling op zichtbare Erwinia symptomen (figuur 16). Zware aantastingen zijn op het relatieve oppervlak met Fv/Fm kleiner dan 70% goed te onderscheiden. Dit is de plant met stem rot en in mindere mate de plant met black leg. Op een grens van 15% worden alle gezonde planten als gezond geassocieerd, terwijl van de zieke planten 4 van de 9 planten als ziek worden geassocieerd (zie ook tabel 14). Deze 9 planten zijn door een gewas expert als ziek aangemerkt, maar dit kon pas worden beoordeeld na nauwkeurige inspectie. Worden de planten beoordeeld zoals dat in het veld zou gebeuren dan worden alleen plant 31 en 103 als ziek beoordeeld. Deze twee planten komen bij de chlorofyl fluorescentie meting als meest zieke planten uit de meting (zie ook figuur 17).



Figuur 16. Relatief oppervlak met Fv/Fm lager dan 70% tegen de beoordeling van de planten op zichtbare Erwinia symptomen.

Tabel 14. Classificatie resultaten van gezonde en Erwinia zieke planten met als grens 15% oppervlak van figuur 16 ten opzichte van door de gewasexpert gescoorde symptomen.

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	10	0	10
Ziek	5	4	9
Totaal	10	9	19



Figuur 17. Zijopnamen van kleur en Fv/Fm van de fotosynthese op de zesde meetdag met in panel A en B een gezonde plant, panel C en D een plant met black leg (plantnummer 31) in panel E en F een plant met stem rot (plantnummer 103).

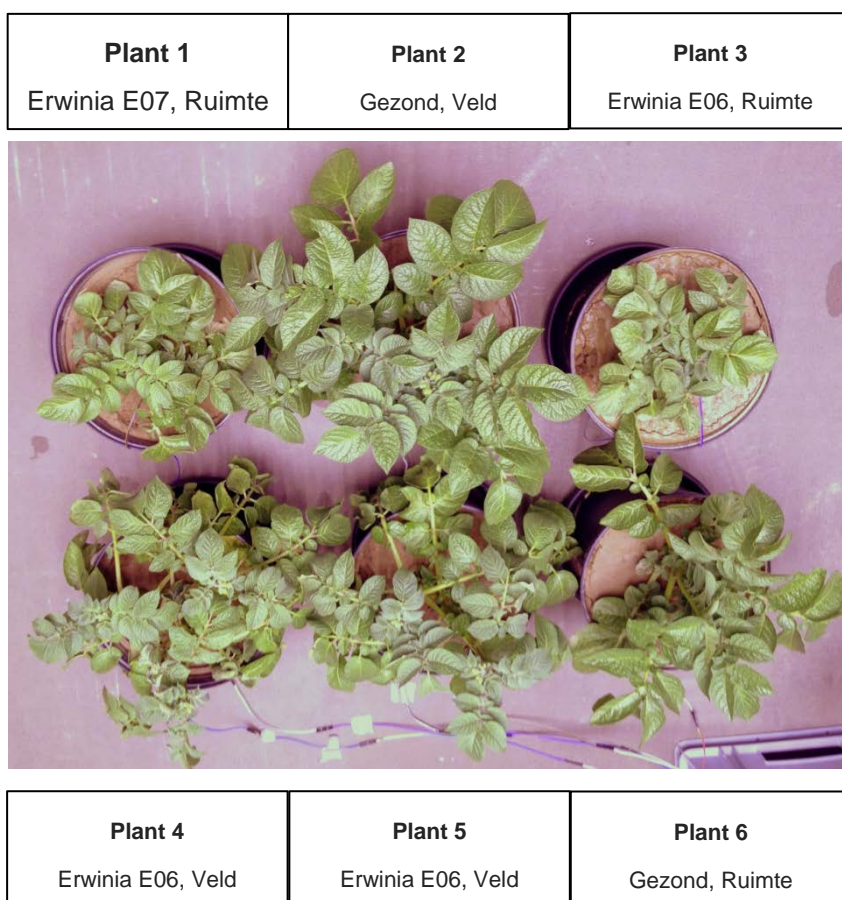
3.5 Thermische camera

In paragraaf 2.5 zijn de experimenten die met de thermische cameratechniek zijn uitgevoerd beschreven. Onderstaand zijn per experiment de resultaten samengevat.

Experiment-rotatie 1:

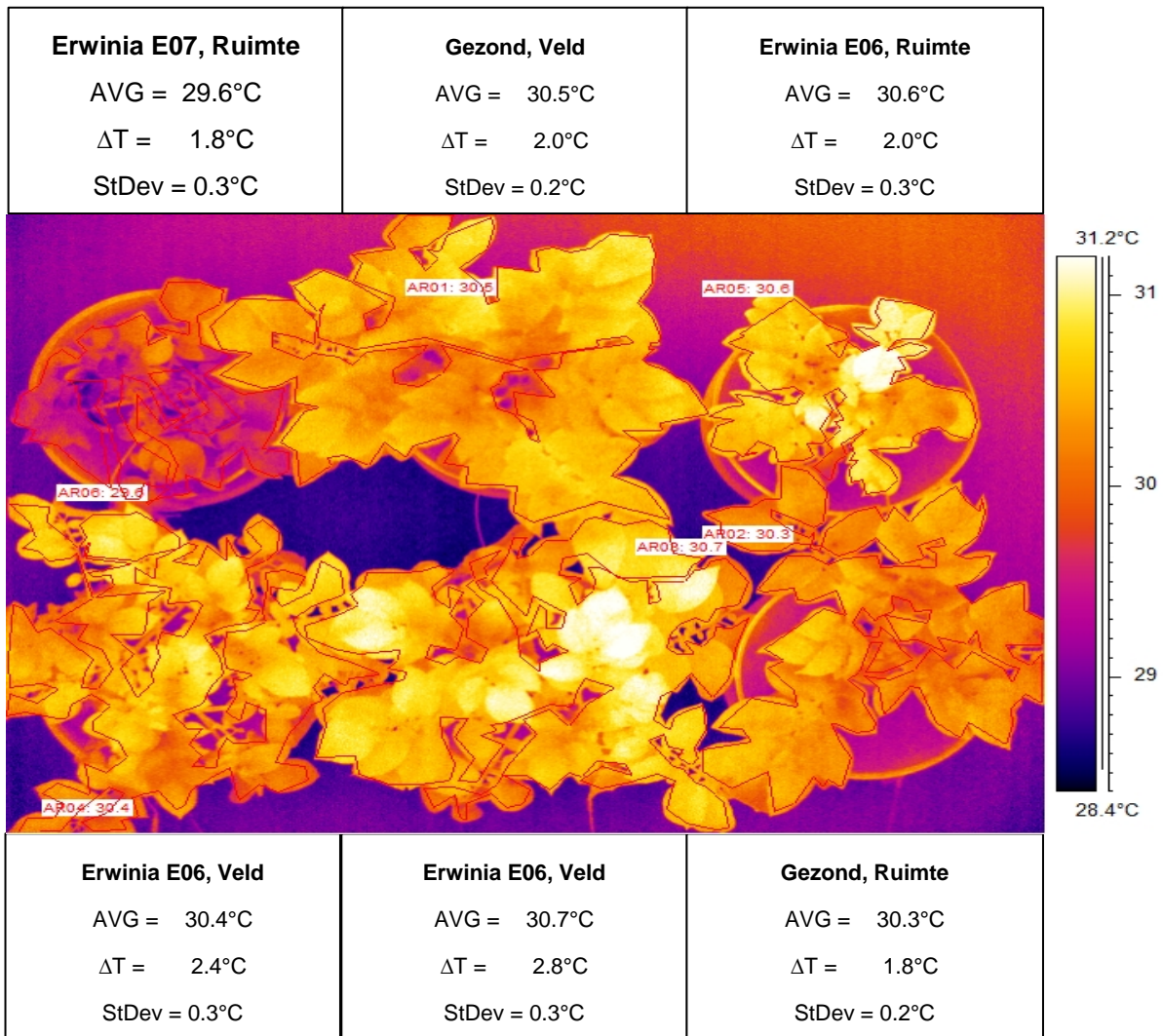
In Figuur 18 staat de opzet van experiment-rotatie 1, de "ground truth" meting. Deze meting is uitgevoerd om de onderzoekshypothese bij zware Erwinia infecties te valideren.

Er zijn 3 aardappelplanten uit het veld gescout (Plant 2, 4 en 5), waarvan er 2 de eerste verwelkingsverschijnselen lieten zien (Plant 4 en 5). De overige 3 planten ("ruimte") zijn planten die vanuit een eerder stadium in de ruimte zijn geplaatst om ze daar onder geconditioneerde omstandigheden te laten uitgroeien. Gedurende 1 dag zijn er 1066 beeldopnamen gemaakt.



Figuur 18. De ground truth meting met veldplanten die beginnen te verwelken (plant 4 en 5).

Na het analyseren van de beelden valt op dat het temperatuurbereik (ΔT , maximale plant temperatuur – minimale plant temperatuur) van Plant 4 en 5 groter is met een grotere standaard deviatie (StDev) dan Plant 2 en 6 (Figuur 19). Plant 1 en 3 laten weliswaar een vergelijkbare temperatuurbereik zijn, maar een grotere standaard deviatie.




Figuur 19. **Het thermische beeld van de aardappelplanten. De kleuren relateren aan de temperatuurschaal, weergegeven rechts. De rode lijn binnen een plant geeft het meetgebied weer. De genoemde parameters zijn binnen dit gebied bepaald.**

Experiment-rotatie 2:

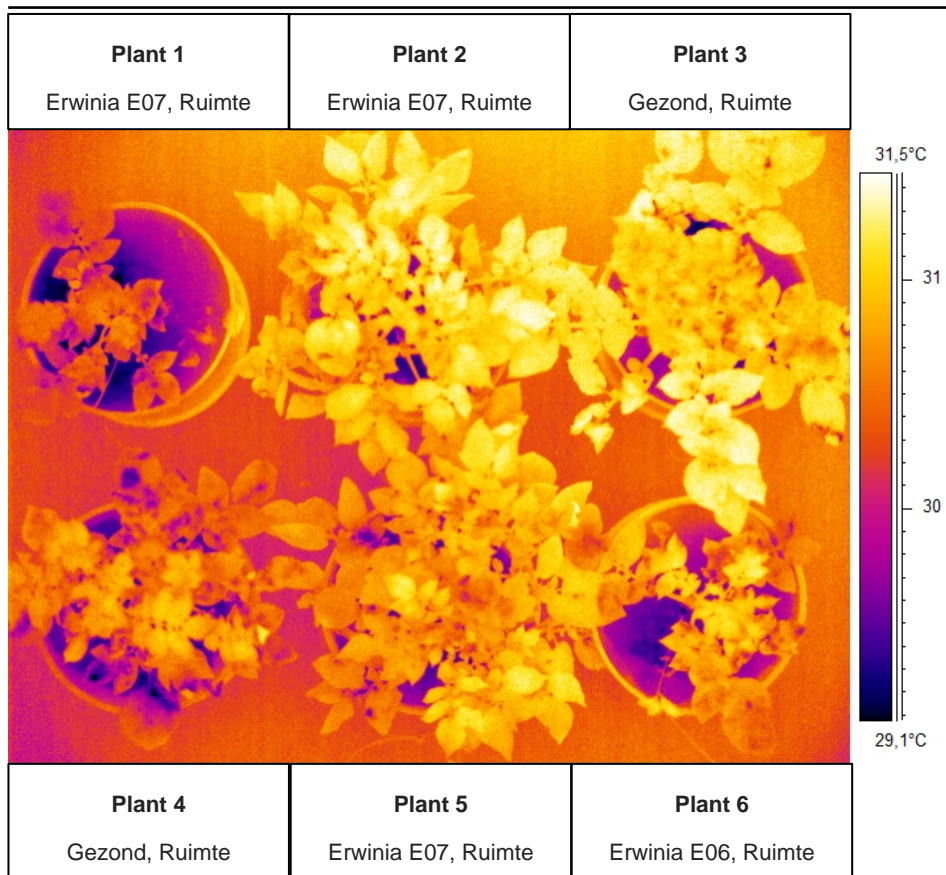
In Figuur 20 staat de opzet van experiment-rotatie 2. Het doel van de meting was om na te gaan of er temperatuurverschillen te detecteren zijn bij opgroeiende Erwinia geïnoculeerde planten.

De proef bestond uit 6 planten ("ruimte") die als jonge plant in de ruimte zijn geplaatst om daar onder geconditioneerde omstandigheden te laten uitgroeien (Figuur 20). Gedurende 3 weken zijn er 30.240 beeldopnamen gemaakt.

<p align="center">Plant 1 Erwinia E07, Ruimte</p>	<p align="center">Plant 2 Erwinia E07, Ruimte</p>	<p align="center">Plant 3 Gezond, Ruimte</p>
		
<p align="center">Plant 4 Gezond, Ruimte</p>	<p align="center">Plant 5 Erwinia E07, Ruimte</p>	<p align="center">Plant 6 Erwinia E06, Ruimte</p>

Figuur 20. **Proefopzet om te bepalen of er symptomatische verschijnselen zijn waar te nemen bij opgroeiende Erwinia geïnoculeerde planten.**

Na het analyseren van de beelden valt op dat er geen duidelijk temperatuurverschil of -verloop waarneembaar is tussen gezonde en Erwinia (Figuur 21). Een mogelijke reden is dat de geïnoculeerde Erwinia planten niet of latent ziek uitgroeien en dus geen ziekteverschijnselen laten zien. Ook is het mogelijk dat de plantontwikkeling in de geconditioneerde teeltruimte de Erwinia niet heeft doen "exploderen" in de plant. Na 3 weken tijd zijn er geen planten uitgevallen door Erwinia ziekteverschijnselen. Er kan geconcludeerd worden dat bij lichte, latente besmettingen er geen temperatuurverschillen detecteerbaar zijn tussen Erwinia geïnfecteerde en gezonde planten.

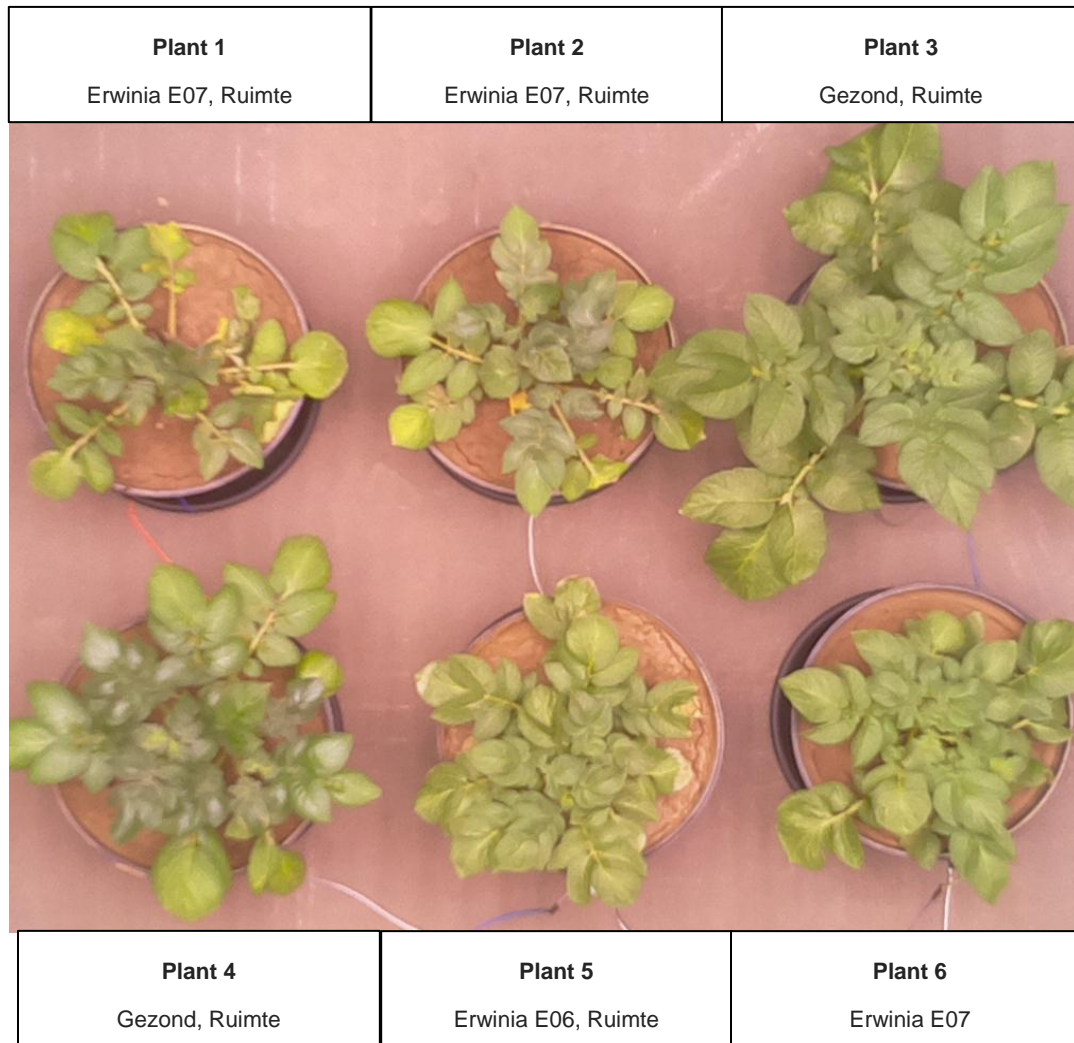


Figuur 21. Een thermische beeld van de 6 planten met rechts de temperatuurschaal en de bijhorende kleuren.

Experiment-rotatie 3:

In Figuur 22 staat de opzet van experiment-rotatie 3. Deze meting is uitgevoerd om na te gaan of er temperatuurverschillen te detecteren zijn bij Erwinia geïnoculeerde en gezonde planten in een jong opgroeiend stadium.

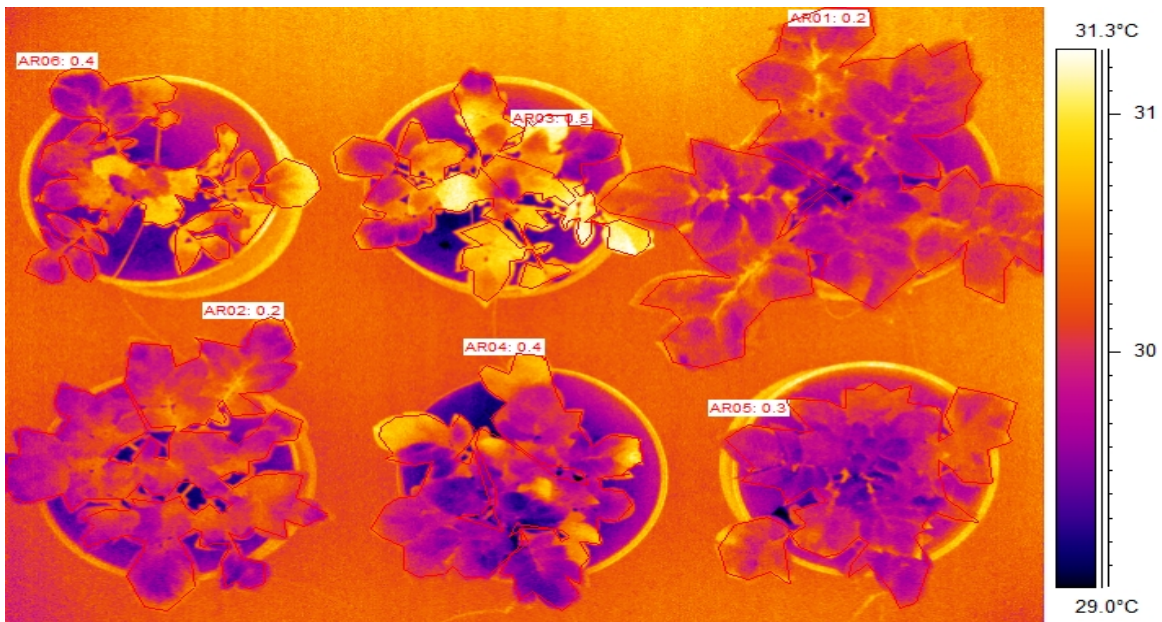
De proef bestond uit 6 jonge planten ("ruimte") die in de ruimte zijn geplaatst om daar onder geconditioneerde omstandigheden verder te groeien. Gedurende 1 week zijn er 10.080 beeldopnamen gemaakt.



Figuur 22.

Jonge planten die geïnoculeerd zijn met Erwinia laten een verstoorde bladafkoeling / wateropname zien in de onderste en oudere bladeren (hoger beeldcontrast) in vergelijking met de gezonde planten. Dit verschijnsel wordt specifiek waargenomen in een periode van 2 uur na inschakeling van de LED groeilampen. Het verloop van de blad-koeling en mogelijk de wateropname lijkt verstoord te zijn bij de jonge Erwinia planten wanneer het groeilicht intreedt (Figuur 23).

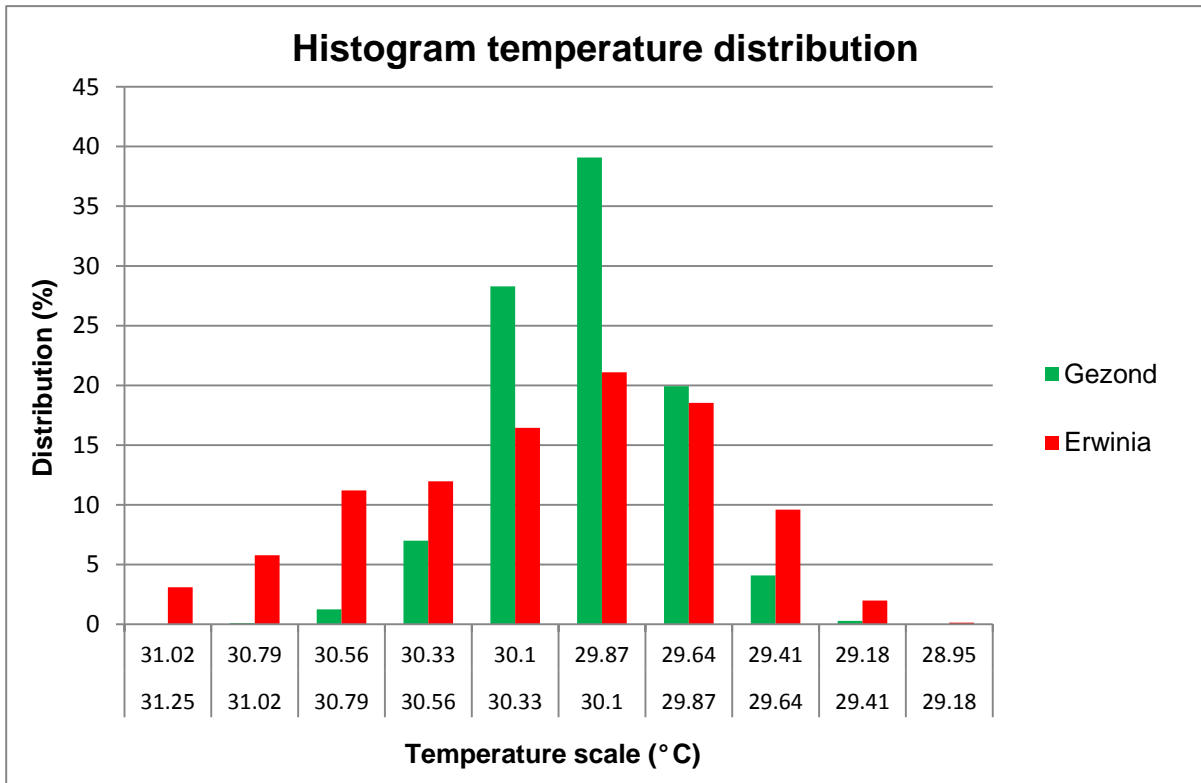
Erwinia E07, Ruimte	Erwinia E07, ruimte	Gezond, Ruimte
AVG = 30.3°C	AVG = 30.5°C	AVG = 30.0°C
$\Delta T = 2.0^\circ\text{C}$	$\Delta T = 2.2^\circ\text{C}$	$\Delta T = 1.9^\circ\text{C}$
StDev = 0.4°C	StDev = 0.5°C	StDev = 0.2°C



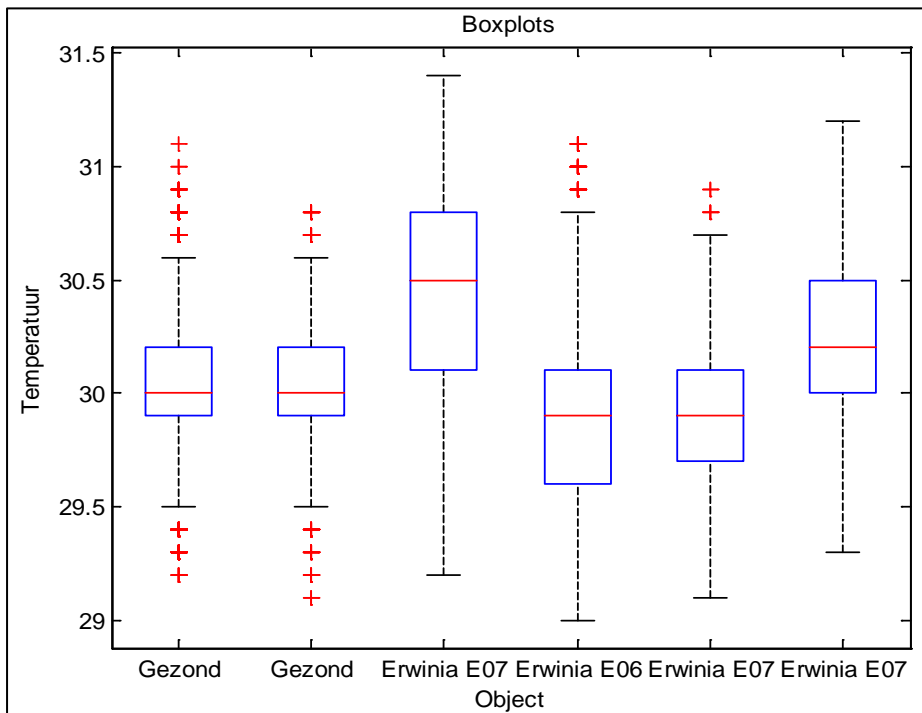
Gezond, Ruimte	Erwinia E06, Ruimte	Erwinia E07, Ruimte
AVG = 30.0°C	AVG = 29.9°C	AVG = 29.9°C
$\Delta T = 1.7^\circ\text{C}$	$\Delta T = 2.2^\circ\text{C}$	$\Delta T = 1.8^\circ\text{C}$
StDev = 0.2°C	StDev = 0.4°C	StDev = 0.3°C

Figuur 23. Een thermische beeld 1 uur na intrede van het groeilicht.

De rode lijnen binnen een plant geeft het meetgebied weer (Figuur 23). Binnen dit gebied is van elke individuele planten het temperatuurbereik berekend. Dit is vervolgens geclusterd per object, Erwinia geïnfecteerd en gezond, met elk 3 planten. In Figuur 24 en 25 is dit resultaat weergegeven in de vorm van een histogram en als boxplot. Hieruit is op te merken dat na inschakeling van het groeilicht een uniforme temperatuur bij de gezonde planten heerst en veel temperatuurafwijkingen bij de Erwinia geïnfecteerde planten. Dit kan duiden op een verstoord watertransport doordat sommige plantdelen geblokkeerd worden door Erwinia bacteriekolonies.



Figuur 24. De temperatuurschaal indeling van de Erwinia geïnfecteerde en gezonde planten.



Figuur 25. Boxplots van de temperatuurspreiding van gezonde en Erwinia geïnfecteerde planten.

Conclusies experimenten met thermische camera

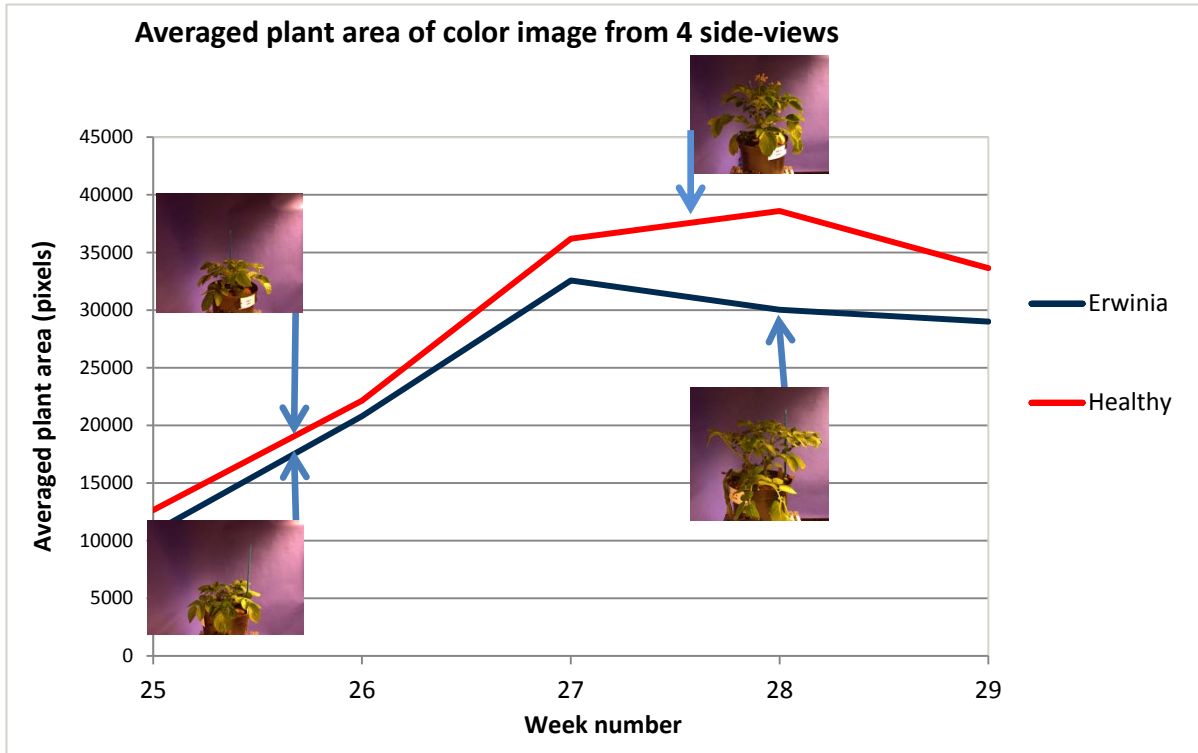
Uit de experimenten kan geconcludeerd worden dat:

- Verwelkende Erwinia planten uit het veld laten een groter temperatuurverdeling zien binnen de plant en een hogere standaard deviatie.
- Bij de planten die zijn opgegroeid in de ruimte is er geen temperatuurverschil tussen Erwinia ziek en gezond.

- Jonge planten die met Erwinia geïnfecteerd zijn laten een verstoorde bladafkoeling / wateropname zien in de onderste en oudere bladeren in vergelijking met de gezonde planten.

3.6 3D techniek

In paragraaf 2.6 zijn de uitgevoerde metingen beschreven. Van een groot aantal planten in verschillende stadia zijn 3D opnames gemaakt voor een analyse van de (relatieve) plantgroei.



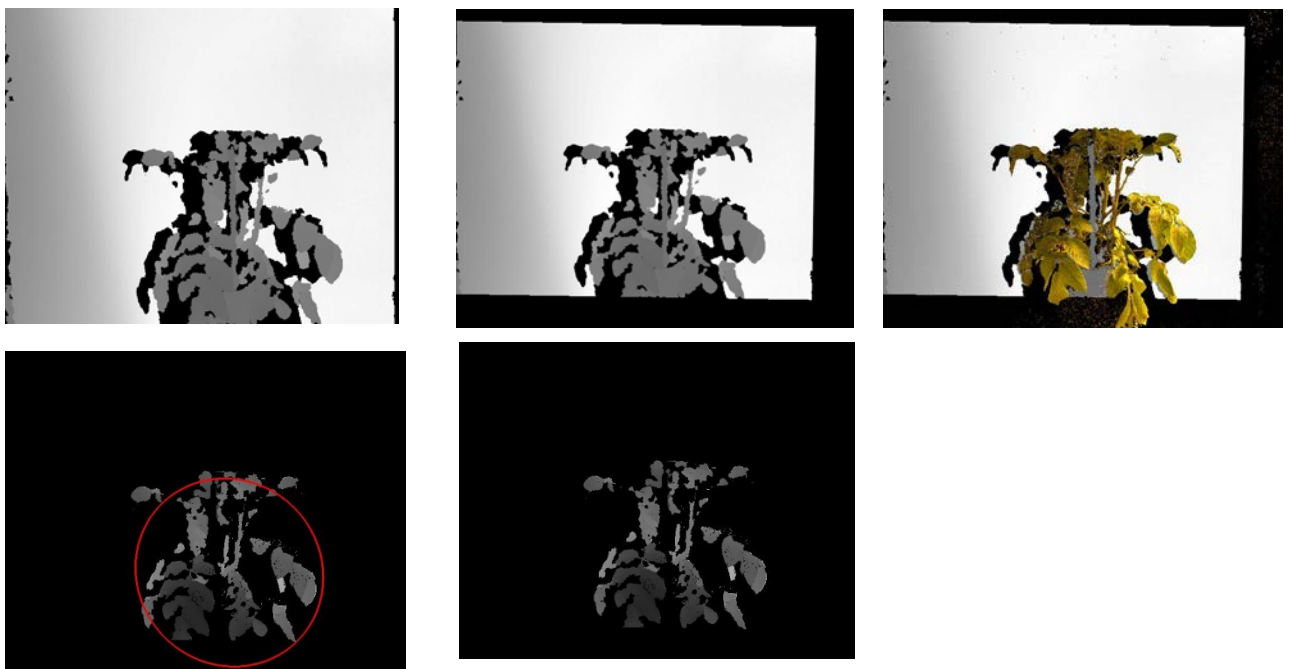
Figuur 26. Gemiddeld plantoppervlak van het kleurbeeld uitgezet per meetweek.

Uit Figuur 26 blijkt dat het plantoppervlak van de Erwinia geïnfecteerde planten significant lager is dan die van gezonde planten. Gedurende de tijd wordt dit verschil steeds groter, wat indirect inhoudt dat de groeisnelheid van een Erwinia geïnfecteerde plant beduidend lager ligt dan een gezonde plant. Dit is ook aangetoond door een ANOVA statistische analyse, zie Tabel 15 ("Repeated Measures" wat de tijdreeks aanduidt). Vanaf week 27 is er een nagenoeg significant verschil tussen het plantoppervlak van Erwinia en gezonde planten, week 28 is er een overduidelijk significant verschil. Dit betekent dat monitoring van het plantoppervlak uit het kleurbeeld een onderscheidende techniek kan zijn.

Tabel 15. **Variantieanalyse (ANOVA met 95% betrouwbaarheidsinterval) van het plantoppervlak (in pixels) uit het kleurbeeld. De nummers tussen haakjes geven het aantal beeldopnamen aan. Een significant verschil heerst bij $P < 0.05$ (gele rijen).**

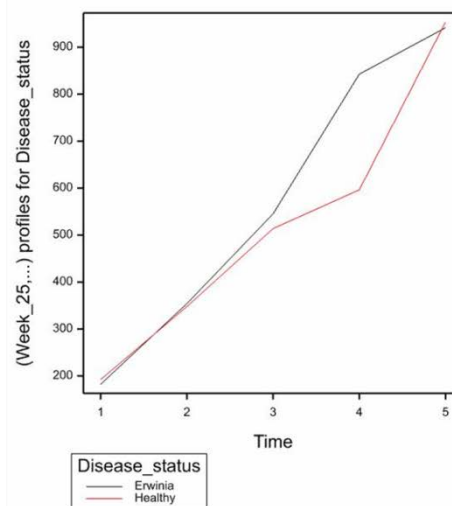
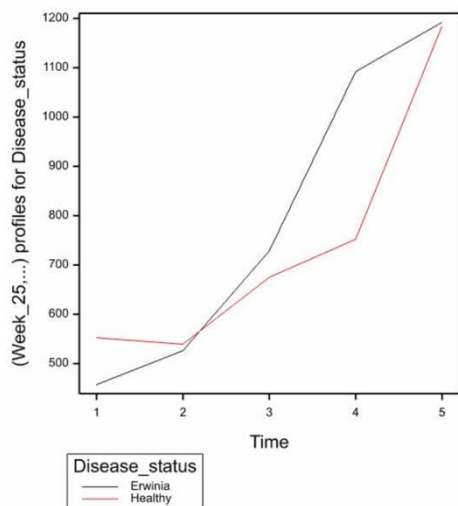
PlantColor_Area	Healthy	Erwinia	P-value
Repeated measures	29148 (210)	24134 (65)	0.010
Week 25	12637 (19)	10707 (6)	0.319
Week 26	22135 (39)	20791 (10)	0.553
Week 27	36329 (40)	32409 (12)	0.071
Week 28	38324 (23)	30535 (10)	0.002
Week 29	33641 (5)	29004 (8)	0.262

Omdat de kleurcamera een fysiek andere sensor is dan de dieptecamera, treedt er beeldvervalsing op. Daarom is met een beeldtranslatie en -opschaling het dieptebeeld gelinkt met het kleurbeeld. Hierna is het dieptegebied van de plant gelinkt met het werkelijke kleurbeeld (zie Figuur 9, par. 2.6) om vervolgens een beeldanalyse te kunnen uitvoeren (Figuur 27).



Figuur 27. **VLNR beginnend boven: het originele dieptebeeld, het dieptebeeld na translatie en opschaling, link met het kleurbeeld, uitsnijding van het dieptebeeld van de plant, beeldanalyse d.m.v. ellips vorming.**

Het dieptebeeld is gebruikt voor de volume bepaling van de plant, door de grootste en kleinste as van de gefitte ellips te nemen. Ook is hieruit de mate van plant "compactheid" bepaald.



Figuur 28. In de linkse figuur de afmeting van de grootste ellips-as en in de rechtse figuur de afmeting van de kleinste ellips-as. De nummers 1 t/m 5 corresponderen met week 25 t/m 29.

Uit figuur 28 en tabel 16 en 17 blijkt dat de Erwinia geïnfecteerde planten in week 28 grotere ellipsassen hebben dan de gezonde planten. Beide tijdreeksen ("Repeated measures") zijn nagenoeg significant verschillend. Een significant groter gefitte ellips betekent een minder compacte plant (uitgestrekte plant). Dit is zodoende een onderscheidende eigenschap voor de veelal slaphangende en "schrane" Erwinia planten.

Tabel 16. Variantieanalyse van de gemiddelde as-afmetingen (in pixels) van de grootste ellips-as bepaald uit 4 dieptebeelden per plant. De nummers tussen haakjes geven het aantal beeldopnamen aan. Een significant verschil heerst bij $P < 0.05$ (gele rijen).

PlantDepth_Radius1	Healthy	Erwinia	P-value
Repeated measures	712.4 (210)	775.1 (65)	0.072
Week 25	552.3 (19)	457.3 (6)	0.015
Week 26	539.2 (39)	526.1 (10)	0.593
Week 27	674.9 (40)	728.4 (12)	0.289
Week 28	752.1 (23)	1092.2 (10)	0.001
Week 29	1184.4 (5)	1191.9 (8)	0.919

Tabel 17. Variantieanalyse van de gemiddelde as-afmetingen (in pixels) van de kleinste ellips-as bepaald uit 4 dieptebeelden per plant.

PlantDepth_Radius2	Healthy	Erwinia	P-value
Repeated measures	501.5 (210)	550.7 (65)	0.088
Week 25	192.4 (19)	182.2 (6)	0.619
Week 26	347.7 (39)	354.0 (10)	0.753
Week 27	513.8 (40)	545.2 (12)	0.440
Week 28	596.3 (23)	842.5 (10)	0.004
Week 29	953.4 (5)	941.4 (8)	0.874

Conclusies uit de 3D experimenten:

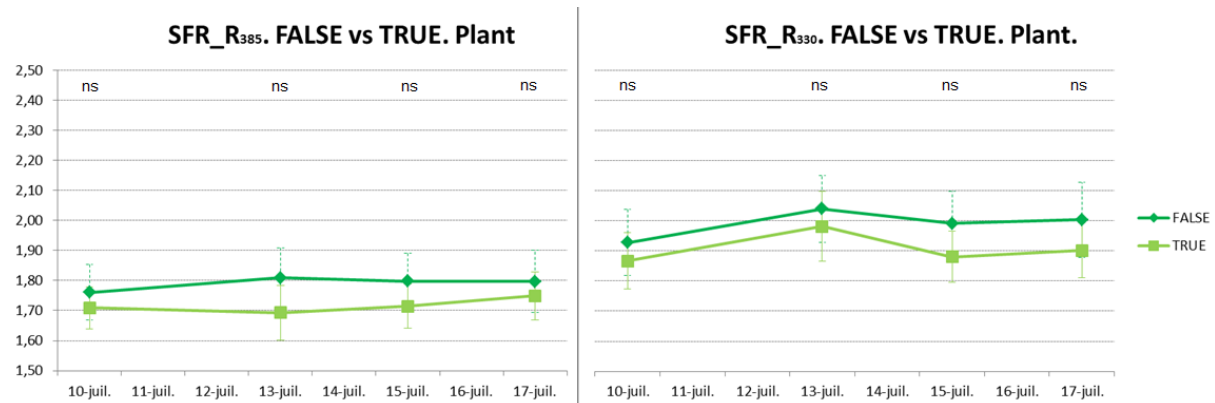
- Het plantoppervlak en de groeisnelheid bij Erwinia geïnfecteerde planten, bepaald uit het kleurenbeeld, is significant kleiner dan die van gezonde planten.
- 3D dieptebeelden tonen significant aan dat de Erwinia geïnfecteerde planten minder compact zijn dan gezonde planten.

- Uit de twee bovenstaande bevindingen is te herleiden dat het volume van een Erwinia geïnfecteerde plant significant kleiner is dan een gezonde plant.

3.7 Force-A techniek

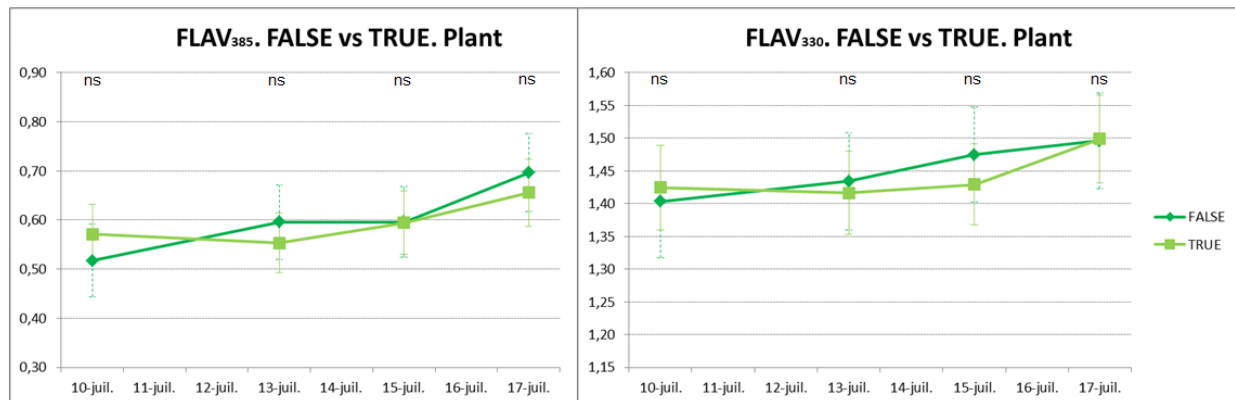
In paragraaf 2.7 zijn de metingen beschreven die met de Force-A meetapparatuur zijn uitgevoerd. De data-analyse is uitgevoerd door Force-A, omdat zij specialist zijn in de analyse van de specifieke plantpigmenten.

De eerste analyse is gedaan op de chlorofyl index en deze toont een klein verschil tussen de gezonde ("False") en zieke planten ("True"), zie figuur 29. Wat betreft de tijdreeks is er geen statistisch significant verschil toonbaar.



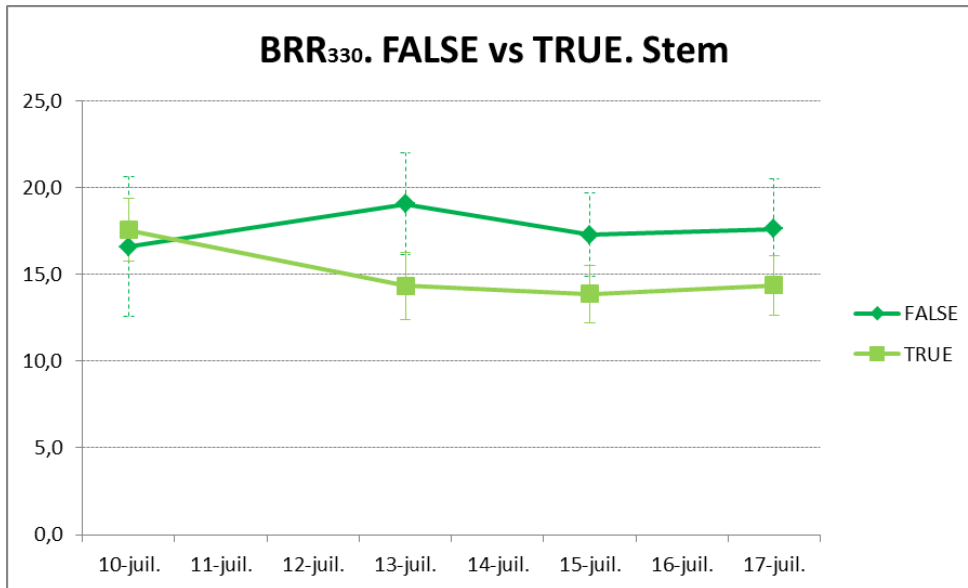
Figuur 29. Links de chlorofyl index output van de MX-375 en rechts die van de MX-330. De lichtgroene "True" lijnen betreffen de Erwinia zieke planten; de donkergroene lijn "False" de gezonde planten. NS geeft een niet-significant verschil aan.

De tweede analyse is gedaan op de flavonolen, zie figuur 30. Er is een lichte stijging te zien van de flavonolen voor beide objecten gedurende de tijd, echter is geen significant verschil aantoonbaar.



Figuur 30. Links de flavonols output van de MX-375 en rechts die van de MX-330.

De ratio tussen de blauwe en "ver"rode fluorescentie bij 330 nm (BRR) laat een significant verschil op 1 meetdag (13 juli) zien tussen de stengels van Erwinia zieke en gezonde planten (figuur 31). De overige meetdagen blijken niet significant.



Figuur 31. **De ratio tussen de blauwe en "ver"rode fluorescentie is lager voor Erwinia zieke planten, echter alleen significant op 13 juli.**

Conclusies uit de experimenten:

- Beide Force-A sensoren hebben geen onderscheidend vermogen tussen Erwinia zieke en gezonde planten als het gaat om de chlorofyl index en de flavonolen.
- De ratio tussen blauwe en "ver"rode fluorescentie tussen Erwinia ziek en gezond is slechts op 1 meetdag significant verschillend.

Discussiepunten Force-A sensoren:

- De sensoren voeren spotmetingen uit en omdat ze niet beeldvormend zijn, worden er mogelijke zieke plekken gemist.
- De huidige MX-330 en MX-375 zijn contactsensoren en dus minder geschikt voor veldmetingen.

Algemene conclusie Force-A sensoren:

- De Force-A sensoren zijn niet onderscheidend genoeg om een Erwinia zieke plant te detecteren en zijn dus niet geschikt voor de ziekzoekkar.

4 Conclusies, discussie en aanbevelingen

Spectrale camera techniek

In deze studie is uitgegaan van scans van de zijkant van de plant, om zodoende zowel de onderste als de bovenste delen van de plant te kunnen analyseren. En ook om zowel pixels van zowel blad als stengel apart te analyseren. Onderscheidende selectie van blad en stengel pixels blijkt heel eenvoudig te zijn door een lineaire classifier te trainen op het reflectiespectrum. Er blijkt een significant verschil te zijn boven 950nm, die dit mogelijk maakt. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door water absorptie die in de stengel veel meer een rol speelt dan in blad.

Uit de haalbaarheidsstudie is gebleken dat het vroegtijdig herkennen van viruszieke planten enkele weken na opkomst goed mogelijk is met spectrale camera's. De resultaten zijn in de eerste meetweek gelijk aan de score van de gewas expert. Pixels uit de bladeren dragen iets meer bij aan het resultaat dan pixels uit de stengel. Bovendien blijken pixels uit het onderste deel van de plant beter resultaat te geven dan pixels die hoger in het gewas liggen.

Detectie van Erwinia blijkt heel moeilijk te zijn. Belangrijkste reden is dat de symptomen heel lokaal zijn, zoals verwelking van top bladeren, zwartbenigheid in het onderste deel van de stengel. De analyse is gedaan op een random selectie van blad en stengel pixels van de hele plant. In het vervolg onderzoek moet veel specifiekere naar verschillende plantonderdelen gekeken worden en gezocht worden naar discriminerende criteria die het mogelijk maken om pixels te selecteren op plekken die ertoe doen.

Chlorofyl Fluorescentie techniek

Met de chlorofylfluorescentie methode zijn viruszieke planten zeer goed te meten met een eenvoudig meetprotocol, namelijk in het donker meten van planten die meer dan een half uur in het donker hebben gestaan. Zowel de vals positieve als de vals negatieve waarnemingen zijn zeer laag. Bij een grens van 6% werden van de 15 zieke planten 13 planten als ziek beoordeeld en 2 onterecht als gezond. Van de 10 gezonde planten werden 9 planten als gezond beoordeeld en 1 onterecht als ziek. Door de grens waarop beoordeeld wordt groter te kiezen kan eenvoudig minder planten als onterecht ziek worden beoordeeld. Een grens van 8% gaf geen fouten bij de gezonde planten. Wel werden 4 van de 15 zieke planten als gezond beoordeeld. De beste resultaten werden bereikt in een jong plantstadium.

Het donker geadapteerd moeten zijn van de planten is een probleem voor meten in de praktijksituatie. Alleen 's nachts meten met een ziekzoekrobot is vooralsnog geen reële optie.

In de proef gericht op Erwinia worden alle gezonde planten worden ook alle planten als gezond geclassificeerd, terwijl van de zieke planten 4 van de 9 planten als ziek worden geclassificeerd. Worden alleen zieke planten meegenomen die onder veldomstandigheden als ziek kunnen worden beoordeeld, dan is de classificatie met de chlorofylfluorescentie meting 100%, de ziek beoordeelde planten worden als ziek geclassificeerd.

Het hoge percentage van 33% door deze techniek onterecht als gezond geclassificeerde planten kan verklaard worden door het feit dat Erwinia zieke planten intern aangetast kunnen zijn door de ziekte maar dit aan het oppervlak nog niet of nauwelijks laten zien en daardoor een "gezonde" fotosynthese bij metingen geven. Bij planten die duidelijk zichtbare symptomen op de buitenkant van de planten geven, is middels een fotosynthese meting dit voor 100% aan te tonen.

Ook voor Erwinia detectie is het licht geadapteerd zijn van de planten wenselijk. Dit is de reden om deze techniek, die niet wezenlijk beter "presteert" dan (hyper)spectraal opnames, vooralsnog niet verder mee te nemen in het onderzoek.

Thermische camera

De hypothese dat verwelkende Erwinia planten uit het veld een groter temperatuurverdeling laten zien binnen de plant blijkt te kloppen. Bij een van de experimenten bleek dat planten die zijn opgegroeid in de proefruimte geen temperatuurverschil tussen Erwinia ziek en gezond laten zien. Bij jonge planten die met Erwinia geïnfecteerd zijn, laten de onderste en oudere bladeren een verstoorde bladafkoeling / wateropname zien in vergelijking met de gezonde planten.

Bij vertaling van deze techniek naar praktijktoepassing spelen de volgende overwegingen een belangrijke rol:

- De temperatuurreactie (verschillen tussen ziek/gezond) zijn klein en zijn in een geconditioneerde omgeving meetbaar. In een buitenomgeving zijn temperatuurreacties van een plant in buitencondities zijn niet altijd gerelateerd aan plant-infecties, maar bijvoorbeeld aan zonstraling, temperatuurwisselingen, luchtvochtigheid en bodemvocht.
- Praktische inpasbaarheid van deze sensor is nu nog lastig doordat er real-time datalogging en beeldcorrecties nodig zijn.
- Licht geïnfecteerde planten laten geen verschil in bladtemperatuur zien.
- Verstoring van de wateropname bij jonge planten vraagt om een continue beeldlogging en real-time verwerking, wat niet toepasbaar is in een ziekzoek-voertuig.

Dit maakt het minder kansrijk om deze techniek in te zetten in een praktijkomgeving, zeker niet als leidende (discriminerende) techniek, hoogstens als een ondersteunende.

3D techniek

Deze techniek is niet toegepast op virus besmette planten.

In de experimenten met de 3D camera is aangetoond dat het plantoppervlak en de groeisnelheid bij Erwinia geïnfecteerde planten, bepaald uit het kleurenbeeld, significant kleiner is dan die van gezonde planten. Daarbij blijken de Erwinia geïnfecteerde planten minder compact zijn dan gezonde planten. Per saldo heeft een Erwinia geïnfecteerde plant een significant kleiner volume dan een gezonde plant.

Om in de praktijk met de 3D camera techniek conclusies te kunnen trekken is het alleen mogelijk om obv. beeldreeksen uitsluitend te geven over de ziektestatus. Real-time spot detectie is niet mogelijk met deze techniek. Planthistorie en geografische locatie zijn van belang in het schatten van de ziektestatus in het veld. Een punt van aandacht is het moment waarop kan worden vastgesteld dat een plant significant achterblijft in groei. Als dit op een moment is dat planten in de rij door elkaar groeien, dan bemoeilijkt dit het trekken van conclusies.

Per saldo kan met een 3D camera met additionele kleurbeelden goed onderscheid gemaakt worden tussen Erwinia ziek en gezond mits dit gebeurt over een tijdreeks. De techniek lijkt geschikt voor ziekzoeken, mits groeiachterstand tijdig in het groeiseizoen kan worden vastgesteld. Dit dient nader verkend te worden.

Force-A techniek

Force-A beschikt over een 2 typen handmeters, die veel in de druiventeelt worden ingezet voor de detectie van meeldauwaantasting en rijpheid van de druif. Uit een 1 op 1 vertaling naar Erwinia detectie komt naar voren dat deze technieken geen onderscheidend vermogen tussen Erwinia zieke en gezonde planten als het gaat om de chlorofyl index en de flavonols. De ratio tussen blauwe en "ver"rode fluorescentie tussen Erwinia ziek en gezond is slechts op 1 meetdag significant verschillend. De Force-A sensoren voeren bovendien spotmetingen uit en omdat ze niet beeldvormend zijn (niet de hele plant wordt gemeten) worden mogelijk zieke plekken gemist. De huidige MX-330 en MX-375 zijn contactsensoren en dus minder geschikt voor veldmetingen.

In deze vorm zijn Force-A sensoren niet zinvol inzetbaar. Een mogelijke weg is het zoeken naar specifieke afbraakproducten van de Erwinia bacterie om daar vervolgens een meetmethode bij te ontwikkelen. Dit is een lange complexe weg (in overleg met Force-A te verkennen).

Aanbevelingen voor vervolg in 2016

Gelet op de ervaringen in 2015 ligt het voor de hand om in 2016 te focussen op in elk geval de spectraal- en de 3D technieken.

Voor de proef in 2016 moeten de volgende aandachtspunten meegenomen worden:

-
- Er is geen direct verband tussen gemeten kenmerken en de aanwezigheid van de Erwinia bacterie. Er zal vooral naar afwijkende planten moeten worden gezocht die secundaire kenmerken vertonen. Secundaire kenmerken zijn b.v. verkleuring van het top blad, achtergebleven groei, en necrose zwartbenigheid.
 - De hyperspectraal camera (193 spectrale banden) die gebruikt is in de labproef is niet geschikt om in het veld te gebruiken. Er moet worden gezocht naar een geschikt alternatief in de vorm van een (schuin gerichte) multispectraal camera (5-10 meest onderscheidende banden), b.v. van PixelTeq, Ximera of PhotonFocus. In 2016 wordt een nieuwe labproef gedaan, maar vooruitlopend op 2017 moet wel naar deze technologie gekeken worden.
 - Naast de spectrale kenmerken kunnen, gelet op de wijze waarop ziekten zich manifesteren, ook vormkenmerken in de analyse meegenomen worden. Hiervoor is een hoge resolutie 3D camera (range-camera) nodig. Op dit moment is nog niet duidelijk welke camera hiervoor het meest geschikt is en wat de kosten zijn. In 2016 zal een evaluatie van geschikte 3D technieken uitgevoerd worden en zo mogelijk wat initiële tests.

Literatuurlijst

Meijering, L., 2008. *Geef bacterie geen kans*. Boerderij 93(14): 30-32.

Bijlage 1 Overzicht van plantmetingen (per datum) en bijbehorende expertbeoordelingen van ziektebeelden

Virus

Virusplanten - waarnemingen per datum (op dag voorafgaand aan de metingen)														
datum 15-6-2015					datum 23-6-2015					datum 30-6-2015				
plant	inoculum	planth. (cm)	symptomen	ras	plant	inoculum	planth. (cm)	symptomen	ras	plant	inoculum	planth. (cm)	symptomen	ras
121	geen	15	geen	Bintje	121	geen	30	geen	Bintje	121	geen	44	geen	Bintje
122	geen	18	geen	Bintje	123	geen	28	geen	Bintje	123	geen	42	geen	Bintje
123	geen	14	geen	Bintje	125	geen	28	geen	Bintje	125	geen	39	geen	Bintje
125	geen	15	geen	Bintje	126	geen	27	geen	Bintje	126	geen	37	geen	Bintje
126	geen	11	geen	Bintje	128	geen	28	geen	Bintje	128	geen	35	geen	Bintje
131	geen	12	geen	Bintje	131	geen	27	geen	Bintje	131	geen	41	geen	Bintje
132	geen	10	geen	Bintje	132	geen	25	geen	Bintje	132	geen	42	geen	Bintje
133	geen	11	geen	Bintje	133	geen	25	geen	Bintje	133	geen	41	geen	Bintje
134	geen	13	geen	Bintje	134	geen	30	geen	Bintje	134	geen	41	geen	Bintje
135	geen	12	geen	Bintje	135	geen	29	geen	Bintje	135	geen	43	geen	Bintje
138	PVS 009	13	vroeg diepnervigheid	IJsselster	138	PVS 009	28	vroeg diepnervigheid	IJsselster	138	PVS 009	37	vroeg diepnervigheid, e.a. *)	IJsselster
139	PAMV 202	7	geen	Friso	139	PAMV 202	17	diepnervigh.+licht bontig	Friso	139	PAMV 202	31	diepnervigheid + licht bontig	Friso
140	PAMV 202	10	diepnervigheid	Friso	140	PAMV 202	22	diepnervigh.+licht bontig	Friso	140	PAMV 202	33	diepnervigheid + licht bontig	Friso
141	PAMV 202	11	diepnervigh.+licht bontig	Friso	141	PAMV 202	21	diepnervigh.+licht bontig	Friso	141	PAMV 202	33	diepnervigheid + licht bontig	Friso
142	PLRV 303	5	groevertraging	Bintje	142	PLRV 303	13	groevertr, lichte bladrol	Bintje	142	PLRV 303	19	groevertraging, lichte bladrol	Bintje
143	PLRV 303	7	groevertraging	Bintje	143	PLRV 303	12	groevertr, lichte bladrol	Bintje	143	PLRV 303	21	groevertraging, lichte bladrol	Bintje
144	PLRV 303	8	groevertraging	Bintje	144	PLRV 303	12	groevertr, lichte bladrol	Bintje	144	PLRV 303	21	groevertraging, lichte bladrol	Bintje
146	PVA 410	16	krinkel en bont	Sirtema	146	PVA 410	29	krinkel en lichte bont	Sirtema	146	PVA 410	31	krinkel en lichte bont	Sirtema
148	PVV 502	15	krinkel	Gladblaadje	148	PVV 502	25	krinkel	Gladblaadje	148	PVV 502	31	krinkel	Gladblaadje
149	PVV 502	16	krinkel	Gladblaadje	149	PVV 502	26	krinkel	Gladblaadje	149	PVV 502	34	krinkel	Gladblaadje
150	PVV 502	10	krinkel en bont	Gladblaadje	150	PVV 502	25	krinkel en bont	Gladblaadje	150	PVV 502	32	krinkel en bont	Gladblaadje
151	PVY 753	13	bont	Bintje	151	PVY 753	23	licht bont	Bintje	151	PVY 753	25	licht bont	Bintje
156	PVY 755	11	krinkel en bont	Bintje	156	PVY 755	20	krinkel	Bintje	156	PVY 755	31	krinkel	Bintje
158	PVY 772	13	krinkel en bont	Bintje	158	PVY 772	19	krinkel en bont	Bintje	158	PVY 772	26	krinkel en bont	Bintje
161	PVY 773	18	krinkel en bont	Bintje	161	PVY 773	25	krinkel en bont	Bintje	161	PVY 773	24	krinkel en bont	Bintje
25					symptomen weer iets meer uitgesproken t.o.v. vorige week					symptomen weer iets meer uitgesproken t.o.v. vorige week				
25					25					25				
Toelichting:														
- groeivertr = groevertraging														
*) vroeg diepnervigheid, beginnende bronsvlekken, bruine bladranden atypisch voor virus														

Beoordeling <i>Erwinia</i> besmette planten																																			
					meting 19-6					meting 23-6										meting 26-6					meting 30-6										
plant	serie	inoculum	datum	planth. (cm)	symp-tomen					meting	meting	plant	serie	inoculum	datum	planth. (cm)	symp-tomen				meting	meting	plant	serie	inoculum	datum	planth. (cm)	symp-tomen				meting	meting		
001	A	water	18-6-2015	14	geen	x						001	A	water	25-6-2015	19	geen	x						001	A	water	2-7-2015	30	geen			x			
002	A	water	18-6-2015	9	geen	x						002	A	water	25-6-2015	19	geen	x						002	A	water	2-7-2015	30	geen			x			
003	A	water	18-6-2015	12	geen	x						003	A	water	25-6-2015	20	geen	x						003	A	water	2-7-2015	29	geen			x			
004	A	water	18-6-2015	10	geen	x						004	A	water	25-6-2015	18	geen	x						004	A	water	2-7-2015	28	geen			x			
005	A	water	18-6-2015	10	geen	x						005	A	water	25-6-2015	18	geen	x						005	A	water	2-7-2015	29	geen			x			
006	A	water	18-6-2015	7	geen	x						006	A	water	25-6-2015	13	geen	x						006	A	water	2-7-2015	27	geen			x			
007	A	water	18-6-2015	10	geen	x						007	A	water	25-6-2015	17	geen	x						007	A	water	2-7-2015	30	geen			x			
008	A	water	18-6-2015	7	geen	x						008	A	water	25-6-2015	16	geen	x						008	A	water	2-7-2015	32	geen			x			
009	A	water	18-6-2015	10	geen	x						009	A	water	25-6-2015	18	geen	x						009	A	water	2-7-2015	31	geen			x			
010	A	water	18-6-2015	10	geen	9,4 x						010	A	water	25-6-2015	15	geen	17,25 x						010	A	water	2-7-2015	29	geen	28,8 x					
011	A	water	18-6-2015	8	geen					x		011	A	water	25-6-2015	16	geen							011	A	water	2-7-2015	27	geen			x			
012	A	water	18-6-2015	7	geen					x		012	A	water	25-6-2015	16	geen							012	A	water	2-7-2015	25	geen			x			
013	A	water	18-6-2015	8	geen					x		013	A	water	25-6-2015	17	geen							013	A	water	2-7-2015	28	geen			x			
014	A	water	18-6-2015	9	geen					x		014	A	water	25-6-2015	15	geen							014	A	water	2-7-2015	29	geen			x			
015	A	water	18-6-2015	5	geen					x		015	A	water	25-6-2015	11	geen							015	A	water	2-7-2015	24	geen			x			
016	A	water	18-6-2015	8	geen					x		016	A	water	25-6-2015	18	geen							016	A	water	2-7-2015	29	geen			x			
017	A	water	18-6-2015	8	geen					x		017	A	water	25-6-2015	18	geen							017	A	water	2-7-2015	30	geen			x			
018	A	water	18-6-2015	10	geen					x		018	A	water	25-6-2015	19	geen							018	A	water	2-7-2015	31	geen			x			
019	A	water	18-6-2015	11	geen					x		019	A	water	25-6-2015	19	geen							019	A	water	2-7-2015	29	geen			x			
020	A	water	18-6-2015	15	geen					x		020	A	water	25-6-2015	23	geen							020	A	water	2-7-2015	29	geen			x			
021	A	Ds E6	18-6-2015	9	geen					x		021	A	Ds E6	25-6-2015	16	geen							021	A	Ds E6	2-7-2015	23	geen			x			
022	A	Ds E6	18-6-2015	9	geen					x		022	A	Ds E6	25-6-2015	16	geen							022	A	Ds E6	2-7-2015	23	geen			x			
023	A	Ds E6	18-6-2015	10	geen					x		023	A	Ds E6	25-6-2015	17	geen							023	A	Ds E6	2-7-2015	28	geen			x			
024	A	Ds E6	18-6-2015	9	geen					x		024	A	Ds E6	25-6-2015	14	geen							024	A	Ds E6	2-7-2015	27	geen			x			
025	A	Ds E6	18-6-2015	10	geen					x		025	A	Ds E6	25-6-2015	14	geen							025	A	Ds E6	2-7-2015	25	geen			x			
026	A	Ds E6	18-6-2015	10	geen					x		026	A	Ds E6	25-6-2015	16	geen							026	A	Ds E6	2-7-2015	26	geen			x			
027	A	Ds E6	18-6-2015	9	geen					x		027	A	Ds E6	25-6-2015	17	geen							027	A	Ds E6	2-7-2015	27	geen			x			
028	A	Ds E6	18-6-2015	8	geen					x		028	A	Ds E6	25-6-2015	16	geen							028	A	Ds E6	2-7-2015	28	geen			x			
029	A	Ds E6	18-6-2015	10	geen					x		029	A	Ds E6	25-6-2015	16	geen							029	A	Ds E6	2-7-2015	27	geen			x			
030	A	Ds E6	18-6-2015	11	geen	9,7 x						030	A	Ds E6	25-6-2015	17	geen	16,55 x						030	A	Ds E6	2-7-2015	29	geen	4		4	26,4 x		
031	A	Ds E6	18-6-2015	11	geen					x		031	A	Ds E6	29-6-2015	18	2							031	A	Ds E6	2-7-2015	22	2, beginnend 6			x			
032	A	Ds E6	18-6-2015	6	geen					x		032	A	Ds E6	25-6-2015	17	1							032	A	Ds E6	2-7-2015	18				1		x	
033	A	Ds E6	18-6-2015	10	geen					x		033	A	Ds E6	25-6-2015	20	geen							033	A	Ds E6	2-7-2015	33	geen			x			
034	A	Ds E6	18-6-2015	11	geen					x		034	A	Ds E6	25-6-2015	18	geen							034	A	Ds E6	2-7-2015	27	geen			x			
035	A	Ds E6	18-6-2015	9	geen					x		035	A	Ds E6	25-6-2015	15	geen							035	A	Ds E6	2-7-2015	29	geen			x			
036	A	Ds E6	18-6-2015	10	geen					x		036	A	Ds E6	25-6-2015	17	geen							036	A	Ds E6	2-7-2015	26	geen			x			
037	A	Ds E6	18-6-2015	12	geen					x		037	A	Ds E6	25-6-2015	16	geen							037	A	Ds E6	2-7-2015	27	geen			x			
038	A	Ds E6	18-6-2015	11	geen					x		038	A	Ds E6	25-6-2015	17	geen							038	A	Ds E6	2-7-2015	30	geen			x			
039	A	Ds E6	18-6-2015	10	geen					x		039	A	Ds E6	25-6-2015	18	geen							039	A	Ds E6	2-7-2015	29	geen			x			
040	A	Ds E6	18-6-2015	9	geen					x		040	A	Ds E6	25-6-2015	16	geen							040	A	Ds E6	2-7-2015	24	geen			x			
041	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		041	A	Ds E7	25-6-2015	12	geen							041	A	Ds E7	2-7-2015	25	geen			x			
042	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		042	A	Ds E7	25-6-2015	14	geen							042	A	Ds E7	2-7-2015	28	geen			x			
043	A	Ds E7	18-6-2015	10	geen					x		043	A	Ds E7	25-6-2015	13	geen							043	A	Ds E7	2-7-2015	27	geen			x			
044	A	Ds E7	18-6-2015	11	geen					x		044	A	Ds E7	25-6-2015	15	geen							044	A	Ds E7	2-7-2015	26	geen			x			
045	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		045	A	Ds E7	25-6-2015	13	geen							045	A	Ds E7	2-7-2015	27	geen			x			
046	A	Ds E7	18-6-2015	4	geen					x		046	A	Ds E7	25-6-2015	6	geen							046	A	Ds E7	2-7-2015	20		4		x			
047	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		047	A	Ds E7	25-6-2015	12	geen							047	A	Ds E7	2-7-2015	24	geen			x			
048	A	Ds E7	18-6-2015	9	geen					x		048	A	Ds E7	25-6-2015	14	geen							048	A	Ds E7	2-7-2015	25	geen			x			
049	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		049	A	Ds E7	25-6-2015	12	geen							049	A	Ds E7	2-7-2015	26	geen			x			
050	A	Ds E7	18-6-2015	7	geen	8,21 x						050	A	Ds E7	25-6-2015	15	geen	13,42 x						050	A	Ds E7	2-7-2015	29	geen	25,9 x					
051	A	Ds E7	18-6-2015	10	geen					x		051	A	Ds E7	25-6-2015	15	geen							051	A	Ds E7	2-7-2015	27	geen			x			
052	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		052	A	Ds E7	25-6-2015	12	geen							052	A	Ds E7	2-7-2015	25	geen			x			
053	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		053	A	Ds E7	25-6-2015	14	geen							053	A	Ds E7	2-7-2015	27	geen			x			
054	A	Ds E7	18-6-2015	8	geen					x		054	A	Ds E7	25-6-2015	16	geen							054	A	Ds E7	2-7-2015	27	geen			x			
055	A	Ds E7	18-6-2015	9	geen					x		055	A	Ds E7	25-6-20																				

Bijlage 2 Resultaten van virus-zieke planten

Deze bijlage is (in verband met de omvang) separaat op te vragen bij de projectleider.

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



Praktijkonderzoek Plant & Omgeving,
onderdeel van Wageningen UR
Edelhertweg 1
Postbus 430
8200 AK Lelystad
T (+31)320 29 11 11
www.wageningenUR.nl/ppo

Report 703

Bij Wageningen UR proberen plantonderzoekers de eigenschappen van planten te benutten om problemen op het gebied van voedsel, grondstoffen en energie op te lossen. Zo worden onze kennis van planten en onze moderne voorzieningen ingezet om de kwaliteit van leven in het algemeen en de innovatiekracht van onze opdrachtgevers in het bijzonder te vergroten.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.500 medewerkers en 10.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

