



Proefresultaten Ziekzoeker 2011

Spectrale en chlorofylfluorescentie beeldanalyse virus- en bacteriezieke pootaardappelen

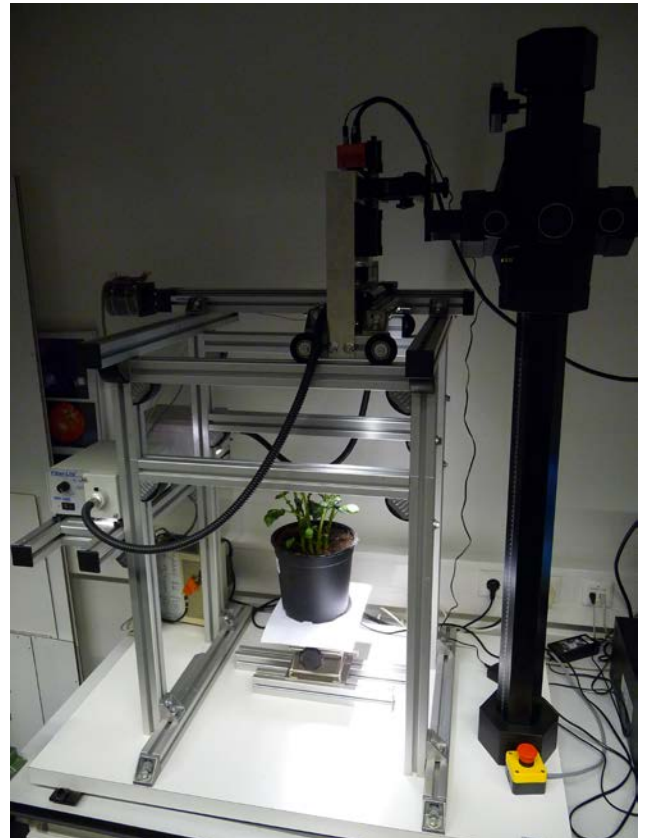
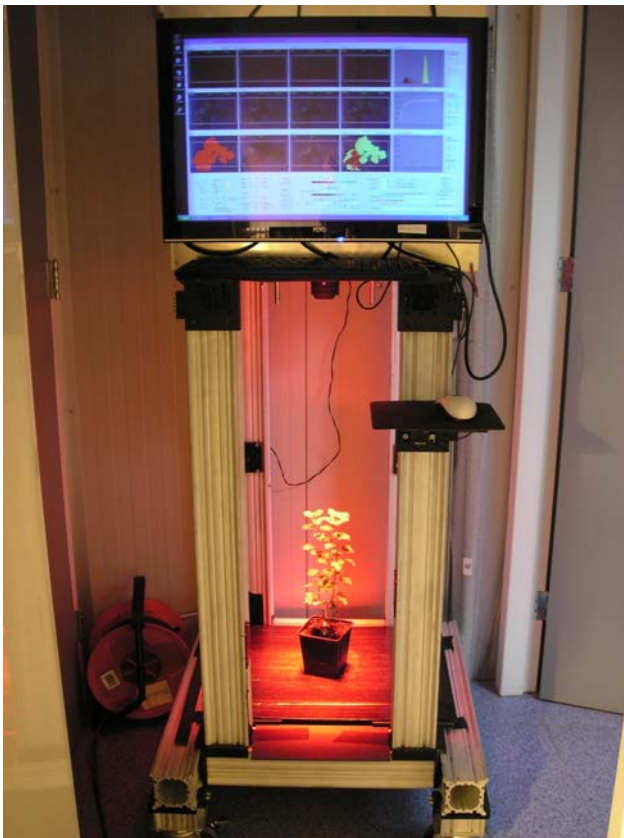
Pieter Blok	(PPO – AGV)
Gerrit Polder	(PRI – Biometris)
Rob van der Schoor	(Glastuinbouw)
Henk Jalink	(Glastuinbouw)
Jan Kamp	(PPO – AGV)



Proefresultaten Ziekzoeker 2011

Spectrale en chlorofylfluorescentie beeldanalyse virus- en bacteriezieke pootaardappelen

Pieter Blok	(PPO – AGV)
Gerrit Polder	(PRI – Biometris)
Rob van der Schoor	(Glastuinbouw)
Henk Jalink	(Glastuinbouw)
Jan Kamp	(PPO – AGV)



© 2012 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Business Unit Akkerbouw, Groene ruimte en Vollegrondsgroenten.

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

Projectnummer: PPO – 3250229400
PRI –3320013410

Opdrachtgevers:

- Productschap Akkerbouw
- Nederlandse Aardappel Organisatie
- Schouten Sorting Equipment
- Graafstra Appelscha BV

Mede mogelijk gemaakt dankzij financiële bijdragen van:

- Rabobank Projectenfonds
- Stichting Proefbedrijven Flevoland



Rabobank

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, onderdeel van Wageningen UR Business Unit Akkerbouw, Groene Ruimte en Vollegrondsgroenten

Adres : Postbus 430, 8200 AK Lelystad
: Edelhertweg 1, 8219 PH Lelystad
Tel. : +31 320 29 11 11
Fax : +31 320 23 04 79
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING	7
2 PROEFOPZET	9
2.1 Spectrale metingen.....	13
2.2 Spectrale beeldanalyse	14
2.3 Chlorofylfluorescentie metingen	16
2.4 Chlorofylfluorescentie beeldanalyse.....	17
3 RESULTATEN	19
3.1 Spectrale virus detectie.....	19
3.2 Chlorofylfluorescentie virus detectie	22
3.3 Spectrale Erwinia detectie	23
3.4 Chlorofylfluorescentie Erwinia detectie.....	24
4 CONCLUSIE, DISCUSSIE EN AANBEVELINGEN	27
5 LITERATUURLIJST	29
BIJLAGE 1: LABELING VAN VIRUS-ZIEKE PLANTEN	31
BIJLAGE 2: VISUEEL BEOORDEELDE ERWINIA ZIEKTESYMPTOMEN	37
BIJLAGE 3: LABELING VAN ERWINIA-ZIEKE PLANTEN.....	39

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.

In 2010 zijn een eerste serie metingen in pootaardappelen uitgevoerd met een bestaande opstelling voor detectie van viruszieke tulpenbollen. De resultaten hiervan waren niet goed genoeg. Daarom is dit onderzoek met name gericht op het vinden van de meest geschikte opnametechniek voor het ziekzoeken, waarmee een eenduidig onderscheid te maken is tussen zieke en niet-zieke planten. Een belangrijk accent ligt op het vroegtijdig herkennen van zieke planten. De nieuwe technologieën hebben vooral meerwaarde als het herkennen mogelijk wordt voordat de symptomen door het menselijk oog waarneembaar zijn.

Een veldproef behoorde in 2011 niet tot de mogelijkheden. Daarom zijn een tweetal meettechnieken toegepast op opgepotte zieke en gezonde planten in diverse stadia van ontwikkeling. Het betreft enerzijds metingen met een spectrale camera, die gewasreflectie in 193 banden kan meten. Anderzijds de chlorofylfluorescentietechniek, waarin de fotosynthese-activiteit van de plant centraal staat.

Viruszieke planten

Metingen met de spectraal camera laten redelijk goede resultaten zien. 95% van de zieke planten worden door de apparatuur als ziek geclassificeerd. Echter, 30% van de gezonde planten worden als ziek aangemerkt. Deze verhouding werd beter naarmate het groeiseizoen vorderde en de virusziekte zich scherper in blad toonde. Hoewel deze scores bemoedigend zijn, is dit onvoldoende betrouwbaar voor de praktijk. In dit onderzoek is geen gebruik gemaakt van de 3-D beeldanalyse van bladeren. Gelet op de wijze waarop de ziekten zichtbaar worden, is deze techniek (als aanvulling op de spectraal camera) kansrijk.

Metingen met de chlorofylfluorescentie camera blijken het meest succesvol als de plant “donker geadapteerd” is en daarna 5 minuten de zogenoemde effectieve efficiëntie wordt gemeten. Dan zijn zieke en gezonde planten goed van elkaar te scheiden. Vertaling van deze techniek naar de praktijk heeft als beperking dat er dus alleen 's nachts gemeten kan worden. Geconcludeerd is dat deze techniek voor virusdetectie minder geschikt is.

Erwinia detectie

De spectraal camera is vooral in staat om Erwinia zieke planten met symptomen te herkennen. Opvallend is dat er zieke planten worden gevonden die door de expert 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. Daarmee heeft deze techniek een voorsprong op visuele detectie door selecteurs (menselijk oog), maar worden nog te veel zieke planten niet herkend.

De groeiomstandigheden van de geteste planten zijn anders geweest dan in het veld. Verwacht wordt dat een goede instelling en afstelling van de apparatuur, waarbij de camera onder een schuine hoek wordt geplaatst waardoor ook afwijkende bladeren dieper in het gewas gemeten kan worden, goede perspectieven biedt.

De fluorescentie metingen herkennen veel Erwinia zieke planten. Echter, de huidige opstelling geeft in 38% van de gevallen een vals positieve classificatie (onterecht als gezond gemeten). Heel positief is dat in slechts 1% van de planten een vals negatief oordeel (onterecht als ziek gemeten). Ook hier is de verwachting dat een meting gericht op de voet van de plant aanmerkelijk betere resultaten zal geven, omdat het eerst de voet van de plant door Erwinia wordt aangetast en vervolgens de hoger gelegen delen van de plant.

Op basis van deze meetresultaten en discussies in de klankbordgroep kan 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.

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.

PPO-AGV heeft in samenwerking met PRI Biometris in 2010 een “proof of principal” project voor de ontwikkeling van een pootgoed-ziekzoeker uitgevoerd. De resultaten zijn in breder verband besproken. Geconcludeerd is dat:

- een goed functionerende ziekzoeker (op termijn) een grote meerwaarde heeft voor de pootgoedsector.
- een vervolgproject in 2011 zich moet richten op het zo vroegtijdig mogelijk detecteren van Erwinia (daarbij de detectie van viruszieke planten niet vergetend).
- Het verder uittesten van de technologie, zodat daarna een verantwoord traject kan worden opgestart gericht op het operationeel maken van deze technologie.

Er is besloten om in 2011 een haalbaarheidsstudie te verrichten, om de volgende vraag te beantwoorden: “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 wordt ook de herkenning van virusziekten meegenomen.

Doel van de haalbaarheidsstudie is het vinden van de meest geschikte opnametechniek voor het ziekzoeken, waarmee een eenduidig onderscheid te maken is tussen zieke en niet-zieke planten. Een belangrijk accent is het vroegtijdig herkennen van zieke planten. Dit vroegtijdig herkennen moet plaats vinden voordat de symptomen door het menselijk oog waarneembaar zijn.

Een veldproef behoorde in 2011 niet tot de mogelijkheden, omdat het teeltseizoen bij aanvang van het experiment al te vergevorderd was. Met de Erwinia specialisten van PRI is overlegd en besloten dat deze vervangen werd door een werkwijze waarbij wekelijks planten werden opgepot, zodat daarna in een korte periode zieke en gezonde planten konden worden gemeten in elk stadium van ontwikkeling. Dit bood ook de mogelijkheid om de meettechnieken iets bij te stellen en kort daarna weer in meerdere stadia metingen te verrichten. Dit om het eerste moment van herkenning van het Erwinia ziektebeeld te achterhalen.

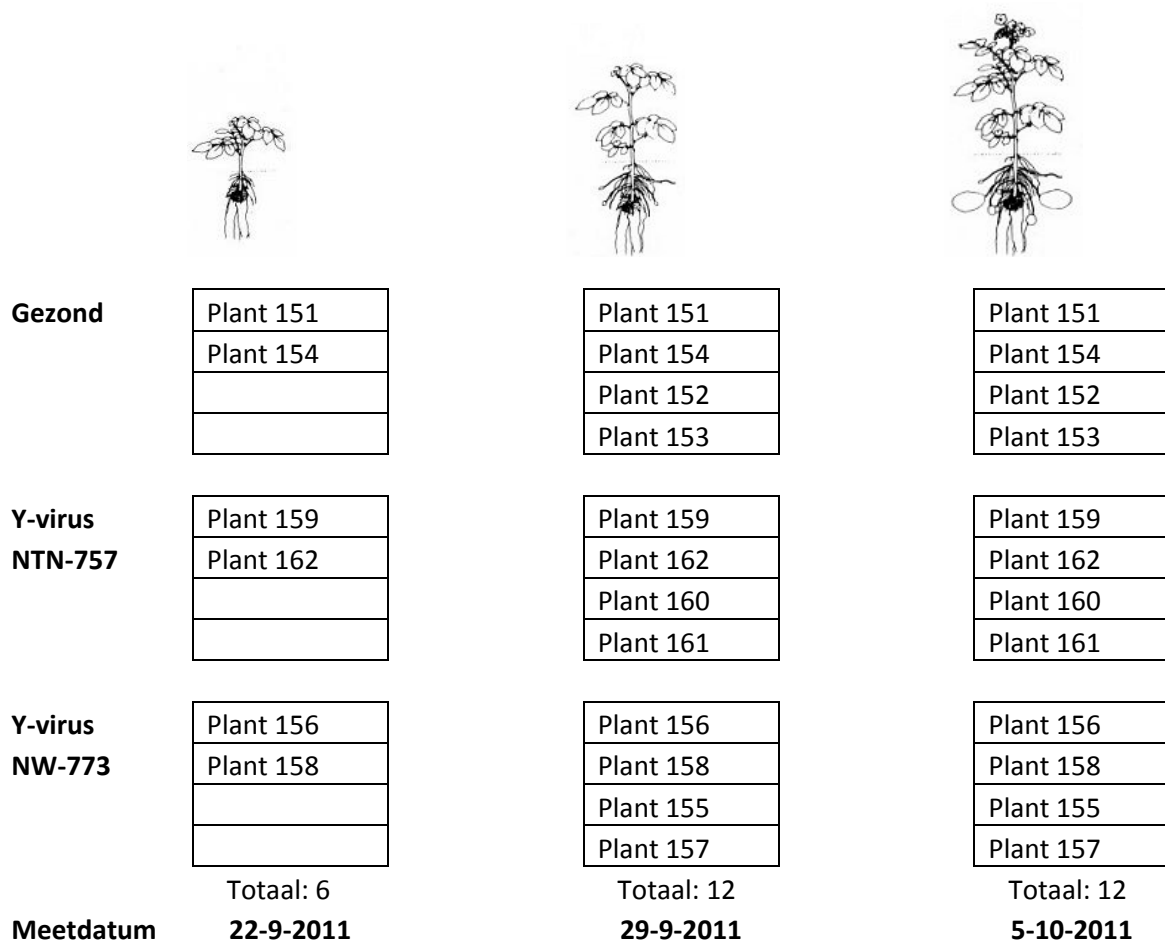
Dit verslag beschrijft de proefresultaten van de detectie van virus- en bacteriezieke pootaardappelen met behulp van spectrale- en chlorofylfluorescentie camera's.

2 Proefopzet

De proef was ingericht om te testen of virus- en bacteriezieke pootaardappelen in een vroeg stadium te detecteren zijn met spectrale- en chlorophyl fluorescentie beeldanalyse. Spectrale beeldanalyse is een techniek die met behulp van camera-opnametechnieken en spectroscopie, in dit geval planten van pootaardappelen, kan inspecteren op een niet-destructieve manier. Spectroscopie is de analyse van het lichtspectrum als een functie van golflengte. In deze proef komt het neer op de analyse van lichtreflectie afkomstig van het bovengronds plantmateriaal van pootaardappelen. Met spectrale beeldanalyse wordt getracht om zichtbare- en mogelijk niet zichtbare veranderingen in plantmateriaal veroorzaakt door een virus- of bacterieziekte waar te nemen met behulp van lichtreflectie en beeldtechnieken.

Met chlorofylfluorescentie wordt de werking van de actuele fotosynthese in beeld gebracht. Ziektes als virussen en bacteriën hebben een interactie met de fotosynthese. Ten gevolge van deze interactie wordt de werking van de fotosynthese verminderd. Dit is uit te drukken in de efficiëntie van de fotosynthese. Met de Pulsed LED-camera van Glastuinbouw worden in 300 ms 30 chlorofylfluorescentie beelden opgenomen. Uit deze reeks van beelden wordt een beeld berekend die correleert met de efficiëntie van de fotosynthese.

In de koude kas van PRI in Wageningen zijn in totaal 8 viruszieke en 52 bacteriezieke planten van pootaardappelen opgekweekt en vergeleken met planten van respectievelijk 4 en 18 gezonde pootaardappelen. De pootaardappelen voor de virusdetectie (8 zieke tegenover 4 gezonde) waren van het ras Bintje en die voor Erwinia (52 tegenover 18) van het ras Première (omdat de poters van het ras Condor niet waren opgekomen door te ernstige Erwinia besmetting). De viruszieke pootaardappelen zijn geïnfecteerd met twee virussen: y-virus NTN-757 en y-virus NW-773. De Erwinia knollen zijn geïnoculeerd met respectievelijk 10^6 en 10^7 Dickeya (stam 222) cellen/ml. Om ziekte detectie in een vroeg stadium mogelijk te maken, zijn de aardappelplanten na opkomst gemeten en vervolgens zijn metingen herhaald tot 2 à 3 weken na opkomst. Hierdoor zijn er 30 meetobjecten (Figuur 1) ontstaan voor de virusdetectie (10 gezond tegenover 20 ziek) en 143 objecten (Figuur 2) voor de Erwinia detectie (40 gezond tegenover 103 ziek).



Figuur 1. Proefschem van de 30 meetobjecten voor virusdetectie.



Gezond

Plant 1
Plant 5
Plant 6
Plant 7

Plant 9
Plant 52
Plant 103
Plant 104

Plant 1
Plant 5
Plant 6
Plant 7
Plant 4
Plant 10

Plant 9
Plant 52
Plant 103
Plant 104
Plant 2
Plant 58
Plant 102
Plant 106

Plant 1
Plant 5
Plant 6
Plant 7
Plant 4
Plant 10

Plant 105
Plant 107
Plant 108
Plant 109

Plant 9
Plant 52
Plant 103
Plant 104
Plant 2
Plant 58
Plant 102
Plant 106

**Erwinia
10⁶
cellen**

Plant 14
Plant 15
Plant 16
Plant 17
Plant 20
Plant 21
Plant 23
Plant 26
Plant 30

Plant 64
Plant 65
Plant 66
Plant 70
Plant 72
Plant 79
Plant 116
Plant 117
Plant 120
Plant 123

Plant 14
Plant 16
Plant 20
Plant 21
Plant 23
Plant 26
Plant 30

Plant 64
Plant 65
Plant 66
Plant 70
Plant 111
Plant 113
Plant 116
Plant 117
Plant 120
Plant 123
Plant 25

Plant 16
Plant 20
Plant 21
Plant 23
Plant 26
Plant 30

Plant 19
Plant 22
Plant 115
Plant 118
Plant 119
Plant 124
Plant 128
Plant 129

Plant 64
Plant 65
Plant 66
Plant 70
Plant 111
Plant 116
Plant 117
Plant 120
Plant 123

Erwinia
10⁷ cellen

Plant 31
Plant 33
Plant 35
Plant 36
Plant 39
Plant 46
Plant 48

Plant 85
Plant 92
Plant 140
Plant 143
Plant 147
Plant 149

Plant 31
Plant 33
Plant 35
Plant 39
Plant 42
Plant 48
Plant 49
Plant 50
Plant 66

Plant 85
Plant 92
Plant 140
Plant 147
Plant 32

Plant 31
Plant 33
Plant 35
Plant 36
Plant 42
Plant 48
Plant 50

Plant 43
Plant 133
Plant 146

Plant 85
Plant 92
Plant 140
Plant 143
Plant 147

Meetdatum 1-11-2011
Plantmoment (serie 1)
Totaal: 20

3-11-2011
(serie 2)
20

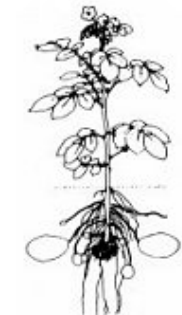
8-11-2011
(serie 1)
22

10-11-2011
(serie 2)
24

15-11-2011
(serie 1)
19

16-11-2011
(serie 3)
15

17-11-2011
(serie 2)
23

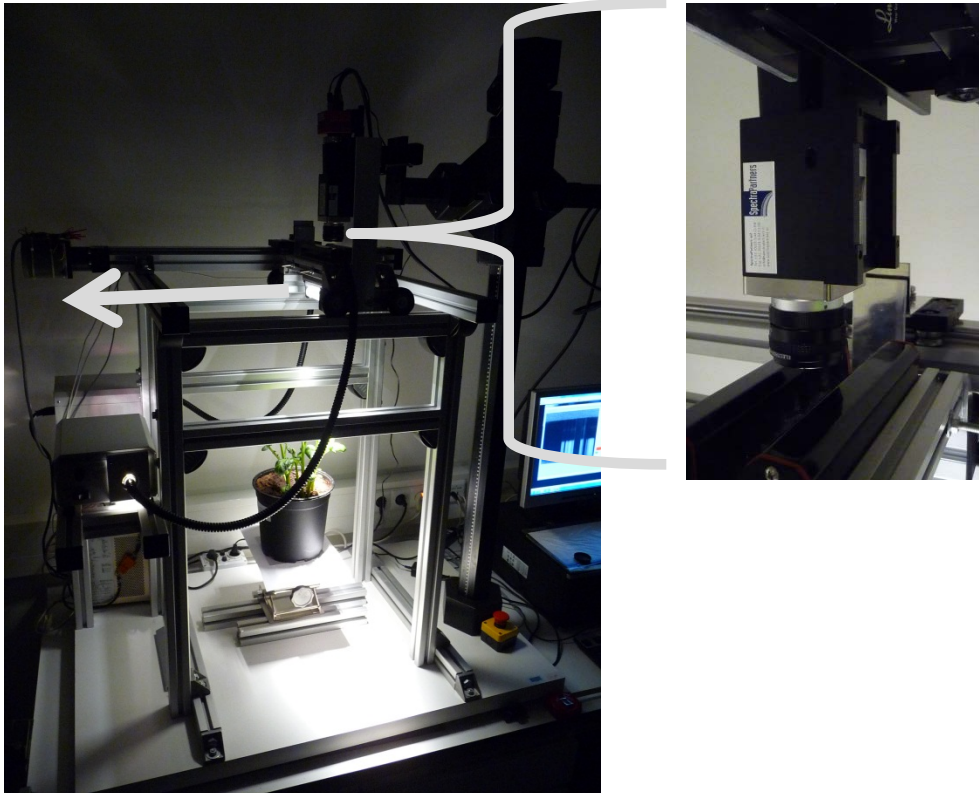


Figuur 2. Proefschem van de 143 meetobjecten voor bacteriedetectie.

Serie 3 (Figuur 2) was een extra serie van overgebleven laat opgekomen knollen. Het ontwikkelstadium is daarom lager dan serie 1 en serie 2.

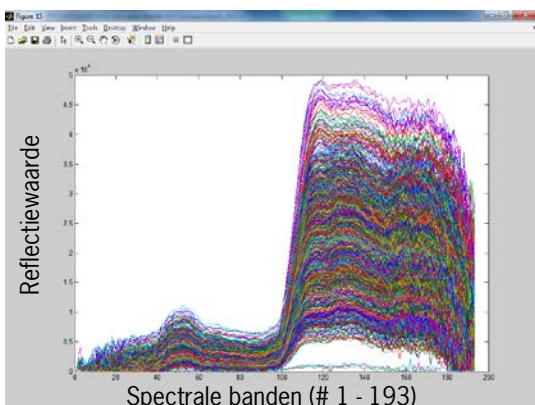
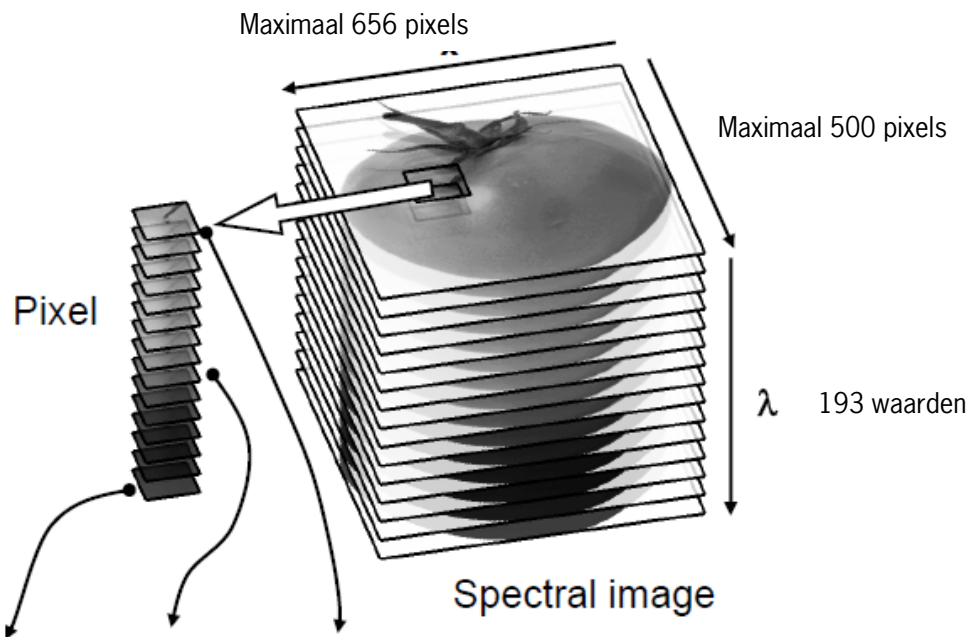
2.1 Spectrale metingen

De meetopstelling was zo ingericht dat de spectrale camera via een instelbare stappentafel over de pootaardappelen (opgekweekt in potten) getrokken werd. 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 3: De meetopstelling van de spectrale beeldanalyse, met rechts de spectrale camera.

De aardappelplanten zijn vanaf de bovenkant doorgemeten, waarbij de grootte van het beeld maximaal 656 bij 500 pixels bedroeg. 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 4) met een golflengteverschil tussen opeenvolgende waarden van 3 nm (spectrale resolutie).



Figuur 4. **Meetprincipe van de spectrale camera.**

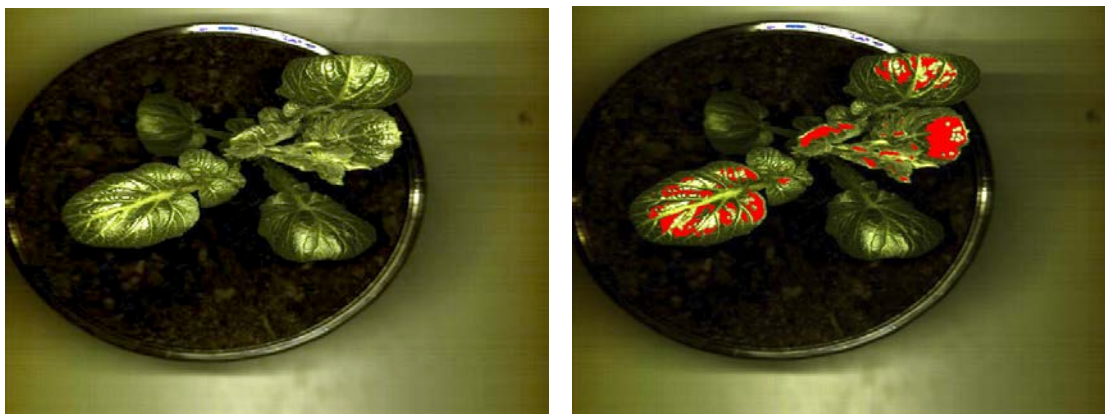
2.2 Spectrale beeldanalyse

Als laatste is met behulp van software de beeldanalyse uitgevoerd. De software is ontwikkeld in Matlab (mathematisch softwarepakket), gekoppeld met de beeldverwerkingextensie DIPimage en statistische analysetool PRtools. De reflectiespectra (zoals weergegeven in Figuur 4) werd geanalyseerd in de software (volgens het schema van Figuur 1 en 2). Om plantaardig materiaal te onderscheiden van potgrond, achtergrond en andere niet interessante objecten is het zogenaamde NDVI beeld bepaald. NDVI staat voor Normalised Difference Vegetation Index en wordt berekend door het verschil in nabij-infrarode (829 nm) en rode (672 nm) reflectie te delen door het product van nabij-infrarode en rode reflectie¹. De NDVI berekening levert een waarde tussen 0 en 1, waarbij hoge waarden (grovweg > 0.7) corresponderen met vegetatie. Er is een NDVI filter van 0.7 gemaakt op het beeld zodat er alleen plantpixels geselecteerd worden.

$$^1 \text{ NDVI} = \frac{R_{829 \text{ nm}} - R_{672 \text{ nm}}}{R_{829 \text{ nm}} + R_{672 \text{ nm}}}$$

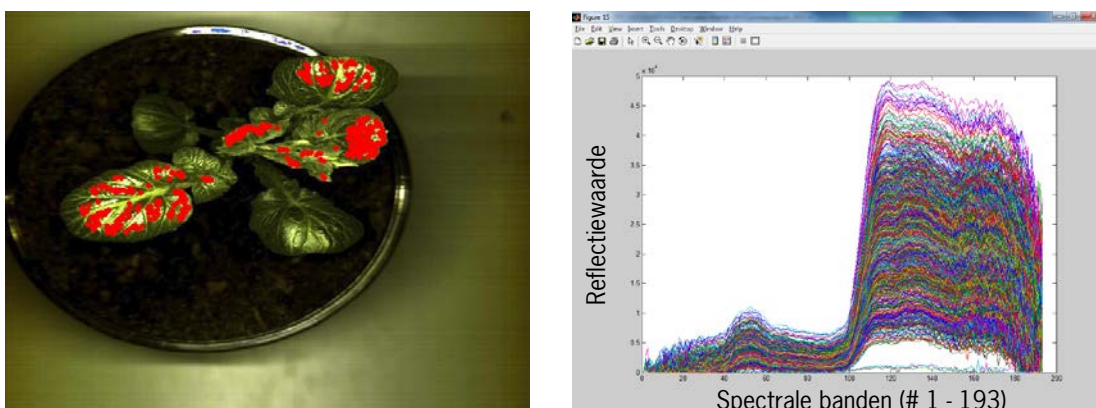
R=reflectie

Vervolgens zijn met een automatische filter de topbladeren bepaald. Dit kan omdat de topbladeren de hoogste reflectiewaarden hebben. Zoals blijkt uit Figuur 5, levert de software na deze stap de reflectiewaarden van de topbladeren.



Figuur 5. **Links de opname van Plant 39 op 1/11. Rechts de geselecteerde pixels (rood) na het toepassen van het filter.**

Omdat er op deze manier nog heel veel pixels overblijven (veel data) en omdat het aantal geselecteerde pixels per plant verschillend is, zijn per plant willekeurig 500 pixels gekozen (Figuur 6).



Figuur 6. **Links 500 willekeurig geselecteerde pixels. Rechts reflectiespectra van de 500 pixels, weergegeven in 193 banden.**

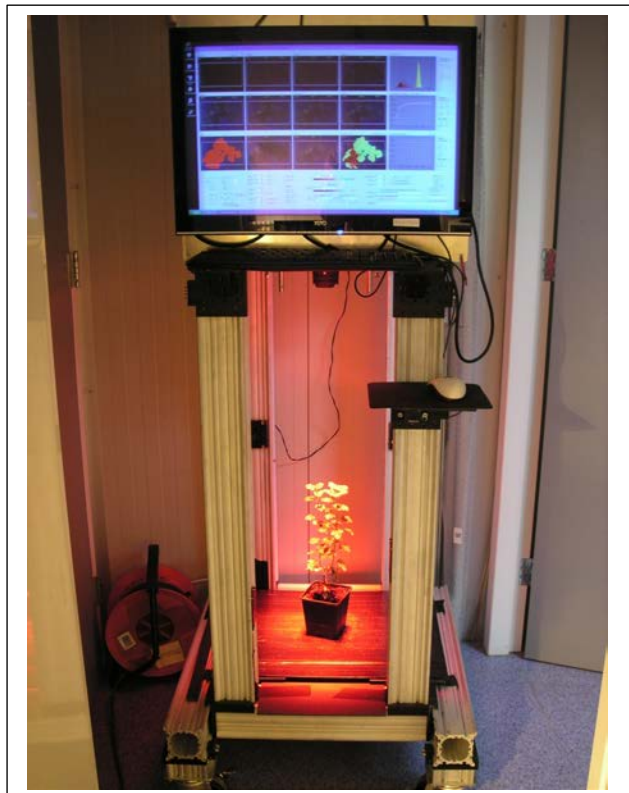
Omdat bekend was welke plant ziek was en welke gezond, was het mogelijk om een “supervised” classificatie te doen met behulp van PRtools. Een supervised classificatie zoekt statistische verschillen in reflectiedata tussen enerzijds alle zieke en anderzijds alle gezonde planten. Uit Figuur 6 blijkt dat 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 5 opeenvolgende punten het gemiddelde te nemen. Hiermee zijn de spectra teruggebracht van 193 naar 38 datapunten. Van deze 38 spectrale banden zijn er banden die onderscheidend zijn wat betreft ziektebeeld, terwijl andere banden niet tot nauwelijks onderscheidend zijn. Met behulp van de onderscheidende banden met bijhorende scoring (zie Figuren 7 t/m 9) werden vervolgens pixels van beelden geanalyseerd. Op deze manier is het mogelijk om een pixel aan te merken (labelen) als “ziek” of “gezond”. Voor de classificatie is gebruik gemaakt van de “Fisher lineaire classifier”. 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 berekend 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.

Per plant zijn 500 spectra gebruikt. Een plant wordt als "ziek" aangemerkt als minimaal 250 spectra ziek zijn geïdentificeerd en "gezond" als minimaal 250 spectra als gezond zijn geïdentificeerd.

2.3 Chlorofylfluorescentie metingen

De fluorescentie metingen zijn uitgevoerd met de Pulsed LED-camera door de planten van bovenaf te meten. Allereerst werden verschillende protocollen uit getest op zowel virus- als Erwinia zieke planten. Het eerste protocol bestond uit het licht adapteren van de planten bij een vaste waarde van het licht, minimaal 1 uur, en vervolgens te meten bij dezelfde waarde als het omgevingslicht. Bij deze methode wordt de effectieve efficiëntie van de fotosynthese, F_v'/F_m' , gemeten bij de ingestelde waarde van het omgevingslicht. Bij verzwakte planten geeft dit protocol een lagere waarde van de effectieve efficiëntie van de fotosynthese als bij gezonde planten. Het tweede protocol 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, F_v/F_m , bepaald. Deze methode geeft het grootste contrast in het beeld tussen aangetaste en gezonde delen van de plant. Bij het derde protocol worden de planten eerst donker geadapteerd. Vervolgens worden de planten met laag licht belicht en wordt na 5 min. de effectieve efficiëntie van de fotosynthese gemeten. Dit geeft informatie hoe snel een plant zich aanpast aan veranderende licht omstandigheden.



Figuur 7. **De opstelling van de Pulsed LED-camera die gebruikt is voor het opnemen van de fluorescentie beelden.**

2.4 Chlorofylfluorescentie beeldanalyse

De fluorescentie beelden zijn geanalyseerd met in-huis geschreven beeldanalyse software (CFTI) 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 F_v/F_m waarde hebben lager dan bijvoorbeeld 60%, de ingestelde drempelwaarde. Het relatieve oppervlak wordt dan berekend door dit getal door het oppervlak van de plant te delen.

3 Resultaten

3.1 Spectrale virus detectie

In Tabel 1 staan de resultaten van de “supervised” virus-classificatie met behulp van PRtools. In de zogenaamde “confusion matrix” is de werkelijke ziekte-status van de spectra (in totaal 15000 spectra, bestaande uit 500 spectra van 30 objecten) uitgezet tegenover de door de software geschatte ziekte-status van de spectra (“geclassificeerde spectra”). 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.

Uit Tabel 1 valt op te merken dat van de 5000 gezonde spectra (10 gezonde planten) 3369 spectra door de software als “gezond” worden getypeerd (groen getal betekent goede scoring). 1631 pixels zijn fout geïdentificeerd (rood getal betekent foute scoring), namelijk als “ziek”. Dit resultaat vertaalt zich op plantniveau (waarbij >250 geschatte gezonde spectra leidt tot typering “gezond”) naar 7 goed geïdentificeerde planten en 3 fout classificaties (zie Tabel 2). Er moet gekeken worden naar het ziekteverloop: de fout classificering zit in de eerste en tweede meetdag (22/9/2011 en 29/09/2011), waar zieke planten zich nog nauwelijks onderscheiden t.a.v. gezonde planten (zie Bijlage 1). Op de laatste meetdag (05/10/2011) werden alle 12 planten (8 zieke en 4 gezonde) goed geïdentificeerd (Bijlage 1).

Voor de werkelijk zieke planten geldt een betere scoring, namelijk 19 goed geïdentificeerde planten (“ziek”) tegenover 1 fout classificatie (“gezond”), zie Tabel 2. 4 van de 30 planten zijn dus fout geïdentificeerd (rode getallen Tabel 2), waarbij 3 van de 4 een “ziek” scoring is terwijl de plant werkelijk gezond is. Alle 4 fouten komen uit de eerste en tweede meetdag, de laatste meetdag laat een goed classificering van 100% zien.

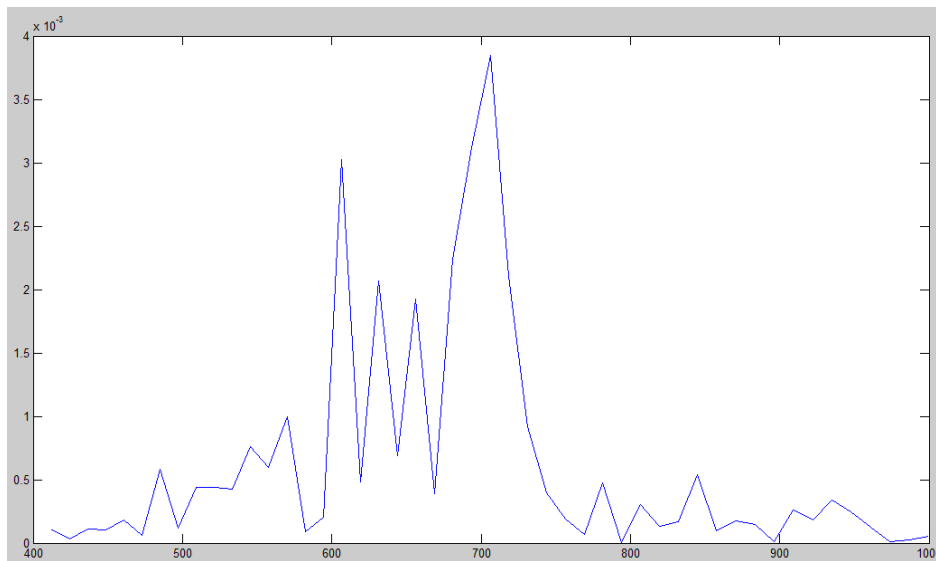
Figuur 8 laat tot slot de spectrale banden zien die meest onderscheidend zijn wat betreft ziektebeeld. De onderscheidende banden die horen bij de pieken (bijvoorbeeld bij 600 en 700 nm) bieden voldoende perspectief om op te nemen in een “ziekzoekkar”.

Tabel 1. **Classificatie resultaten van alle spectra (22/9, 29/9 en 05/10).**

Werkelijke spectra	Geïdentificeerde spectra		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	3369	1631	5000
Ziek	896	9104	10000
Totaal	4265	10735	15000

Tabel 2. **Classificatie resultaat van de individuele planten.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geïdentificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	7	3	10
Ziek	1	19	20
Totaal	8	22	30



Figuur 8. **Onderscheidende spectrale banden (x-as uitgedrukt in nm) die zijn aangeven met pieken.**

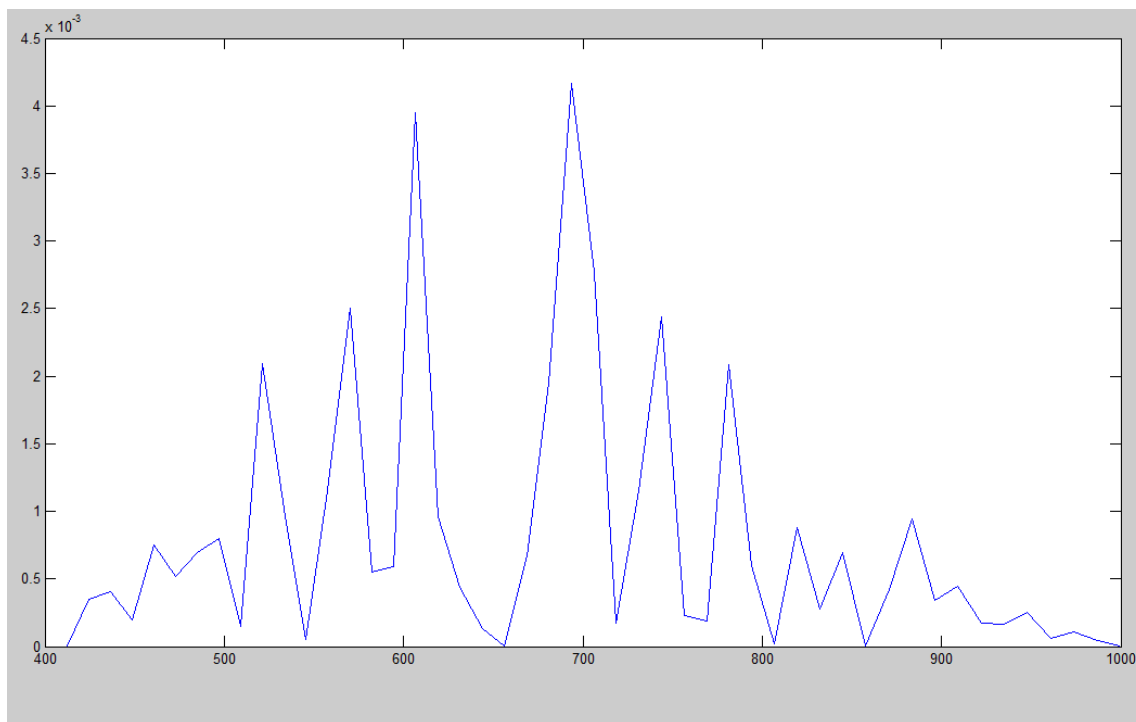
Tabel 3 en 4 geeft aan dat een classificatie, waarbij alleen de 12 planten van de laatste meetdag (05/10/2011) zijn meegenomen voor het bepalen van de scheidingsfunctie (dit in tegenstelling tot Tabel 1 waar alle 30 planten zijn meegenomen), een goed onderscheid levert tussen ziek en gezond. Uit Tabel 4 blijkt dat alle planten van 05/10/2011 goed gescoord worden (groene getallen). Dit correspondeert met de uitspraak over het ziekteverloop, waarbij viruszieke planten beter te onderscheiden zijn in een later stadium.

Tabel 3. **Classificatie resultaten van spectra van de laatste meetdag (05/10/2011).**

Werkelijke spectra	Geclassificeerde spectra		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	1843	157	2000
Ziek	92	3908	4000
Totaal	1935	4065	6000

Tabel 4. **Classificatie resultaat van de individuele planten op 05/10/2011.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	4	0	4
Ziek	0	8	8
Totaal	4	8	12



Figuur 9. **Onderscheidende spectrale banden (x-as uitgedrukt in nm) van de classificatie op 05/10/2011.**

Omdat de scheidingsfunctie alleen is bepaald op de data van de laatste meetdag ontstaan er andere onderscheidende banden (Figuur 9) dan wanneer deze is bepaald op alle data (Figuur 8). De meest onderscheidende spectrale banden van de laatste meetdag zijn aangegeven met pieken in Figuur 9. Dit betreft o.a. de spectrale band bij 575, 600, 700 en 750 nm. Dit houdt in dat de zieke planten van de laatste meetdag (05/10/2011) zich voornamelijk onderscheiden rond deze golflengtes.

De scheidingsfunctie van de laatste meetdag (Figuur 8) is vervolgens getoetst op de planten van de eerdere meetdagen (22/09 en 29/09). Dit om een zo vroeg mogelijk onderscheid van viruszieke planten mogelijk te maken (gezien de goede resultaten op 05/10/2011). Echter, uit Tabel 5 en 6 kan opgemerkt worden dat deze classificatie een slechter onderscheid levert tussen ziek en gezond voor de gehele dataset (6 fout classificeringen tegenover 4 van Tabel 2). Geconcludeerd kan worden dat de classificatie volgens Tabel 1, 2 en Figuur 8 het beste onderscheid levert tussen virusziek en gezond. De beste resultaten (100% correcte scoring) werden hierbij gerealiseerd op de laatste meetdag (05/10/2011, zie Bijlage 1).

Tabel 5. **Classificatie resultaten van de spectra van laatste meetdag (05/10).**

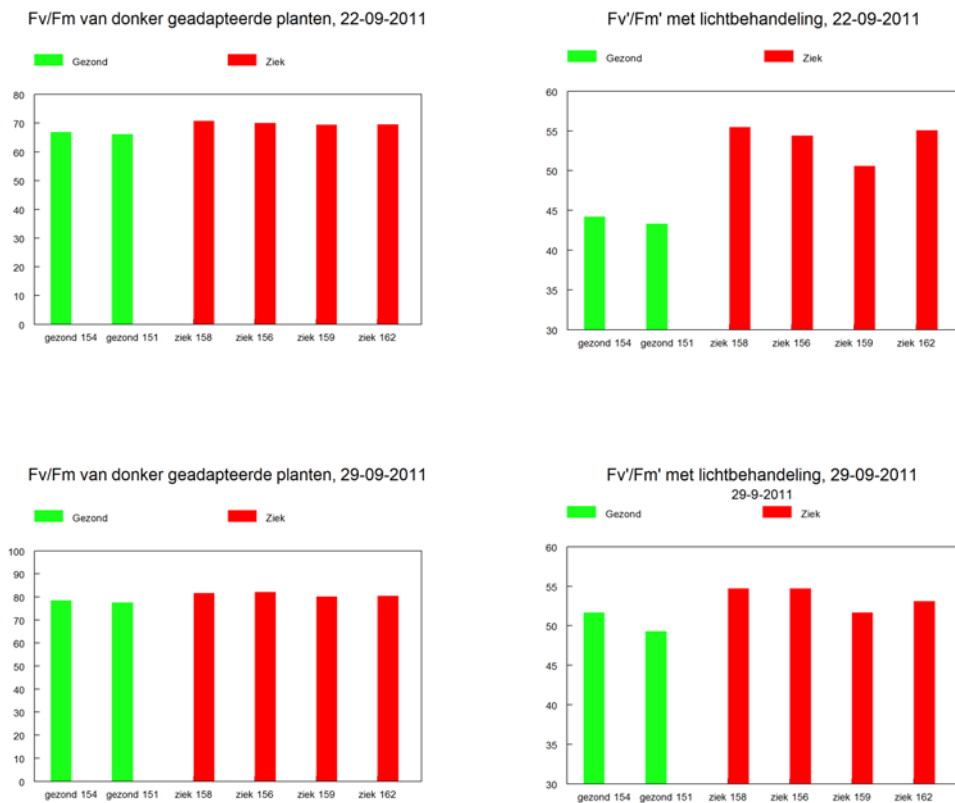
Werkelijke spectra	Geclassificeerde spectra		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	1866	3134	5000
Ziek	89	9911	10000
Totaal	1955	13045	15000

Tabel 6. **Classificatie resultaat van de individuele planten op 05/10.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	4	6	10
Ziek	0	20	20
Totaal	4	26	30

3.2 Chlorofylfluorescentie virus detectie

De resultaten van metingen aan donker geadapteerde planten gaven geen enkel verschil in Fv/Fm waarden tussen de viruszieke- en gezonde planten (figuur 10). Daarentegen gaven de metingen van het derde protocol betere resultaten. Hierbij worden de planten eerst donker geadapteerd en vervolgens worden belicht met laag licht, waarna na 5 min. de effectieve efficiëntie van de fotosynthese wordt gemeten. Op 22-9-2011 zijn duidelijke verschillen te meten tussen de gezonde- en de viruszieke planten. Een week later op 29-09-2011 is het verschil kleiner, maar nog steeds wel aanwezig.



Figuur 10. **Overzicht van de resultaten bereikt op twee meetdagen en voor twee gebruikte meetprotocollen: donker geadapteerde planten en een meting van de maximale efficiëntie van de fotosynthese, Fv/Fm en metingen waarbij de planten eerst worden donker geadapteerd en vervolgens worden belicht met laag licht en na 5 min. wordt de effectieve efficiëntie van de fotosynthese gemeten, Fv'/Fm'.**

3.3 Spectrale Erwinia detectie

In Tabel 7 en 8 staan de resultaten van de “supervised” Erwinia-classificatie. Classificatie is gedaan ten opzichte van de door de gewasexpert gescoorde symptomen (Tabel 7) en de resultaten na uitplaten van de bacterie (Tabel 8). Van deze laatste score mag gesteld worden dat de planten werkelijk ziek waren, maar dat sommige planten geen symptomen lieten zien.

Tabel 7. **Classificatie resultaten van alle planten ten opzichte van door de gewasexpert gescoorde symptomen (1/11, 3/11, 8/11, 10/11, 15/11, 16/11 en 17/11).**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	125	0	125
Ziek	10	8	18
Totaal	135	8	143

Tabel 8. **Classificatie resultaat van de individuele planten ten opzichte van of ze werkelijk ziek zijn of niet, na uitplaten.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	73	9	82
Ziek	28	33	61
Totaal	101	42	143

Uit Tabel 7 blijkt dat iets minder dan de helft van de door de gewasexpert ziek gescoorde planten wordt gevonden. Van de gezonde planten wordt er niet één ziek gescoord. Als we kijken naar de resultaten na uitplaten dan komt de verhouding iets gunstiger te liggen, iets meer dan de helft van de werkelijk zieke planten wordt gevonden, maar nu worden ook meer dan 10% van de gezonde planten onterecht als ziek gescoord. Wel is het zo dat zieke planten worden gevonden die door de expert niet zijn gevonden (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.

Er is ook nog gekeken naar een specifiekere classificatie op basis van de visuele zieksymptomen in de bladeren, namelijk symptoom score 2 (zie Bijlage 2). De specifieke classificatie houdt in dat alleen planten met symptoom 2 (die na uitplating ook werkelijk besmet waren) tegenover visueel gezonde planten (na uitplating Erwinia vrij) zijn gebruikt voor het zoeken naar classificatieverschillen. Symptoomscore 2 (zie Bijlage 2) is gebruikt als kenmerk voor “visueel ziek”, omdat dit symptoom donker groene topbladeren geeft. Dit symptoom is in vergelijking met de andere symptomen goed waarneembaar met de spectrale camera, omdat de camera in de testopstelling de planten van bovenaf doormeet. Alle overige ziektesymptomen zijn helaas niet meetbaar met de spectrale camera zoals in de testopstelling, omdat deze symptomen zich in het onderste gedeelte van de stengel uiteten. De “visueel gezonde” planten zijn planten die ziektesymptoom 0 (geen ziektesymptoom) scoren op het moment dat de “visueel zieke” planten zich uiteten door symptoomscore 2.

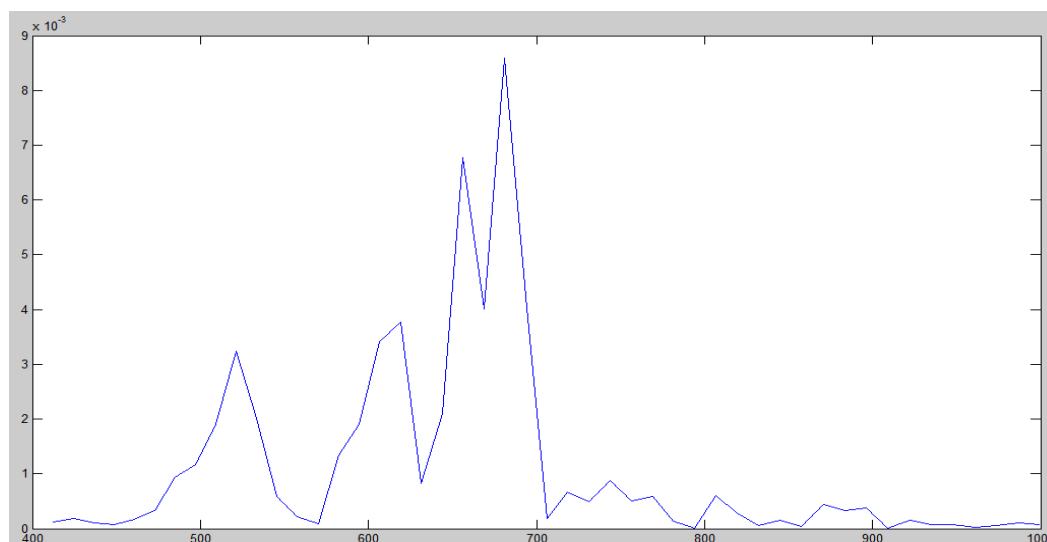
Allereerst zijn alleen de visueel zieke en gezonde planten geclassificeerd. Visueel ziek is hierbij plant 111 en plant 140 (omdat deze na uitplaten Erwinia ziek waren) op meetmoment 10/11/2011 en visueel gezond is plant 58, 102 en 103 (na uitplaten Erwinia vrij) op meetmoment 10/11/2011. De totale dataset is op deze manier verkleind naar 5 classificaties. Tabel 9 en 10 laten zien dat de spectrale camera de visueel zieke planten zeer goed kan onderscheiden van de visueel gezonde planten. Zie Bijlage 3 voor de labeling.

Tabel 9. **Classificatie van visueel ziek (plant 111 en 140) tegenover visueel gezond (plant 58, 102 en 103) op moment 10/11/2011.**

Werkelijke spectra	Geclassificeerde spectra		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	1498	2	1500
Ziek	84	916	1000
Totaal	1582	918	2500

Tabel 10. **Classificatie van de visueel zieke en gezonde planten.**

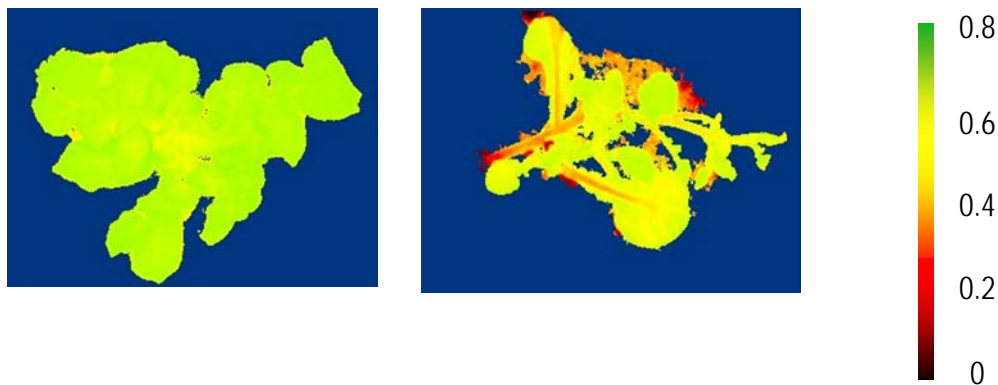
Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	3	0	3
Ziek	0	2	2
Totaal	3	2	5



Figuur 11. **Onderscheidende spectrale banden (x-as uitgedrukt in nm) van de “visuele classificatie”.**

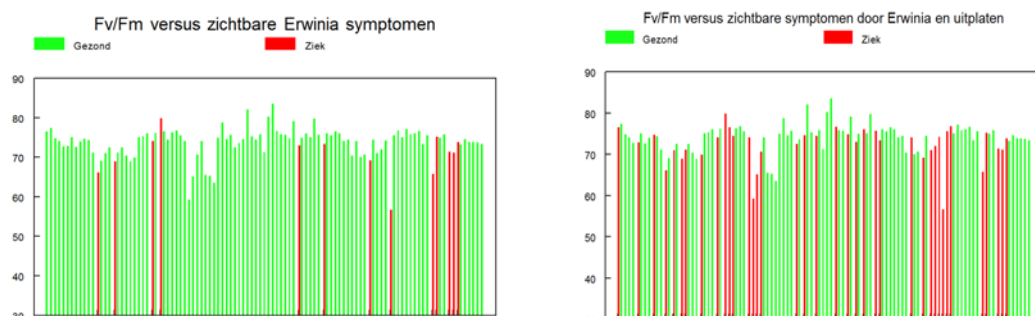
3.4 Chlorofylfluorescentie Erwinia detectie

In de fotosynthese beelden is Erwinia te detecteren als een afname in de waarde van Fv/Fm (figuur 12). 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.



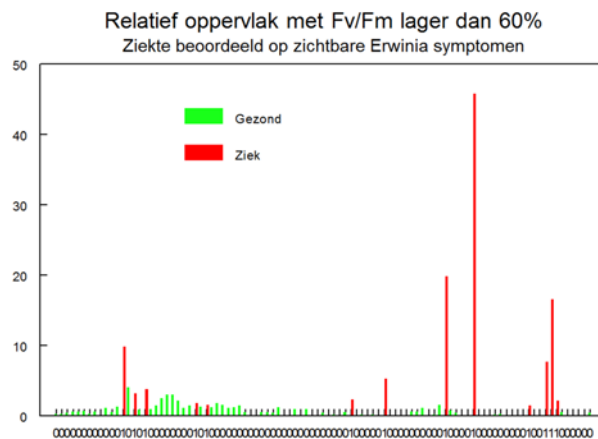
Figuur 12. **Links een fotosynthese opname, Fv/Fm, van een gezonde plant en rechts van een plant die aangetast is door Erwinia.**

Planten werden op zichtbare symptomen door Erwinia aantasting beoordeeld. Figuur 13 laat het overzicht zien van de metingen. Een lage waarde van Fv/Fm betekent niet direct dat de plant zichtbare symptomen vertoont. Omgekeerd geldt ook dat een hoge waarde van Fv/Fm niet automatisch inhoudt dat de plant gezond is. Wordt de beoordeling of een plant ziek is uitgebreid met de uitslag van het uitplaten, dan volgt uit de waarde van Fv/Fm niet of de plant aangetast is door Erwinia.



Figuur 13. **Links de resultaten van de Fv/Fm metingen tegen de beoordeling van de planten op zichtbare Erwinia symptomen, rechts is aan de beoordeling de uitslag van het uitplaten toegevoegd.**

Vervolgens werd met de beeldanalyse software het relatieve oppervlak met Fv/Fm kleiner dan 60% uitgezet tegen de beoordeling op zichtbare Erwinia symptomen (figuur 14). Zware aantastingen zijn op het relatieve oppervlak met Fv/Fm kleiner dan 60% goed te onderscheiden. Om dit beter te kunnen beoordelen is een classificatie verricht op basis van de visuele zieksymptomen met als classificatiegrens 3% (tabel 11). Uit deze resultaten blijkt dat zieke planten in 8 van de 13 gevallen herkend worden met deze methode (5x dus niet). Daar staat tegenover dat er slechts 1 plant onterecht als ziek wordt beoordeeld (tegen 83 keer goed).



Figuur 14. **Relatief oppervlak met Fv/Fm lager dan 60% tegen de beoordeling van de planten op zichtbare Erwinia symptomen.**

Tabel 11. **Classificatie van de visueel zieke en gezonde planten.**

Werkelijke ziektestatus plant	Geclassificeerde ziektestatus plant		Totaal
	Gezond	Ziek	
Gezond	83	1	84
Ziek	5	8	13
Totaal	88	9	97

4 Conclusie, discussie en aanbevelingen

Uit de haalbaarheidsstudie is gebleken dat het vroegtijdig herkennen van viruszieke planten enkele weken na opkomst mogelijk is met spectrale camera's. Bij Erwinia wordt iets minder dan de helft van de door de gewasexpert ziek gescoorde planten gevonden. Van de gezonde planten wordt er niet één ziek gescoord. Als we kijken naar de resultaten na uitplaten dan komt de verhouding iets gunstiger te liggen, iets meer dan de helft van de werkelijk zieke planten wordt gevonden, maar nu worden ook meer dan 10% van de gezonde planten onterecht als ziek gescoord. Door het spelen met parameters kunnen deze verhoudingen anders komen te liggen, maar afname van onterecht ziek gescoorde planten zal ook een afname van terecht ziek gescoorde planten geven.

Wel is het zo dat zieke planten worden gevonden die door de expert niet zijn gevonden (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 chlorofylfluorescentie methode zijn viruszieke planten niet te meten nadat deze donker geadapteerd zijn. Wel is er één eenduidig onderscheid te maken tussengezonde planten en viruszieke planten door een protocol toe te passen waarin de planten eerst donker worden geadapteerd en vervolgens 5 min. worden belicht. Na deze belichtingsperiode wordt de fluorescentie meting bij hetzelfde licht uitgevoerd. Er moet wel worden opgemerkt dat dit het resultaat is van een beperkt aantal planten.

Verkleuringen van de bovenste bladeren van de plant zijn goed waarneembaar met de spectrale camera. Dergelijke verkleuringen kwamen echter in de labproef slechts in beperkte mate (# 2) naar voren. Dit was zo, omdat de planten in de kas voldoende water konden opnemen. Hierdoor zijn verkleuringen, die worden veroorzaakt door watertekorten door het afsluiten van vaatbundels in de plant door Erwinia bacteriën, in de proef nauwelijks tot uiting gekomen. Met name in veldomstandigheden zullen bacteriezieke planten sneller door watertekort verkleuren, wat een detectie met spectrale camera's ten goede zal komen. Ook kan met een schuin gerichte spectrale camera de onderste stengels en bladeren (die vaak als eerste Erwinia's tonen) worden gescand. Er kan dus ook voorzichtig geconcludeerd worden dat met name verkleuringen van bacteriezieke planten, die in het veld vaker zullen voorkomen, goed detecteerbaar zijn met spectrale camera's. Een proef onder veldomstandigheden met een schuin gerichte camera is daarom ook aanbevelingswaardig.

Planten die zichtbare symptomen vertonen door Erwinia zijn met de fluorescentie meting aan te tonen met een percentage van vals positieve (onterecht als gezond gemeten) van circa 38% en vals negatieve (onterecht als ziek gemeten) van ruim 1%. Dit is het resultaat van opnamen van de planten van bovenaf. De verwachting is dat opnamen van de voet van de plant veel betere resultaten zal geven, omdat het eerst de voet van de plant door Erwinia wordt aangetast en vervolgens de hoger gelegen delen van de plant.

Als besloten wordt tot een veldproef in 2012 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, krinkel, chlorose en necrose.
- 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 Quest-Innovations.
- Naast de spectrale kenmerken kunnen, gelet op de wijze waarop ziekten zich presenteren, 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.

5 Literatuurlijst

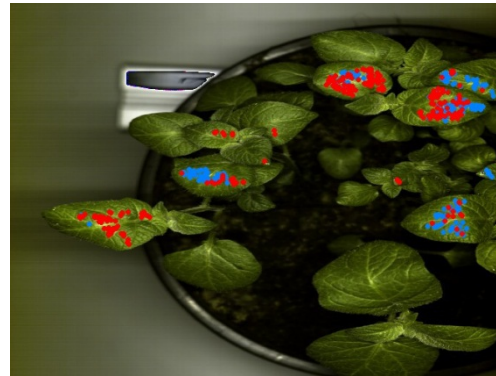
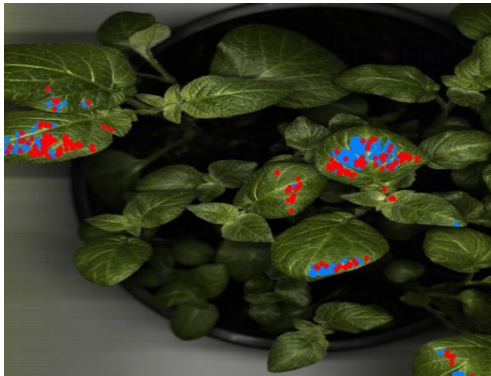
DIPimage, 2011. *Matlab Toolbox for scientific image processing and analysis*. Delft University of Technology.

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

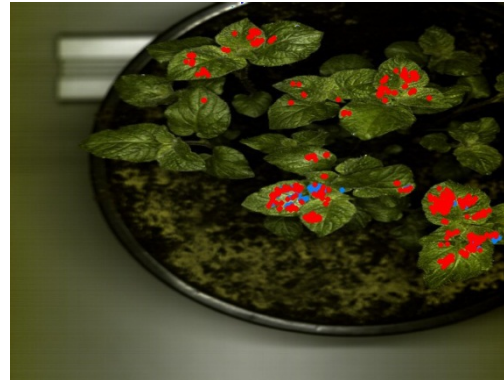
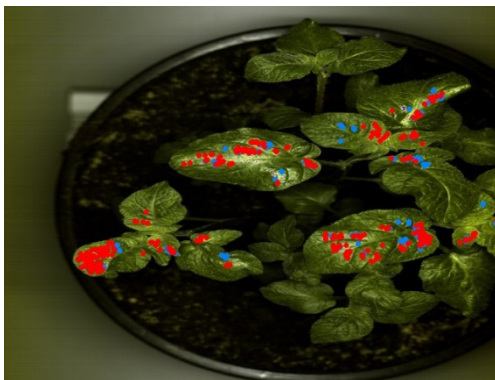
PRTtools, 2011. *Matlab Toolbox for Pattern recognition*. Delft University of Technology.

Bijlage 1: Labeling van virus-zieke planten

Meetmoment: 22/09/2011



Figuur 15. Labeling van twee (werkelijk) gezonde planten (links 151 en rechts 154). De rood gekleurde pixels zijn de geschatte zieke pixels, de blauw gekleurde pixels de geschatte gezonde pixels.

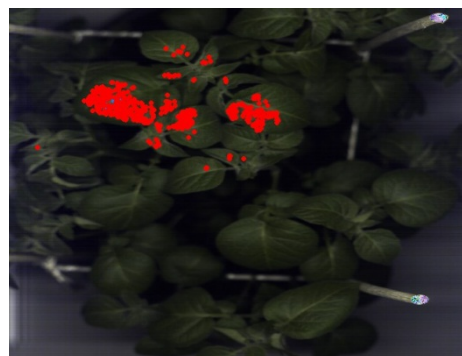
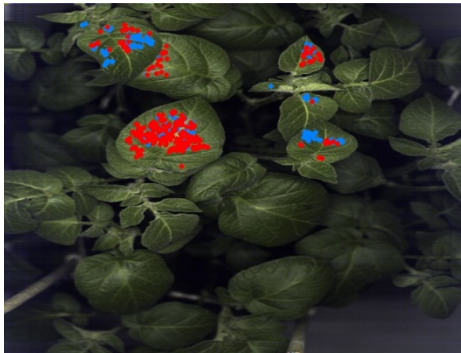


Figuur 16. Labeling van twee (werkelijk) Y-NTN_757 zieke planten (links 159 en rechts 162).

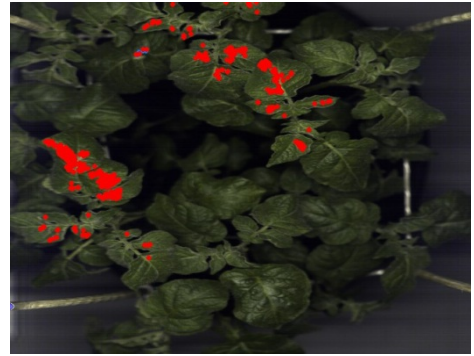
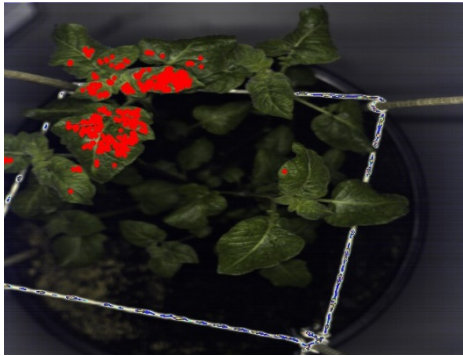
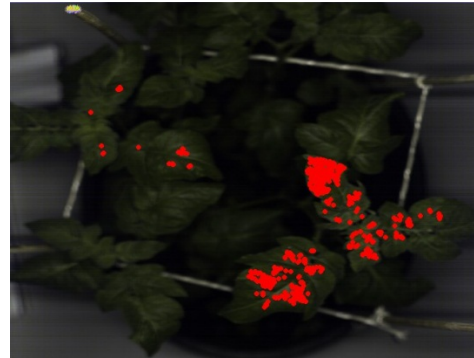
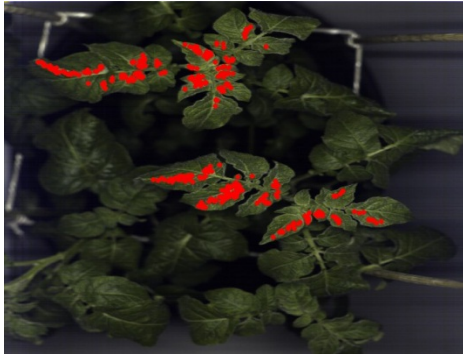


Figuur 17. Labeling van twee (werkelijk) Y-NW_773 zieke planten (links 156 en rechts 158).

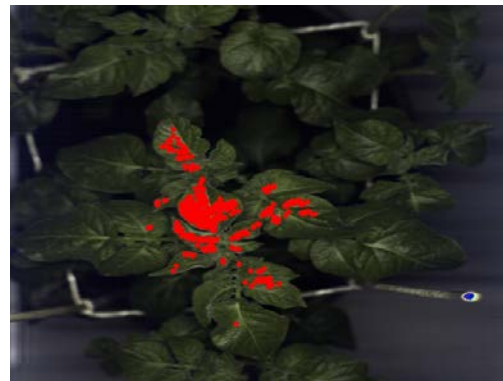
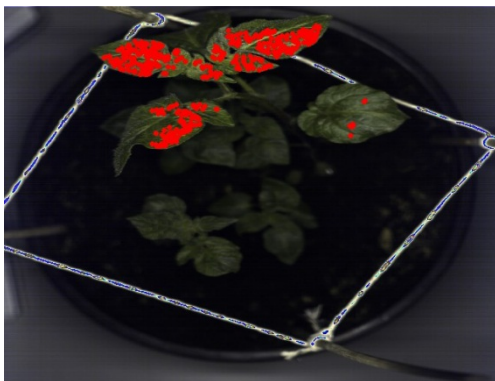
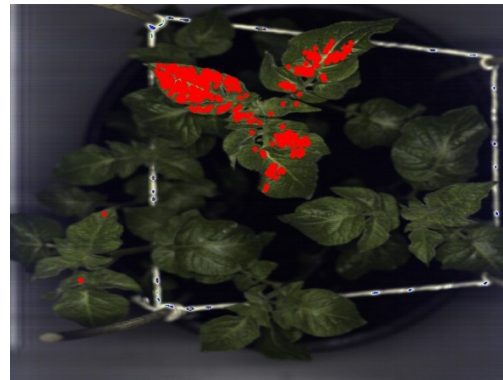
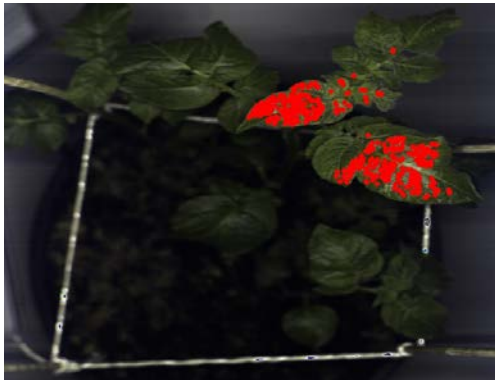
Meetmoment: 29/09/2011



Figuur 18. Labeling van vier (werkelijk) gezonde planten (linksboven 151, rechtsboven 152, linksonder 153 en rechtsonder 154). De rood gekleurde pixels zijn de geschatte zieke pixels, de blauw gekleurde de geschatte gezonde pixels.

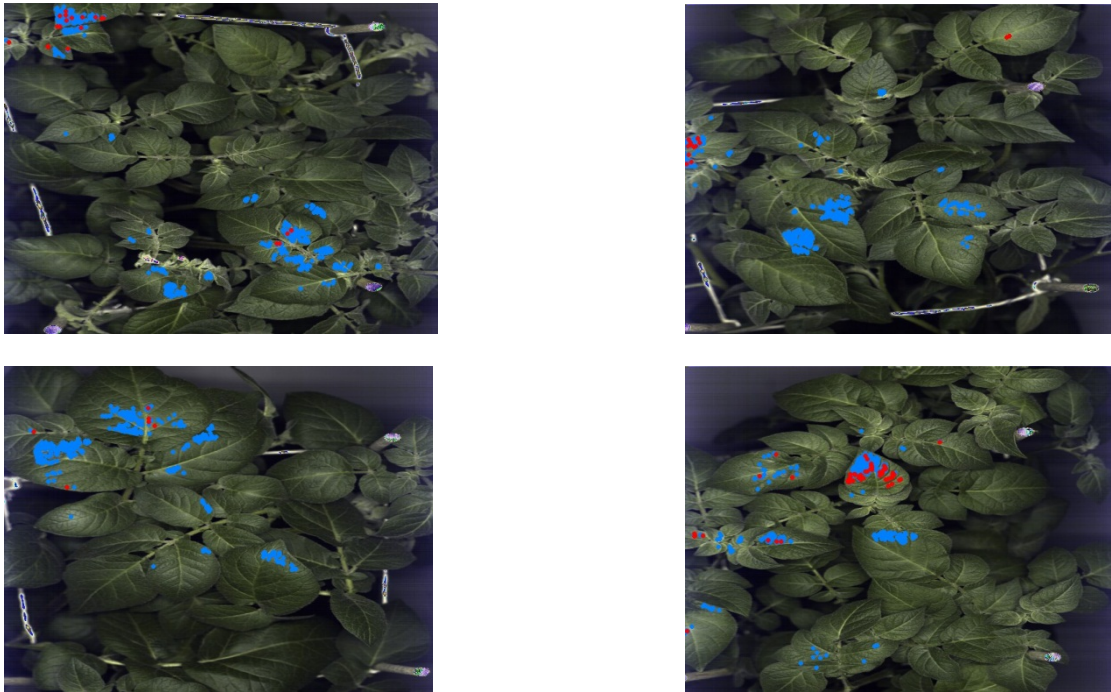


Figuur 19. Labeling van vier (werkelijk) Y-NTN_757 zieke planten (linksboven 159, rechtsboven 160, linksonder 161 en rechtsonder 162).

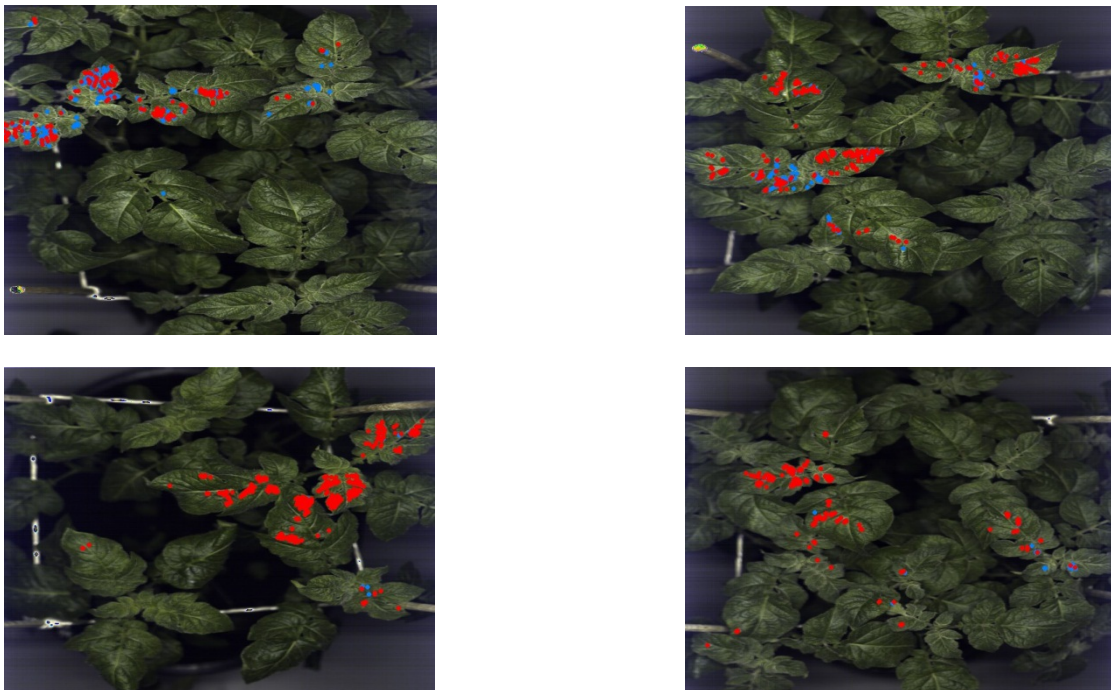


Figuur 20. Labeling van vier (werkelijk) Y-NW_773 zieke planten (linksboven 155, rechtsboven 156, linksonder 157 en rechtsonder 158).

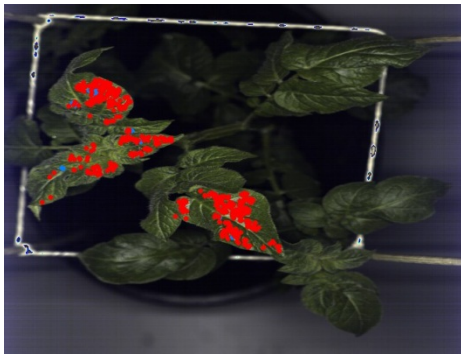
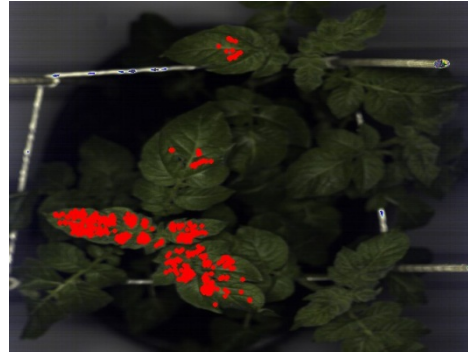
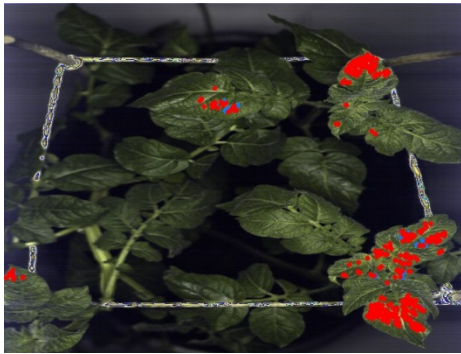
Meetmoment: 05/10/2011



Figuur 21. Labeling van vier (werkelijk) gezonde planten (linksboven 151, rechtsboven 152, linksonder 153 en rechtsonder 154).



Figuur 22. Labeling van vier (werkelijk) Y-NTN_757 zieke planten (linksboven 159, rechtsboven 160, linksonder 161 en rechtsonder 162).



Figuur 23. **Labeling van vier (werkelijk) Y-NW_773 zieke planten (linksboven 155, rechtsboven 156, linksonder 157 en rechtsonder 158).**

Bijlage 2: Visueel beoordeelde Erwinia ziektesymptomen

In de volgende tabel staan de resultaten van alle "Erwinia" planten die visueel zijn beoordeeld op Erwinia symptomen door Pieter Kastelein (PRI medewerker). De volgende classificering werd gehanteerd:

- 0 – geen symptomen
- 1 – verwelken topbladeren
- 2 – donker groene bovenste bladeren
- 3 – uitdrogen onderste bladeren (geen Erwinia symptoom, maar wel veroudering)
- 4 – verwelken en uitdrogen bovenste bladeren
- 5 – vergeling bovenste bladeren
- 6 – zwartpoot
- 7 – stengelnatrot
- 8 – uitdrogen van de gehele stengel
- 9 – plant is afgestorven

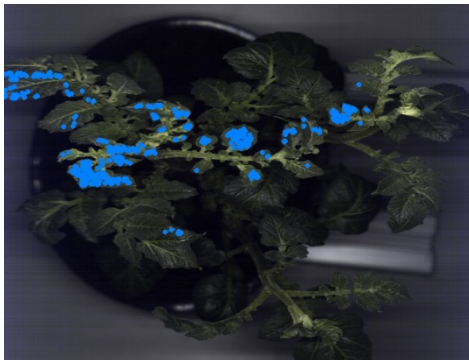
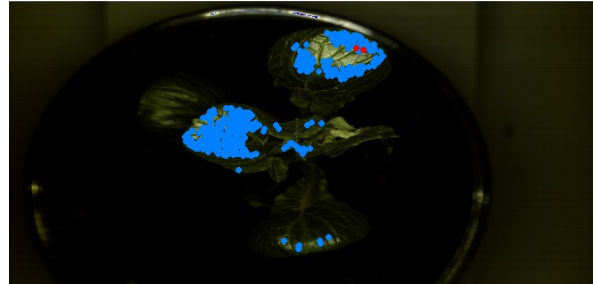
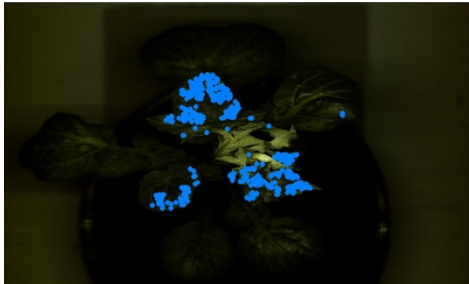
Op 21 november zijn alle planten (destructief) gecontroleerd op de aanwezigheid van Erwinia bacteriën. Negatief houdt in dat er geen bacteriën aanwezig waren, positief het tegenovergestelde. ND houdt "not done" in, door (eerdere) afsterving van de plant of geen inoculatie.

plant	serie	Dickeya	27- okt	1- nov	3- nov	8- nov	10- nov	15- nov	17- nov	uitplaten op DLCVP (21-nov)
1	1	geen	0	0	0	0	3	3	0	nd
2	1	geen	*	0	0	0	0	0	0	nd
4	1	geen	0	0	0	0	0	0	0	nd
5	1	geen	0	0	0	0	3	3	0	nd
6	1	geen	0	0	0	0	0	0	0	nd
7	1	geen	0	0	0	0	0	3	0	nd
9	1	geen	0	0	0	0	0	3	3	nd
10	1	geen	0	0	0	0	0	0	0	negatief
14	1	10E6	0	0	6	8	6	7	6	nd
15	1	10E6	0	3	6	6	6	7	6	nd
16	1	10E6	0	0	0	2	0	3	0	negatief
19	1	10E6	*	0	2	3	6	6	6	nd
20	1	10E6	0	0	0	3	3	3	3	negatief
21	1	10E6	0	0	0	0	0	3	0	negatief
22	1	10E6	0	0	3	3	3	6	6	nd
23	1	10E6	0	0	0	3	0	3	3	positief
25	1	10E6	*	*	0	2	0	0	0	positief
26	1	10E6	0	0	0	0	3	3	3	positief
30	1	10E6	7	8	6	3	6	6	0	positief
31	1	10E7	0	0	0	0	0	3	3	positief
32	1	10E7	0	0	0	0	3	0	3	positief
33	1	10E7	0	0	0	0	0	0	3	negatief
35	1	10E7	0	0	0	0	3	3	3	negatief
36	1	10E7	0	0	0	0	0	3	3	positief
38	1	10E7	0	0	0	6	8	9	9	nd

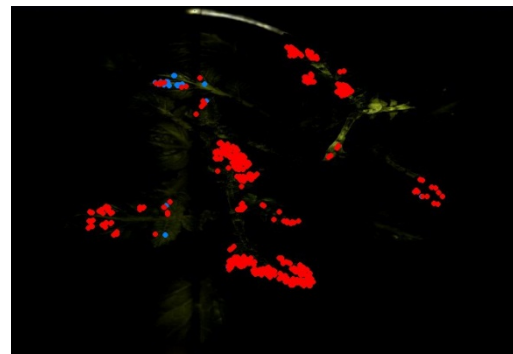
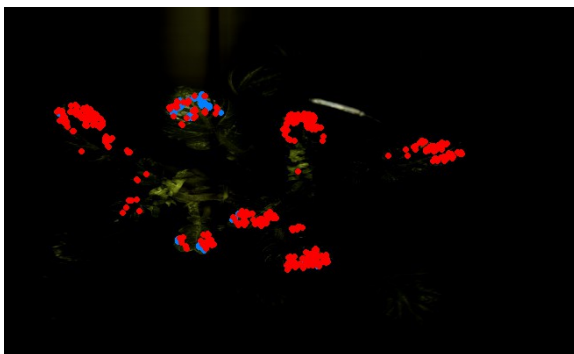
39	1	10E7	0	0	0	0	0	6	6	nd
42	1	10E7	0	0	0	0	0	3	6	nd
43	1	10E7	*	0	0	2	0	0	0	negatief
46	1	10E7	0	7	8	9	9	9	9	nd
47	1	10E7	0	8	8	9	9	9	9	nd
48	1	10E7	0	0	0	0	0	0	0	positief
49	1	10E7	0	0	0	0	0	6	6	nd
50	1	10E7	0	0	0	6	6	6	6	nd
52	2	geen	0	0	0	0	0	0	3	negatief
58	2	geen	*	0	0	0	0	0	0	nd
64	2	10E6	0	0	0	0	0	0	0	negatief
65	2	10E6	0	0	0	3	3	0	0	negatief
66	2	10E6	0	0	0	3	3	3	3	positief
70	2	10E6	*	0	0	6	6	8	8	nd
72	2	10E6	*	0	0	6	8	9	9	nd
79	2	10E6	0	0	0	6	8	9	9	nd
85	2	10E7	0	0	0	6	6	0	0	positief
92	2	10E7	*	*	0	0	0	3	0	negatief
102	3	geen	*	0	0	0	0	0	0	negatief
103	3	geen	0	0	0	0	0	3	3	negatief
104	3	geen	*	0	0	0	0	3	3	nd
105	3	geen	*	*	*		0	0	0	nd
106	3	geen	*	*	0	0	0	0	0	nd
107	3	geen	*	0	0	0	0	0	0	nd
108	3	geen	*		*			0	0	nd
109	3	geen	*	0	0	0	0	0	0	nd
111	3	10E6	*	0	0	2	0	6	6	positief
113	3	10E6	*	0	0	0	0	3	6	positief
115	3	10E6	*	*	*	0	0	0	0	positief
116	3	10E6	*	0	0	0	0	3	0	negatief
117	3	10E6	0	0	0	0	3	6	6	positief
118	3	10E6	*	*	*	0	0	0	0	negatief
119	3	10E6	*	*	*	0	0	0	0	negatief
120	3	10E6	*	0	0	0	0	0	3	negatief
123	3	10E6	*	*	0	0	0	0	0	negatief
124	3	10E6	*	0	0	0	0	0	0	negatief
128	3	10E6	*	0	0	0	0	0	0	negatief
129	3	10E6	*	0	0	0	0	0	0	negatief
133	3	10E7	*	*	*	0	0	0	0	positief
140	3	10E7	*	*	0	2	0	6	6	nd
143	3	10E7	*	0	0	7	6	6	6	nd
146	3	10E7	*	*	*	0	0	0	3	positief
147	3	10E7	*	0	0	0	0	0	0	negatief
149	3	10E7	*	0	0	8	8	9	9	nd

Bijlage 3: Labeling van Erwinia-zieke planten

Meetmoment: 10/11/2011



Figuur 24. **Labeling van drie visueel gezonde planten (linksboven 58, rechtsboven 102 en linksonder 103). De rood gekleurde pixels zijn de geschatte zieke pixels en de blauwe pixels de geschatte gezonde pixels.**



Figuur 25. **Labeling van twee visueel zieke planten (links 111, rechts 140). De rood gekleurde pixels zijn de geschatte zieke pixels.**

