PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING
WAGENINGEN UR

Haalbaarheidstudie automatisch ziekzoeken in tulp

Vergelijking van visuele, serologische en optische technieken om Tulpenmozaïekvirus (TBV) in drie cultivars van tulp te onderscheiden

Auteur(s): Joop van Doorn, Ton Baltissen (PPO), Remco Schreuder (PPO)
Gerrit Polder, Rob van der Schoor, Gerie van der Heijden (PRI)

Productschap Tuinbouw

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
November 2008
PPO-projectnummer 32 340503 00

Haalbaarheidstudie automatisch ziekzoeken in tulp

Vergelijking van visuele, serologische en optische technieken om Tulpenmozaïekvirus (TBV) in drie cultivars van tulp te onderscheiden

Auteur(s): Joop van Doorn, Ton Baltissen (PPO), Remco Schreuder (PPO)
Gerrit Polder, Rob van der Schoor, Gerie van der Heijden (PRI)

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit
November 2008
PPO-projectnummer 32 340503 00

m

328459

© 2008 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
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 Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

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

Financiers:

Productschap Tuinbouw

stichting innovatie FLOWERS & FOOD

agrifirm

HORIZON FLOWERS makes life colourful

Leeks Bloembollen B.V.

Bloembollenbedrijf Bastiaansen

Firma Th. Apeldoorn

S. Schouten & Zn. B.V.

Agrifirm Mechanisme B.V. (per 1/1/09 Agrivor B.V.)

Karel BolBloemen B.V.

Projectnummer: PT12997
Intern projectnummer PPO: 3234050300
Intern projectnummer PRI: 3320008100

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Bloembollen, Boomkwekerij en Fruit

Adres	:	Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
	:	Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel.	:	0317 - 47 83 00
Fax	:	0317 - 47 83 01
E-mail	:	info.ppo@wur.nl
Internet	:	www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING 5

1 PROBLEEMSTELLING EN AANPAK 7
1.1 Inleiding 7
1.2 Plan van aanpak 9

2 ECONOMISCHE HAALBAARHEIDSTUDIE: DE INVESTERINGSRUIMTE VOOR ZIEKZOEKEN 11
2.1 Inleiding 11
2.2 Rekenmethode 11
2.3 Kosten gangbare manier ziekzoeken 12
2.3.1 Vervangend systeem 14
2.3.2 Onderhoud 14
2.3.3 Rente 14
2.3.4 Afschrijving 14
2.4 Vervangingswaarde vervangend systeem 15
2.5 Hoeveel bedrijven 16
2.6 Conclusie 17

3 MATERIAAL EN METHODEN VISIONTECHNIEKEN 19
3.1 Experimentele opzet 19
3.2 Plantmateriaal 19
3.3 ELISA 19
3.4 Optische technieken 19
3.4.1 Spectrofotometer 20
3.4.2 RGB kleurencamera 20
3.4.3 Spectrale camera 22
3.4.4 Chlorofylfluorescentie camera 23
3.5 Data analyse (classificatie) 23

4 RESULTATEN VISIONTECHNIEKEN 25
4.1.1 Opplant en ELISA 25
4.1.2 Ziekzoeker 25
4.1.3 Spectrofotometer 25
4.1.4 RGB kleurencamera 27
4.1.5 Spectraal camera 28
4.1.6 Chlorofyl fluorescentie camera 28
4.1.7 Combinatie van resultaten 28

5 CONCLUSIES EN DISCUSSIE 31

6 COMMUNICATIE 33
6.1 Bijeenkomsten en overleg met begeleidingscommissie 33
6.2 Vakbladartikelen (in prep.) 33

7 LITERATUUR 35

Bijlage 1. Consortiumvorming

Samenvatting

In tulp vormt vooral TBV (tulpenmozaïekvirus) een probleem, daar met name in de gele en witte cultivars kenmerkende symptomen slecht zichtbaar zijn. Om partijen tulpen te selecteren kunnen ziekzoekers verdachte planten verwijderen. Het grote nadeel is dat het ziekzoeken erg tijdrovend is en dat de hiervoor benodigde expertise beperkt aanwezig is of zelfs verdwijnt en daarom ook kostbaar is.
Op initiatief van tulpenteler Apeldoorn is in 2003 een haalbaarheidstudie uitgevoerd om te zien of er technieken zijn die een ziekzoeker kunnen vervangen. Hieruit kwam voort dat mogelijk visiontechnieken (optische apparatuur) geschikt zouden kunnen zijn.
In 2007 is gestart met een nieuw project om de economische rentabiliteit en investeringsruimte in kaart te brengen en om na te gaan of de huidige visiontechnieken subtiele virussymptomen in drie verschillende cultivars van tulp kunnen aantonen. Het project is uitgevoerd door PPO en PRI onder begeleiding van een gebruikerscommissie die mogelijk ook partner wil worden bij de ontwikkeling van een gerobotiseerd ziekzoeksysteem.
De conclusie van de economische haalbaarheidsstudie was dat als het systeem voor 5 hectare kan worden gebruikt, er tussen de € 18.000,- en € 59.000,- per jaar op ziekzoeken kan worden bespaard. Na verrekening van de kosten per hectare van het vervangende systeem blijft tussen € 13.650,- en € 54.900 over om de vaste jaarkosten van het nieuwe systeem te dekken.
Voor het vision-experiment zijn drie cultivars met bekend % TBV opgeplant in vijvermandjes en in het voorjaar van 2008 visueel beoordeeld op virussymptomen door een ervaren ziekzoeker. Vervolgens zijn deze tulpen geanalyseerd middels vier verschillende visiontechnieken (spectrofotometer, kleurencamera, spectrale camera en een chlorofylfluorescentiecamera). Verder is aan dezelfde bladeren/planten een serologische toets uitgevoerd (ELISA) die betrouwbaar het virus kan aantonen.
Het resultaat is, dat er ten minste een visiontechniek is (kleurencamera), die het virus met redelijke betrouwbaarheid en gevoeligheid kan aantonen en perspectief biedt voor verdere ontwikkeling tot bijvoorbeeld inbouw in een robot.

1 Probleemstelling en aanpak

1.1 Inleiding

De Nederlandse tuinbouwketen heeft een zeer belangrijk aandeel in de wereldhandel van voedingstuinbouw- en sierteeltproducten. In een aantal gebieden heeft de ontwikkeling van de tuinbouw en de daaraan verbonden kennisinstellingen, logistieke en dienstverlenende bedrijvigheid geleid tot een zeer sterke internationale concurrentiepositie: dit zijn de zogenaamde greenports. Het bollencomplex in de Duin en Bollenstreek is door de overheid erkend als één van de vijf belangrijke greenports van Nederland. Hierbij is het belangrijk om te realiseren dat de exportwaarde voor bollen (droogverkoop en broeierij) geschat wordt op 635 miljoen € (seizoen 2005/2006, PT exportstatistiek).
De bloembollen vervullen bovendien een tweede belangrijke economische functie; men heeft becijferd dat het toerisme alleen al in de Duin en Bollenstreek jaarlijks extra inkomsten genereert voor de middenstand ter waarde van 75 miljoen €. De tulp in het bijzonder wordt wereldwijd met Holland geassocieerd.
Tulp en ook diverse andere bolgewassen worden echter geteisterd door virusziekten. De virusziekten kunnen een vermindering betekenen van de kwantiteit en de kwaliteit van het eindproduct. Wanneer het virus boven een drempelwaarde komt, kan de partij niet voor export worden gebruikt. Tulpenvirussen, en met name het Tulpenmozaïekvirus (TBV) vormen daarmee een grote bedreiging voor de export van tulpenbollen. In 2003 was de besmetting van het totale areaal wel 7%. Jaarlijks wordt dan ook voor meer dan 9 miljoen euro voor handmatige selectie (ziekzoeken) uitgegeven in Nederland om de ziektedruk op het veld onder controle te houden. Voor sommige cultivars kan de inzet oplopen tot 100 mensuren per hectare. Opschonen in de schuur van partijen tulpen kan veel ziekte in het veld voorkomen; helaas is hier ook nog geen techniek voorhanden die zowel kosteneffectief, betrouwbaar en snel bolmonsters kan analyseren.
Om de ziektedruk onder veldomstandigheden terug te brengen worden in het veld "ziekzoekers" ingezet om viruszieke bollen visueel op te sporen en te verwijderen. Probleem hierbij is dat ziekzoeken veel tijd en geld kost en bovendien, afhankelijk van genotype (vooral de witte en gele tulpencultivars) en milieu, moeilijk is (zie Figuur 1). Geschikte ziekzoekers zijn dan ook moeilijk te vinden en het probleem vormt een serieuze bedreiging voor de tulpenveredeling en -teelt in Nederland. Hoge viruspercentages in het plantgoed zullen ook leiden tot extra gewasbespuitingen waarmee de duurzaamheid van de teelt onder druk komt te staan.
Er is daarom behoefte aan een snelle niet-destructieve methode om viruszieke planten op te sporen. Er zijn op dit moment geen andere mogelijkheden in het veld om de virussen snel te detecteren en viruszieke planten efficiënt te verwijderen. Een oplossing is het ontwikkelen van een methode van "machinaal zien" (visiontechniek: camera's en software) die automatisch zieke planten kan opsporen in het veld. Aan de wieg van dit idee heeft de firma Apeldoorn gestaan. Op grond van de initiatieven van dit bedrijf zijn haalbaarheidstudies uitgevoerd en recente ontwikkelingen in de wetenschap hebben aangetoond dat beeldvormende spectroscopie mogelijkheden biedt om een robot te ontwikkelen die de traditionele ziekzoekers in het veld kan vervangen. Met name op het gebied van de vision technieken is er de laatste jaren een grote sprong voorwaarts gemaakt en het lijkt nu een goed moment om geautomatiseerd ziekzoeken te ontwikkelen.

Uit onderzoek van het AKC in 2003 is gebleken dat er momenteel geen andere mogelijkheden zijn om in het veld virussen snel te detecteren en viruszieke planten efficiënt te verwijderen. Kort samengevat luiden de conclusies uit dat onderzoek:

- Voor een automatische beoordeling in het veld zijn geen andere/betere technieken naar voren gekomen dan beeldvormende spectroscopie.
- Detectie van viruszieke planten is moeilijk en de symptomen zijn niet altijd eenduidig. Experts wijzen er op dat een project voor machinaal ziekzoeken risicovol is.
- Er bestaan op dit moment geen alternatieve technieken voor het instantaan beoordelen van planten op virussymptomen.

- Een bedrijf kan per 5 ha tussen de € 60.000 en € 140.000 investeren in een goed vervangend systeem voor ziekzoeken. Als het systeem voor meer hectares kan worden ingezet, kan er naar rato meer worden geïnvesteerd.

De ontwikkeling van een robot die in staat is om op basis van moderne visiontechnieken viruszieken planten te detecteren in het veld zal internationaal gezien een enorme doorbraak betekenen, en zal mogelijk ook toepassingen krijgen in andere sectoren binnen de land- en tuinbouw waar virusziekten een belangrijke rol spelen bij de kwaliteit van het eindproduct.

Probleemstelling

Het project wil een antwoord geven op de eerste van de volgende vragen (de andere vragen komen mogelijk in vervolgprojecten aan de orde):

- **is het mogelijk om met moderne visiontechnieken virussymptomen op tulpen opgegroeid onder veldomstandigheden betrouwbaar te herkennen?**
- is het mogelijk om de gedetecteerde viruszieke planten selectief te verwijderen?
- is het mogelijk om detectie en verwijdering in een gerobotiseerd systeem te combineren?

Om de vragen goed te kunnen beantwoorden is kennis nodig op het gebied van virologie, fysiologie, visiontechnieken en dataverwerking. Wanneer er geen goede visiontechnieken geselecteerd kunnen worden, of wanneer er teveel ruis onder veldomstandigheden optreedt om virussymptomen voldoende betrouwbaar te herkennen zal het project geen gerobotiseerd ziekzoeksysteem kunnen opleveren.

Doelstelling

Het doel is het ontwikkelen van een geautomatiseerd systeem voor het detecteren van virussymptomen in tulpen op basis van beeldvormende spectroscopie. Het is hierbij noodzakelijk om een innovatief investeringsmodel en samenwerkingsmodel op te zetten met de betrokken bloembolproducenten, kennisinstellingen en bedrijfsleven (visiontechnologie, machinebouwers) om deze innovatie tot een succes te maken.

Figuur 1. TBV-beelden verschillen per ras en per tijdstip. Een vroeg symptoom bij Yokohama is de gestreepte roodverkleuring van onderuit en bij Apeldoorn Elite de licht- en donkergroene mozaïektekening (Bron BKD).

1.2 Plan van aanpak

Het plan van aanpak was als volgt:

- Er is een hernieuwde economische haalbaarheidstudie uitgevoerd om te zien wat de investeringsruimte voor bedrijven is.
- Er is gewerkt aan een consortium die de ontwikkeling en vermarkting van een ziekzoekrobot gaat behartigen (telers, bedrijven, onderzoekers). Door regelmatig overleg werd iedereen op de hoogte gehouden.
- Er werd gestart met een praktische aanpak: drie tulpencultivars (Barcelona, Monte Carlo, Yokohama, zie figuur 2) met TBV-besmetting worden verzameld en geanalyseerd middels visuele, optische en serologische technieken.
- Op grond van de resultaten werd besloten of er een techniek is die betrouwbaar genoeg is om virussymptomen in tulp aan te tonen, en of een vervolgonderzoek en verdere ontwikkeling realistisch is.

Graag willen we het Laboratorium voor Geo-informatiekunde en Remote Sensing van Wageningen UR danken voor het beschikbaar stellen van de FieldSpec Pro FR spectroradiometer.

Figuur 2. De tulpencultivars Yokohama, Barcelona (roze) en Monte Carlo.

2 Economische haalbaarheidstudie: de investeringsruimte voor ziekzoeken

2.1 Inleiding

Hoeveel kan een bollenteler in een geautomatiseerd ziekzoeksysteem investeren? Dat is de centrale vraag in deze economische haalbaarheidstudie. Het systeem, dat ons hierbij voor ogen staat, is een gerobotiseerde "ziekzoekkar" die in staat is TBV besmette planten van niet-zieke planten te onderscheiden en deze uit het veld te verwijderen. Dit kan door het te ontwikkelen systeem zelf gebeuren, dan wel door een uiterst eenvoudige en snelle menselijke handeling. In het laatste geval zullen de TBV besmette planten door het ziekzoeksysteem gemerkt moeten worden. Momenteel worden de zieke planten door ziekzoekers in het veld herkend en verwijderd, een methode die veel tijd kost en daarnaast veel specialistische kennis en vaardigheid vergt. In veel gevallen blijkt de huidige methode niet voldoende om het in een partij aanwezige virus partij onder controle te houden.

Voor het bepalen van de economische haalbaarheid van een nieuw te ontwikkelen systeem is het belangrijk vast te stellen wat het "ziek" momenteel kost en wat de kosten zijn van de nieuw te ontwikkelen methode. Een veelheid aan factoren heeft hier invloed op.
De belangrijkste factoren van invloed op de uiteindelijke kosten zijn;

- Virusoverdracht, luizendruk.
- Aanwezige besmetting in bolmateriaal.
- Cultivar, vooral met betrekking tot gevoeligheid en de mate van zichtbaarheid.
- Beschikbare hoeveelheid kwalitatief geschikte arbeid voor ziekzoeken.

Voor tulpen is er grofweg een onderverdeling te maken op basis van cultivar, wat dan weer ten dele op kleur van de betreffende cultivars is terug te brengen. De symptomen die in het veld door ziekzoekers zichtbaar zijn, zijn bij de gele, witte en licht roze cultivars duidelijk minder dan bij ander kleuren. Een andere hypothese is dat deze soorten veel gevoeliger zijn voor virusoverdracht (aantrekkelijker voor luizen). Gevolg is dat aan de ene kant viruszieke planten minder goed worden uitgeselecteerd en dat daarnaast het uitselecteren meer tijd kost. Bij "makkelijke" cultivars kost het ziekzoeken minder tijd, is de teler goed in staat het percentage ziek in de partij laag te houden en is de kans dat de partij wordt afgekeurd dan ook een stuk kleiner.
De teler probeert doormiddel van ziekzoeken het percentage besmette planten en bollen in een partij zo laag mogelijk te krijgen of te houden. Bij "makkelijke" cultivars zal hij /zij in staat zijn het percentage onder de 2 of zelfs 1% te krijgen en te houden met geringe inspanningen. Bij een moeilijke cultivar zal de teler grote inspanningen moeten doen om in de buurt te komen van deze percentages. Bij hogere viruspercentages neemt de kans dat de partij bollen in een lagere kwaliteitsklasse worden ingedeeld toe. Moeilijke cultivars lopen een grotere kans gedeclasseerd te worden dan makkelijke cultivars. Een lagere klassering heeft vaak een negatief effect op de prijs van de bollen.

In dit hoofdstuk wordt gekeken naar de investeringsruimte voor het automatisch ziekzoeken. Dit is eigenlijk een voor de teler maximaal mogelijke aanschafwaarde van een nog te ontwikkelen ziekzoekmachine. Er wordt antwoord gegeven op de vraag bij welke aanschafwaarde de kosten van beide systemen gelijk zijn. Doordat er veel verschillen zijn tussen partijen, cultivars en bedrijven is gewerkt met een aantal verschillende scenario's om deze verschillen zichtbaar te maken.

2.2 Rekenmethode

Deze haalbaarheidsstudie is een actualisatie van de studie die in 2003 is uitgevoerd. De gevolgde

methode is nu weer gevolgd. Waar nodig zijn uitgangspunten geactualiseerd en in overleg met de betrokken ondernemers zijn scenario's aangepast of toegevoegd.
De berekening van de haalbaarheid beperkt zich tot de kosten op het teeltbedrijf. Het houdt geen rekening met eventuele kosten of opbrengsten in de keten. Ook is geen rekening gehouden met fiscaliteiten en eventuele subsidiemogelijkheden.
De maximale aanschafwaarde van het automatisch ziekzoeken wordt bepaald door de jaarkosten. In dit onderzoek dient daarom een antwoord te worden gevonden op de vraag wat de jaarlijkse besparing aan kosten is uitgaande van automatisch ziekzoeken ten opzichte van de huidige situatie.

In onderstaande berekening zijn die kosten (relevante kosten) weergegeven die zorgen voor een verschil tussen de gangbare manier van ziekzoeken en een vervangend systeem. Door voor een aantal uitgangspunten een bandbreedte aan te geven in de kosten geeft de berekening inzicht in de variatie van mogelijke uitkomsten. In eerste instantie worden de kosten en baten van de gangbare manier van ziekzoeken bepaald. Het alternatief mag bij gelijke prestaties maximaal hetzelfde kosten. Bij het automatisch ziekzoeken bestaan de kosten voor een belangrijk deel uit rente, afschrijving en verzekering en onderhoud. Veelal wordt dit uitgedrukt als % van de nieuwwaarde of vervangingswaarde van het productiemiddel. Het verschil tussen de relevante kosten van de gangbare methode en de overige kosten (in dit geval de kosten per hectare) van het vervangende systeem geeft de investeringsruimte die per jaar ontstaat om de jaarkosten van het alternatief te dekken. Als de percentages voor afschrijving, onderhoud en verzekering bekend zijn kan de maximale aanschafwaarde (=vervangingswaarde) worden bepaald.

Uitgangspunten van de berekeningswijze is:
Kosten huidig systeem - Operationele kosten nieuw systeem = Jaarkosten nieuwe machine = Jaarkosten omrekenen via afschrijving, onderhoud en verzekering

Bij de berekeningen wordt uitgegaan van een gemiddelde omzet voor een ha tulp van € 59.000. Dit is de gecombineerde waarde van leverbaar en plantgoed. Het effect met opbrengstderving op de omzet is in economische berekeningen niet lineair. Er wordt bij dit soort berekeningen uitgegaan van een stabiele situatie. Dit betekent dat er geen rekening wordt gehouden met het aankopen van plantgoed of het laten krimpen van het areaal. Bij opbrengstderving verandert de verhouding tussen plantgoed en leverbaar. In Tabel 1 is de invloed van opbrengstderving op de opbrengst leverbaar, plantgoed en totaal te zien.

Tabel 1. Omzet in leverbaar, plantgoed en totaal en vermindering van de omzet in relatie tot opbrengstderving (€ per ha).

		Opbrengstderving (%)				
		1	2	3	4	5
Leverbaar	27400	27015	26606	26032	25649	25183
Plantgoed	22268	22239	22301	22338	22306	22319
Totaal	49669	49254	48907	48370	47955	47502
Vermindering omzet		415	762	1299	1714	2167

2.3 Kosten gangbare manier ziekzoeken

Bij een makkelijke cultivar zijn de volgende uitgangspunten voor het ziekzoeken vastgesteld:

- De opbrengstderving als gevolg van selecteren (herkennen als ziek en verwijderend) en aanwezig ziek, wordt bij een makkelijke cultivar geschat op 1-2%
- De benodigde tijd voor ziekzoeken wordt ingeschat op 20 tot 55 uur per hectare (bron enquête Agrifirm 2002).
- Uurloon € 20,- gebaseerd op CAO tabellen (KWIN-agv, 2006).
- 3,5% van de partijen tulpen wordt afgekeurd op basis van TBV.

- De kans dat een partij wordt afgekeurd is gemiddeld 3,5%, de kans dat een partij met een makkelijke cultivar wordt afgekeurd wordt lager ingeschat. Kans op afkeuring tussen de 1 en 3,5%.
- Risico op afkeuring zijn de verwachte kosten die ontstaan wanneer een partij wordt afgekeurd en de waarde van de partij verloren gaat.
- Kosten voor gewasbescherming (bespuitingen) worden niet meegenomen, aangezien deze noodzakelijk blijven bij een eventueel alternatief systeem.

De totale kosten van de huidige manier van werken zijn op te delen in de kosten van het ziekzoeken zelf, de kosten van een verminderde opbrengst als gevolg van het uitselecteren van de zieke bollen en de kosten van afkeuring van een partij. Daarbij moet worden bedacht dat afkeuring gelijk staat aan 100 % opbrengstderving. Voor het berekenen van de totale kosten wordt voor een individuele partij dus of de kosten van opbrengstderving ingerekend of de kosten van afkeuring ingerekend. Bij 1 % afkeuring wordt voor de overige 99% van de partijen opbrengstderving berekend. De kosten van afkeur worden gevormd door de omzet bij 0 % opbrengstderving.
Bij scenario 2 met 2 % opbrengstderving zijn kosten als gevolg van opbrengstderving als volgt berekend: (100 – 2) / 100 x 762 = € 747
In hetzelfde scenario zijn de kosten veroorzaakt door afkeur: 3,5 % x 49669 = € 1738
In Tabel 2 staan voor de gegeven uitgangspunten voor 2 scenario's uitgaande van makkelijke cultivars de berekening van de kosten van het huidige ziekzoeksysteem weergegeven.

Tabel 2. Kosten virusproblematiek bij makkelijke cultivar bij 1 en 2% opbrengstderving.

	Scenario 1	Scenario 2
Opbrengstderving	1%	2%
Aantal uren ziekzoeken	20	55
Risico op afkeuring	1%	3.5%
Kosten		
Opbrengstderving	411	747
Ziekzoeken	400	1.100
Risico op afkeur	497	1.738
Totaal	1.308	3.385

In een situatie waarin er sprake is van een moeilijke cultivar (bijvoorbeeld Monte Carlo, Yokohama) worden de cijfers echter extremer, hiervoor zijn de volgende uitgangspunten.

- Opbrengstderving als gevolg van selecteren en aanwezig ziek, wordt geschat op 2 - 4%
- De benodigde tijd voor ziekzoeken wordt ingeschat op 55 tot 90 uur per hectare (bron: Enquête Agrifirm, 2003).
- De kans dat een partij wordt afgekeurd is gemiddeld 3,5%, de kans dat een partij met een moeilijke cultivar wordt afgekeurd wordt hoger ingeschat. Kans op afkeuring tussen de 3,5 en 8% (in 2002 werd bijvoorbeeld 8,4% van de cultivar Yokohama afgekeurd, BBC nr. 16, 2002)
- Mogelijke prijsdaling, vanwege verandering in kwaliteitsklasse voor leverbare bollen, 10%. Dit is een aanname. Er zijn geen gegevens beschikbaar om dit te onderbouwen (is een wat vage opmerking). De praktijk geeft aan dat de waarde van een partij mede wordt bepaald door de kwaliteit. Het % virus is een factor in de kwaliteitsbepaling.

Op basis van bovenstaande uitgangspunten zijn scenario's berekend uitgaande van een moeilijke cultivar. Aanvullend hierop is in scenario 5 rekening gehouden met mogelijk hogere arbeidskosten. Aangegeven wordt dat de arbeidskosten voor ziekzoeken hoger liggen dan voor normaal los personeel. In scenario 5 is uitgegaan van € 30,- per uur. Aanvullend is scenario 6 opgesteld. Deze gaat uit van een hoog percentage besmetting en bijbehorende hoge opbrengstderving en risico op afkeur. Ook zal er meer tijd nodig zijn bij het ziekzoeken. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 3.

Tabel 3. Kosten virusproblematiek bij moeilijke cultivar bij 2, 4 (plus hogere arbeidskosten) en 8% opbrengstderving

	Scenario 3	Scenario 4	Scenario 5	Scenario 6
Opbrengstderving	2%	4%	4%	8%
Prijsdaling klasse[1)]	0%	10%	10%	10%
Aantal uren ziekzoeken	55	90	90	120
Risico op afkeur	3.5%	8%	8%	16%
Kosten				
Opbrengstderving	747	1645	1645	3500
Prijsdaling klasse[1)]	0	4412	4412	4412
Ziekzoeken	1100	1800	2700	2400
Afkeuring	1738	3974	3974	7947
Totaal	3585	11831	12731	18259

[1)] Dit is een aanname. Er zijn geen gegevens beschikbaar om dit te onderbouwen. De praktijk geeft aan dat de waarde van een partij mede wordt bepaald door de kwaliteit. Het % virus is daar een van.

Een schatting van de huidige kosten van de virusproblematiek (in € per ha) zijn in tabel 2 en 3 voor een aantal situaties weergegeven. De vier geïdentificeerde kosten posten opbrengstderving, prijsdaling door klasse verlaging, ziekzoeken en afkeuring dragen allen bij. Gesteld mag worden dat hoger groter het probleem hoe zwaarder de kosten van afkeuring gaan wegen. Ook de kosten van opbrengstderving nemen toe met een hoger % virus. Uitgaande van scenario's 3 en 4, welke aan te wijzen zijn als realistische scenario's bij moeilijke cultivars zijn afkeuring en bij 4 ook klasse verlaging forse kostenposten. Deze kostenposten bepalen uiteindelijk voor een belangrijk deel de investeringsruimte voor een nieuwe methode.

2.3.1 Vervangend systeem

De kosten van het vervangende systeem zijn voornamelijk gerelateerd aan de investering. Kosten voor verzekering en onderhoud, rente en afschrijving kunnen weergegeven worden in een percentage van de vervangingswaarde.

2.3.2 Onderhoud

Het mogelijk te ontwikkelen systeem zal bestaan uit een complex samenhangend geheel van mechanica, elektronica en ook besturingssoftware en zal dus onderhoudsgevoelig zijn. Er is specifieke technische kennis vereist. Er zal gebruik gemaakt worden van een aantal kwetsbare en dure (bijvoorbeeld detectie camera) onderdelen. Daarom wordt uitgegaan van een percentage voor verzekering en onderhoud van 5%. Ter vergelijking, het onderhoudspercentage voor bijvoorbeeld mestinjecteur is 4,5%, mechanisch kasdekreiniger 5%, trekker 4% en zelfrijdend wiedbed 4,2%.

2.3.3 Rente

Gerekend wordt met een rentepercentage voor duurzame productiemiddelen van 5,5% (Rabobank Noordoostpolder, september 2007).

2.3.4 Afschrijving

Bij een inschatting van de afschrijving moet rekening gehouden worden met de verschillende functies/ technische eigenschappen van het systeem. Het rijdende gedeelte is waarschijnlijk het meest vergelijkbaar met andere zelfrijdende machines, een zelfrijdend wiedbed wordt afgeschreven in ongeveer 9 jaar. Verder is sprake van geautomatiseerde techniek zoals bijvoorbeeld een mechanisch kasdekreiniger, levensduur 10 jaar. Ook is er sprake van besturingssoftware, ter vergelijking, afschrijvingspercentage klimaatcomputer 15% en software klimaatcomputer 20%. Als doorsnee hiervan wordt een afschrijving van 14% ingeschat, levensduur ruim 7 jaar.

De totale jaarkosten van het te ontwikkelen systeem bestaan uit rente (5,5%), verzekering en onderhoud (5%) en afschrijving (14%). Dit komt op een totaal van 24,5% van de vervangingswaarde per jaar.
Daarnaast zal het nieuwe systeem om te kunnen werken ook een beslag leggen op arbeid. Te denken valt aan installatie en gebruiksaanwijzing bij eerste gebruik, transport naar perceel en afstelling/ programmering en bovendien zal het gewas zeer waarschijnlijk gedeeltelijk nog op andere ziekten, plagen of onregelmatigheden gecontroleerd moeten worden.

Installatie/ instructie: eenmaal per jaar per perceel	8 uur
Voorbereiding / programmering / transport: 4 keer per jaar per perceel:	8 uur
Verdere gewas controle / na lopen / planten verwijderen:	6 uur
Totaal:	22 uur

Ook bij het vervangende systeem zal sprake zijn van selectie. In een ideale situatie zal het percentage aanwezige virus wellicht ver teruggebracht worden, maar geheel uitbannen lijkt niet realistisch. In het begin zal een hoog percentage virus in een partij leiden tot veel uitval door selectie. Echter als het systeem goed werkt wordt dit op den duur tot een laag percentage terug gebracht. Uitgaande van een goed werkend systeem wordt verondersteld dat nog steeds sprake is van 1 % virus en wordt dus gerekend een opbrengstderving van 1%.
In Tabel 4 staan de geschatte kosten van een vervangend systeem.

Tabel 4. Kosten ziekzoeken bij een alternatief systeem.

Vaste jaarkosten	**% van de vervangingswaarde**
Rente	5,5
Verzekering en onderhoud	5
Afschrijving	14
Totaal	**24,5**
Kosten per hectare	
Arbeid	€ 440,-
Opbrengstderving	€ 415,-
Totaal	**€ 855,--**

Wanneer het nieuwe systeem niet geheel automatisch werkt, maar er een persoon nodig is voor de besturing dan nemen de kosten in gebruik toe. De kosten zijn dan gelijk aan het aantal uren dat nodig is voor het selecteren maal het uurloon. De ontwikkelkosten van een bemande machine zullen overigens aanmerkelijk lager liggen dan van een volledig automatisch werktuig.

2.4 Vervangingswaarde vervangend systeem

De jaarkosten op basis van de vervangingswaarde van het vervangende systeem mogen gelijk zijn of lager dan datgene wat met de gangbare manier bespaard wordt, min de kosten per hectare van het vervangend systeem. De hoogte hiervan is afhankelijk van de capaciteit van het vervangende systeem. De vervangingswaarde staat voor het bedrag dat de teler voor het vervangende systeem kan uitgeven, gebaseerd op bedrijfseconomische criteria.

Bij de moeilijke cultivars komt per hectare tussen de € 2.730,- en € 10.976,- beschikbaar. Wanneer het vervangende systeem intrede vindt en gangbaar wordt, zal de gemiddelde kwaliteit van de tulpenbollen over de gehele sector toenemen. In dit geval zullen de hogere kwaliteitsklassen meer standaard en beschikbaar worden en op den duur niet extra betaald worden (vraag & aanbod). In deze berekeningen is hiermee geen rekening gehouden.

In Tabel 5 wordt weergegeven welk bedrag er bespaard wordt wanneer het systeem voor een

bepaald aantal hectares kan worden ingezet (a.). Het verschil met de kosten per hectare van het vervangende systeem (b.) geeft het bedrag wat beschikbaar is voor de jaarkosten (c.). Het percentage van deze jaarkosten is 24,5%, hiermee kan bepaald worden wat de maximale vervangingswaarde (d.) van het vervangende systeem mag zijn om een gelijk bedrijfseconomisch resultaat als bij de gangbare manier te behalen. Wanneer de investeringen in het vervangende systeem lager uitvallen, dan wordt de gangbare manier van ziekzoeken minder aantrekkelijk.

Tabel 5. Kosten (€) ziekzoeken bestaand en alternatief, besparing kosten bij alternatief systeem en maximale vervangingswaarde bij 1, 5 en 10 ha moeilijke cultivar tulp.

		Per ha	Per 5 ha	Per 10 ha
a. Relevante kosten bestaand (moeilijke cultivar)	Scenario 3	3.585	17.926	35.850
	Scenario 4	11.831	59.155	118.310
b. Relevante kosten vervangend systeem per hectare	Scenario 3	855	4.274	8.550
	Scenario 4	855	4.274	8.550
c. Beschikbaar voor dekking jaarkosten	Scenario 3	2.730	13.651	27.300
	Scenario 4	10.976	54.880	109.760
d. Maximale vervangingswaarde	Scenario 3	11.144	55.718	111.440
	Scenario 4	44.800	224.000	448.000

Wanneer de berekening wordt uitgevoerd bij arbeidskosten voor ziekzoeken van € 30 per uur (scenario 5) dan is per jaar per ha € 11.876 beschikbaar ter dekking van de jaarkosten van een alternatief systeem. De maximale vervangingswaarde van de te ontwikkelen machine bedraagt dan uitgaande van 5 ha € 242.376.
Wanneer de te ontwikkelen machine continu bediend moet worden dan daalt de investeringsruimte. Het verschil is sterk afhankelijk van de capaciteit van de machine. Grofweg mag worden gesteld dat de investeringsruimte daalt met € 500 per uur per ha. Als de nieuwe machine bediend per uur 0,5 ha kan selecteren dan daalt de investeringsruimte met € 1.000 per ha.
Recent is Anthos gekomen met een clausule om uitzoekkosten te kunnen verhalen op de verkoper. De clausule houdt in dat bij partijen met meer dan 5% ziek de koper uitzoekkosten kan gaan claimen. Anthos stelt voor deze vergoeding vast te stellen op € 5,- per 1000 bollen. In de berekeningen wordt uitgegaan van 450.000 leverbaar per ha. De kosten voor het uitzoeken zijn dan € 2.250 per ha. De extra investeringsruimte bedraagt dan bij 1 ha € 9.100,-. Bij 5 ha is dit dan € 45.500.

2.5 Hoeveel bedrijven

De investeringsruimte voor een machine voor automatisch ziekzoeken is sterk afhankelijk van het areaal dat door de machine kan worden bewerkt. Tabel 5 laat zien dat de maximale vervangingswaarde bij 5 ha moeilijke cultivars voor een dergelijke uitgaande van scenario 4 waarin de problemen zijn toegenomen € 224.000 bedraagt. Veronderstel dat op een bedrijf maximaal 25 % moeilijke cultivars worden geteeld, dan betekent dit totaal 20 ha tulp op een bedrijf. In Nederland waren in 2006 124 bedrijven met meer dan 20 ha tulp op het bedrijf (Tabel 6). Dit is ongeveer 10 % van het totale aantal bedrijven met tulpen.

Tabel 6. Areaal tulp per bedrijf (ha) en aantal bedrijven

Areaal tulp per bedrijf	# bedrijven	Totaal areaal
0 - 5	630	1.337
5 - 10	291	2.023
10 - 15	131	1.596
15 - 20	74	1.270
20 - 30	71	1.732
> 30	53	2.404
Totaal	1.250	10.362

2.6 Conclusie

Stel dat het systeem voor 5 hectare kan worden gebruikt, dan wordt er tussen de € 18.000,- en € 59.000,- per jaar op ziekzoeken bespaard. Na verrekening van de kosten per hectare van het vervangende systeem blijft tussen € 13.650,- en € 54.900,– over om de vaste jaarkosten van het nieuwe systeem te dekken. Deze kosten zijn 24,5% van de vervangingswaarde wat betekent dat het vervangende systeem tegen lagere kosten werkt wanneer de vervangingswaarde niet hoger is dan 4,08 (100/24,5) maal het bedrag dat beschikbaar is om de jaarkosten te dekken, in dit geval tussen de € 55.700,- en € 224.000,-.
Bij een machine waar nog een chauffeur nodig is zal de investeringsruimte lager zijn. De ontwikkelkosten zijn dan eveneens lager.
Mocht de verrekening van de uitzoekkosten plaats gaan vinden volgens de clausule die Anthos voorstelt dan is de investeringsruimte bij 5 ha moeilijke tulp € 45.500 hoger (€ 269.500).

Van bovengenoemde uitgangspunten en berekeningen is een spreadsheet gemaakt, waarmee ondernemers op basis van bedrijfsspecifieke uitgangspunten de mogelijkheden voor hun bedrijf in beeld kunnen brengen.

© Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

3 Materiaal en Methoden Visiontechnieken

De opzet van het experiment was om visuele beoordeling van TBV-zieke tulpen (de ogen van de ziekzoeker) te correleren met enerzijds de uitslag via ELISA (de absolute objectieve maatlat) en anderzijds de visontechnieken (diverse foto-systemen). Opgeplante tulpen werden na beoordeling door de ziekzoeker geanalyseerd in het laboratorium van PRI-Biometris terwijl dezelfde planten vervolgens in ELISA op TBV werden beoordeeld.

3.1 Experimentele opzet

Het project viel in twee delen uiteen:

1. Opplant van 3 tulpen cultivars met bekend viruspercentage (Barcelona (roze), Yokohama en Monte Carlo) in plastic mandjes ("vijvermandjes") in de regio Egmond op zanderige grond (firma Apeldoorn)
2. In het voorjaar werden op 4 momenten de opgekomen tulpen visueel beoordeeld door twee deskundige ziekzoekers (Apeldoorn en Conijn), en werden de mandjes met gemerkte tulpen uitgegraven en getransporteerd naar WUR (PRI Biometris) in Wageningen. Hier werden de verschillende visiontechnieken toegepast op het plantmateriaal met de symptomen (en op de symptoomloze controles). In laatste instantie werden de tulpen naar PPO (Lisse) gebracht waar deze tulpen onderworpen werden aan een serologische toets op het virus (TBV); deze uitslag werd als de referentietoets ("de waarheid") gezien.

3.2 Plantmateriaal

Partijen van met TBV- geïnfecteerde gele tulpencultivars Yokohama en Monte Carlo, en als controle de roze Barcelona werden verkregen van de Bloembollenkeuringsdienst. Vooral de gele en witte cv's leveren de meeste problemen op bij het visueel ziekzoeken. Het percentage TBV, zoals aangetroffen en gemeten door de BKD bedroeg 14% in Yokohama, 16 % in Barcelona en 31% in Monte Carlo. Om betrouwbare statistische uitspraken te doen is het noodzakelijk voldoende grote aantallen gezonden en viruszieke planten in de test mee te nemen.

3.3 ELISA

Deze serologische test is bij PPO uitgevoerd volgens het standaard protocol van de expertisegroep Virussen, bacteriën en diagnostiek. Hiertoe werd coating en conjugaat van PPO gebruikt, welke dit virus gevoelig en betrouwbaar kan aantonen.

3.4 Optische technieken

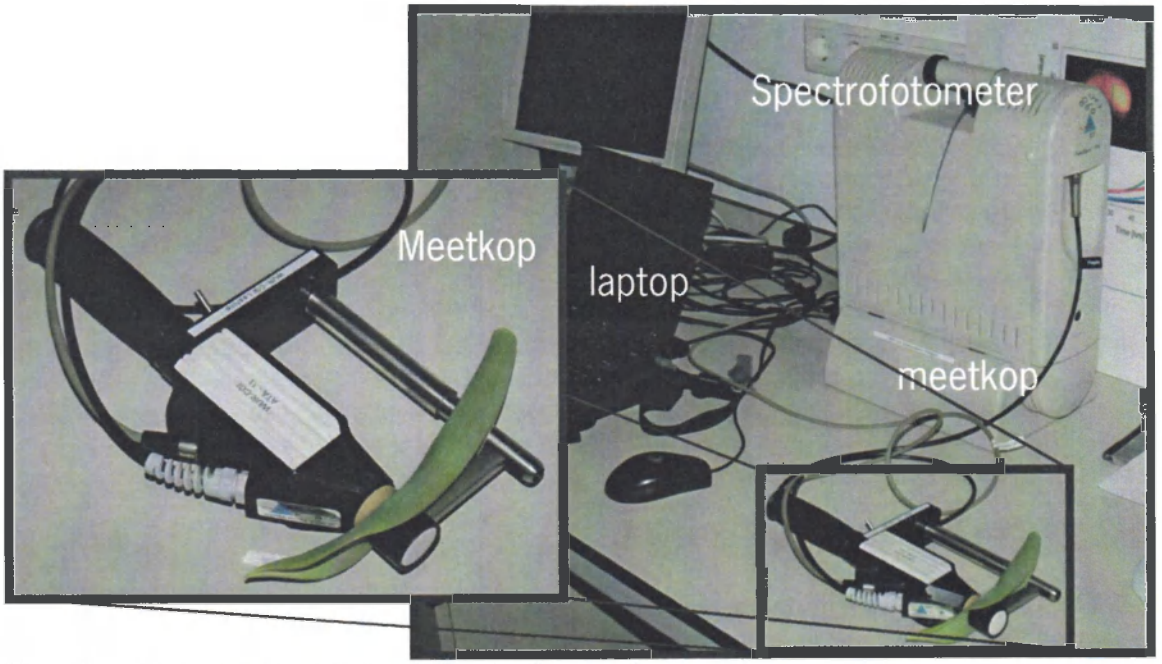
In het PRI-rapport 140208 "Inventarisatie mogelijkheden voor automatische non-destructieve detectie van tulpenmoziaiekvirus" zijn diverse mogelijkheden voor virusdetectie in het veld op een rijtje gezet. Het rapport stelt vier mogelijke optische technieken voor:

- puntmetingen met een spectrofotometer met hoge spectrale resolutie over groot golflengtebereik
- RGB kleurencamera
- spectrale camera, die spectrale informatie combineert met ruimtelijke informatie
- chlorofylfluorescentiemethode

De resultaten verkregen met deze vier optische methoden worden hieronder weergegeven.

3.4.1 Spectrofotometer

Met behulp van een spectrofotometer is het reflectie spectrum gemeten van de bladeren. Er is gebruik gemaakt van een FieldSpec Pro FR spectroradiometer van Analytical Spectral Devices (ASD). De spectrofotometer heeft een totaal bereik van 350 - 2500 nm en een resolutie van 3 nm in het zichtbaar licht en 10 nm in het infrarood bereik. Het aantal datapunten per meting is 2151. Voor de metingen is een meetkop gebruikt, waar de bladeren ingeklemd zijn (Figuur 3). Per blad zijn twee metingen gedaan op verschillende stukjes van het blad. Het spectrum wat gemeten wordt is de gemiddelde reflectie over een cirkelvormig oppervlak van ongeveer 2 cm. doorsnee.

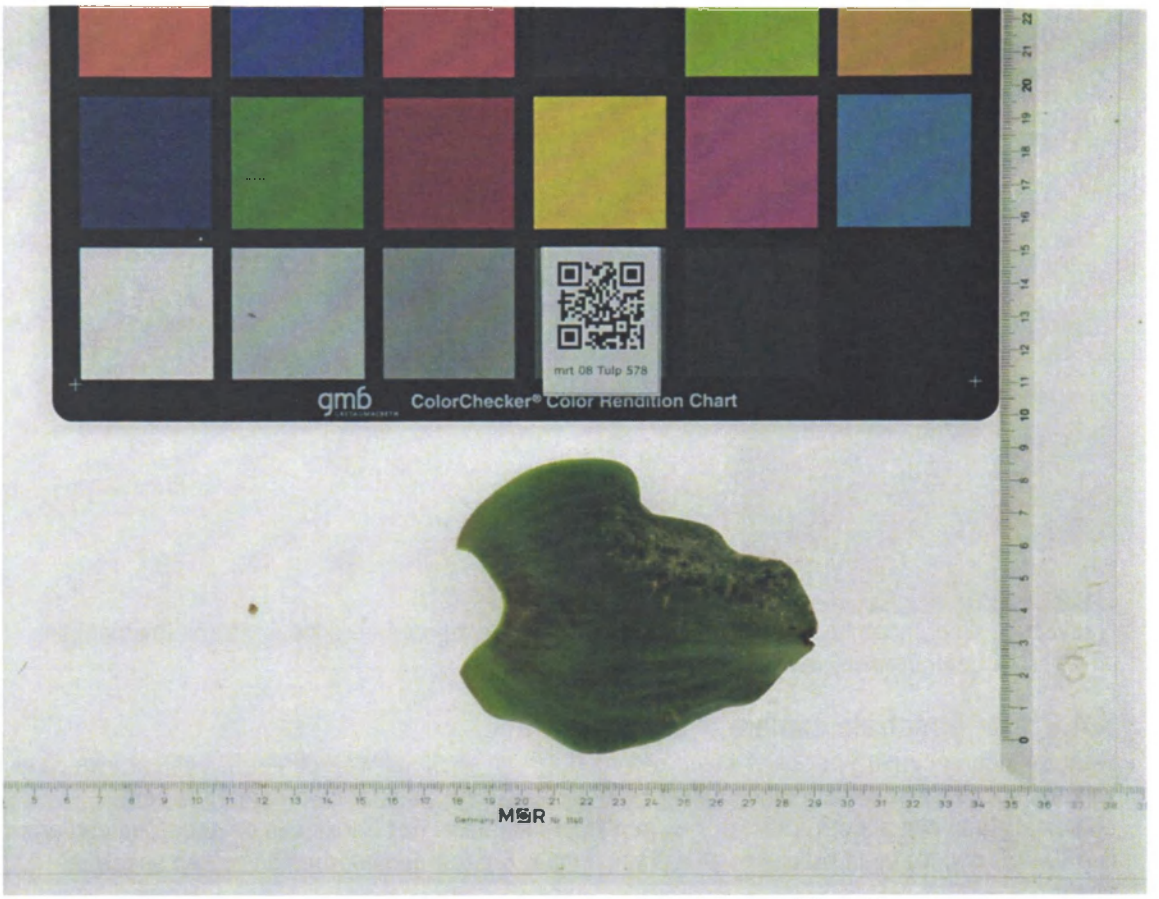


Figuur 3. De spectrofotometer met de gebruikte meetkop.

De spectra kunnen worden gebruikt in de classificatie, echter 2151 datapunten zijn te veel voor classificatie. Bovendien zijn dit geïnterpoleerde datapunten, omdat de werkelijke resolutie van de sensoren lager is. Daarom worden de spectra eerst gereduceerd met behulp van filtering en subsampling. Uiteindelijk zijn 20 – 40 datapunten per spectrum gebruikt in de classificatie. De spectrofotometer bestaat fysiek uit drie verschillende sensoren. Aangezien er soms een klein verschil zit in de signaalniveaus van deze sensoren is hiervoor ook gecorrigeerd. De spectrofotometer metingen moeten ook uitwijzen welk golflengte gebied de meeste verschillen geven. Hiertoe is het verschil bekeken van de gemiddelde spectra van zieke en gezonde bladeren. Ook is de totale spectrale range opgedeeld in stukjes van 100 nm met steeds een overlap van 90 nm. De classificatie fout per deelspectrum geeft aan hoe belangrijk dit deel van het spectrum is voor aantonen van het virus.

3.4.2 RGB kleurencamera

Van elk blad is onder geconditioneerde lichtomstandigheden in een opnamekast een digitale foto gemaakt. De camera is een Nikon D70. Samen met het blad is een Macbeth kleuren referentiekaart opgenomen, waarmee de kleuren gekalibreerd kunnen worden. Voor unieke identificatie van de bladeren is bovendien in elke opname een 2D barcode mee opgenomen. Figuur 4 geeft een voorbeeld van een opname.



Figuur 4. Opname van tulpenblad, kleurenreferentie en barcode met Nikon kleurencamera.

Van alle bladeren zijn de volgende vormparameters berekend:

1. lengte en breedte
2. gemiddelde intensiteit
3. standaard deviatie van de intensiteit
4. aantal object pixels
5. lengte van de omtrek
6. traagheidsmoment van binair object
7. elementen van tragheids tensor
8. grilligheid van de contour (bending energy)
9. perimeter (chain-code method)
10. kwadraat van de omtrek gedeeld door de oppervlakte (circulariteit)
11. Podczeck vorm kenmerken

Vervolgens is het rood/paarse vlekkenpatroon wat zich soms op zieke bladeren bevindt gekwantificeerd. Dit is gedaan door eerst een kleursegmentatie uit te voeren. Vervolgens zijn van de vlekken de volgende parameters berekend:

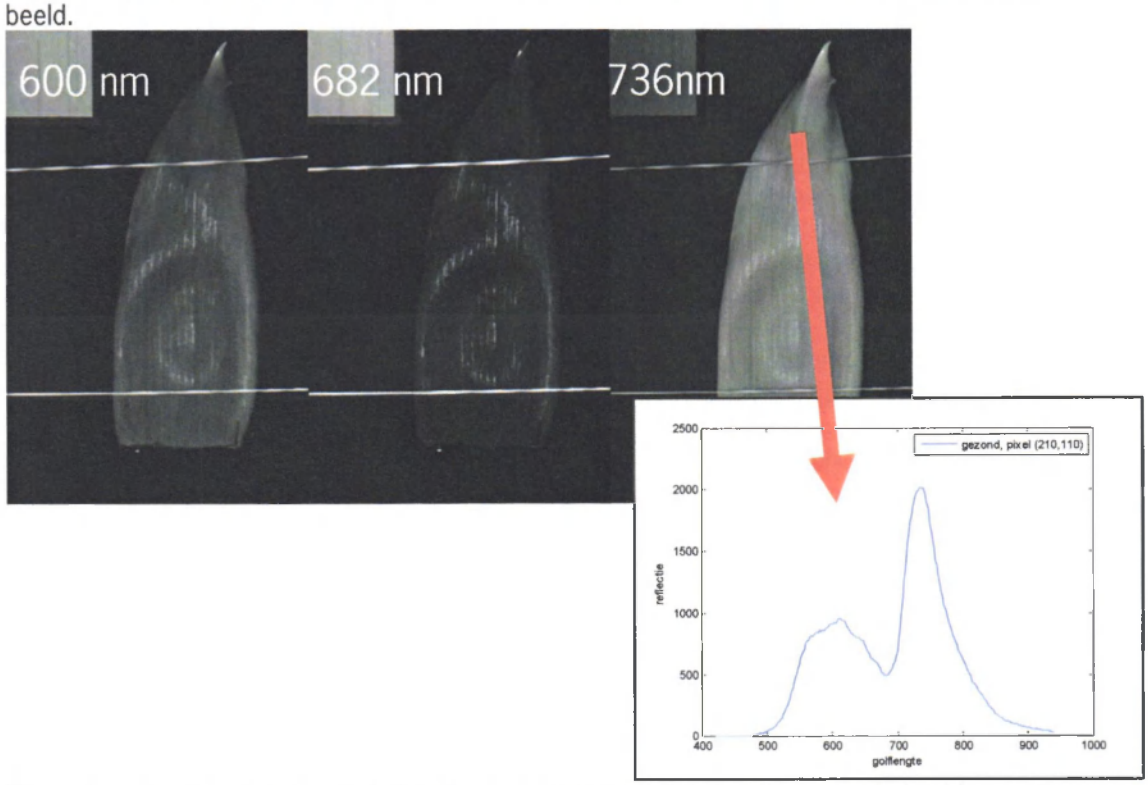
1. de totale oppervlakte van de vlekken
2. de totale omtrek van de vlekken
3. het aantal vlekken

Figuur 5 geeft een voorbeeld van een gesegmenteerd vlekkenpatroon.

Figuur 5. Kleurenopname van aangetast blad (links), gesegmenteerd kleurpatroon (midden) en contourpixels van het kleurpatroon (rechts).

3.4.3 Spectrale camera

Waar de kleurencamera per pixel alleen een rood, groen en blauw waarde geeft, bestaat elke pixel van een spectraal beeld uit een compleet reflectiespectrum. De spectrale camera is een combinatie van een spectrofotometer en een kleurencamera. Het bereik van de spectrale camera is 430-900 nm, met een resolutie van 4.5 nm. Figuur 6 geeft een voorbeeld van een spectraal beeld.



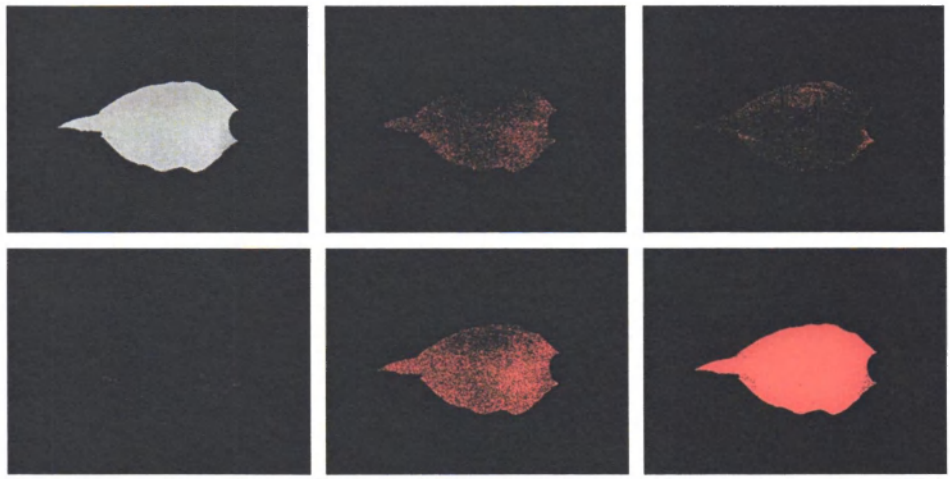
Figuur 6. Deel van het spectrale beeld van een tulpenblad. Hier zijn maar drie beelden weergegeven. In werkelijkheid zijn er 257 beelden bij golflengtes van 430-900 nm. Het spectrum linksonder geeft de reflectie van alle golflengtes op de positie van het geselecteerde pixel.

Van de bladeren zijn weer dezelfde vormkenmerken gemeten als bij de kleuren camera. De rood/paarse vlekken konden goed gekwantificeerd worden door de som van de beelden tussen

560 - en 590 nm te delen door de som van de beelden tussen 740 en 780 nm.
Vervolgens zijn op dezelfde manier als bij de kleurenbeelden kenmerken gemeten.

3.4.4 Chlorofylfluorescentie camera

De chlorofylfluorescentie camera meet de reactie van de fotosynthese op stress factoren. De output van deze camera is een zogenaamd PE (photosynthese efficiency) beeld, met per pixel een waarde voor de PE. Deze waarde ligt tussen 0 en 1.
De beelden zijn geanalyseerd door per blad de gemiddelde en standaardafwijking van deze PE waarden te meten. Verder zijn een aantal thresholds uitgevoerd op kleine verschillen in PE waarde. Dus als voorbeeld: alle PE waarden tussen 0.4 en 0.5 worden als object geselecteerd, en vervolgens alle PE waarden tussen 0.5 en 0.6, etc. Vervolgens zijn de afmetingen van de op deze manier verkregen objecten als kenmerken gebruikt in de classificatie. *Figuur* 7 geeft een voorbeeld van een PE beeld en het gesegmenteerde PE beeld bij verschillende threshold (drempel) waarden.



Figuur 7. Fotosynthese efficiëntie (PE) beeld (links boven) en gesegmenteerd PE beeld met verschillende drempelwaarden.

3.5 Data analyse (classificatie)

Per optische techniek krijgen we zoals hierboven beschreven een lijst van 10-40 kenmerken. Deze kenmerken zijn gebruikt in de data analyse. De analyse is gedaan door de kenmerken te classificeren met behulp van "leave one out" kruis validatie. Dat gaat als volgt: Een leeralgoritme krijgt de gemeten kenmerken en per blad de echte waarde (ziek/gezond) aangeboden. Als echte waarde wordt het resultaat van de Elisa toets gebruikt. Het leeralgoritme gaat nu een optimale scheidingsfunctie bepalen. Bij het leren worden de metingen van alle bladeren op één na gebruikt. Vervolgens wordt met de berekende scheidingsfunctie de klasse (ziek/gezond) van dat ene blad voorspeld. Dit wordt herhaald met iedere keer een ander blad, tot dat alle bladeren voorspeld zijn. Als leeralgoritme zijn een aantal lineaire en niet lineaire classificatie algoritmen gebruikt.
Per gebruikte methode krijgen we voor elk blad een voorspelling ziek/gezond.

Naast de analyse van elk van de methoden afzonderlijk is ook gekeken naar de mogelijkheid om diverse methoden te combineren. Hiermee kan worden gekeken hoe consequent de voorspellingen zijn voor de verschillende methoden. Met de spectrofotometer zijn twee spectra gemeten, die allebei afzonderlijk meedoen. De kenmerken verkregen met de chlorofylfluorescentie bleken zo weinig informatief te zijn dat deze in de gecombineerde analyse buiten beschouwing zijn gelaten. Dus als vier methoden hebben we twee spectra, de kleurencamera en de spectrale camera. De volgende combinaties zijn nu getest:

1. een plant is ziek als minimaal één methode dat aangeeft
2. een plant is ziek als alle methodes dat aangeven
3. als de kleuren camera en de spectraal camera verschillend voorspellen, neem dan het resultaat van de spectrofotometer

Verder is ook gekeken hoe de verkeerd voorspelde bladeren door de ziekzoeker beoordeeld zijn.

4 Resultaten visiontechnieken

4.1.1 Opplant en ELISA

In Tabel 7 staat vermeld het aantal getoetste exemplaren tulp per cultivar, het percentage virusziekte (TBV) van de bollen in 2007 naast wat er in de ELISA-toets dit jaar in is aangetroffen. Alleen in Barcelona is veel meer virus gevonden dan verwacht.

Tabel 7. Aantallen tulpen per cv met het % TBV van 2007 (boltoets) en van 2008 (in de tulp)

plantlijst potten voor ziekzoekproject					% ziek (BKD)	% PPO (steekproef)
geplant vanaf zuidoost hoek					ELISA	ELISA
rij	aantal potten	bollen/pot	totaal	soort		
1	36	12		yokohama	14	18
2	36	12		yokohama	14	,,
3	15	12	864	yokohama	14	,,
3	21	9		Barcelona	16	40
4	36	9		Barcelona	16	,,
5	28	9	765	Barcelona	16	,,
5	8	9		Monte Carlo	31	29
6	36	9	396	Monte Carlo	31	,,

Aanlevering bij PRI Biometris: 17, 24, 31maart, 7 april 2008 van de ingegraven vijvermandjes met tulpen (nog geen bloem). De ziekzoekers (dhr. Apeldoorn en dhr. Conijn) hebben stokjes geplaatst bij de viruszieke tulpen in de mandjes. In totaal zijn ongeveer 100 gezonde en 100 zieke planten per ras opgenomen. Dit leverde ruim 38 GB data op.
Na visionmetingen: tulpen naar PPO voor ELISA Enzyme ImmunaAssay analyse op TBV; opplant van de zieke tulpen als backup

4.1.2 Ziekzoeker

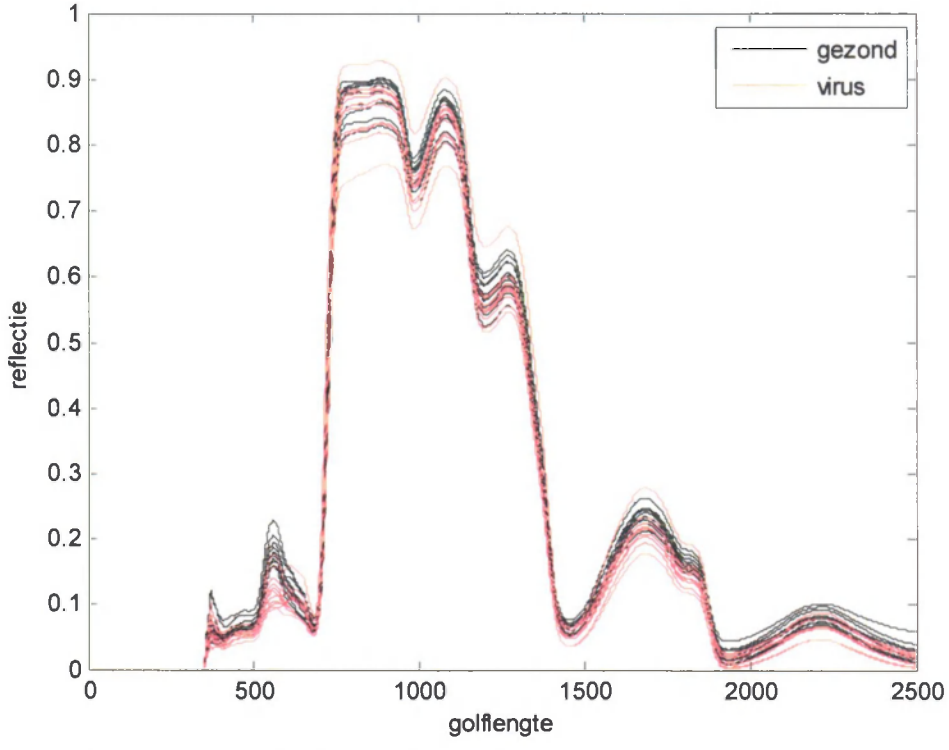
Tabel 8 geeft voor de verschillende rassen de score van de ziekzoeker ten opzichte van de Elisa score. De kolom 'Terecht gezond' en 'Terecht ziek' geeft het aantal door de ziekzoeker terecht gezond en ziek gescoorde planten. De kolom 'Onterecht gezond' geeft het aantal zieke planten die door de ziekzoeker gemist zijn. De kolom 'Onterecht ziek' geeft het aantal als ziek gescoorde planten, die in werkelijkheid gezond zijn. De laatste kolom geeft het percentage fout gescoorde planten.

Tabel 8. Score ziekzoeker

Ras	**Terecht gezond**	**Terecht ziek**	**Onterecht gezond**	**Onterecht ziek**	**Totale fout**
Barcelona	89	86	15	10	13%
Monte Carlo	100	22	22	25	28%
Yokohama	103	88	16	4	9%

4.1.3 Spectrofotometer

In Figuur 8 staan enkele spectra van gezonde en zieke bladeren geplot. Op het oog is er niet zo veel verschil. Om te kijken waar de spectra het meest verschillen zijn de gemiddelde spectra van de zieke en de gezonde van elkaar afgetrokken. Hieruit blijkt dat de grootste verschillen zich bevinden in het zichtbare spectrum tussen 500 en 700 nm.



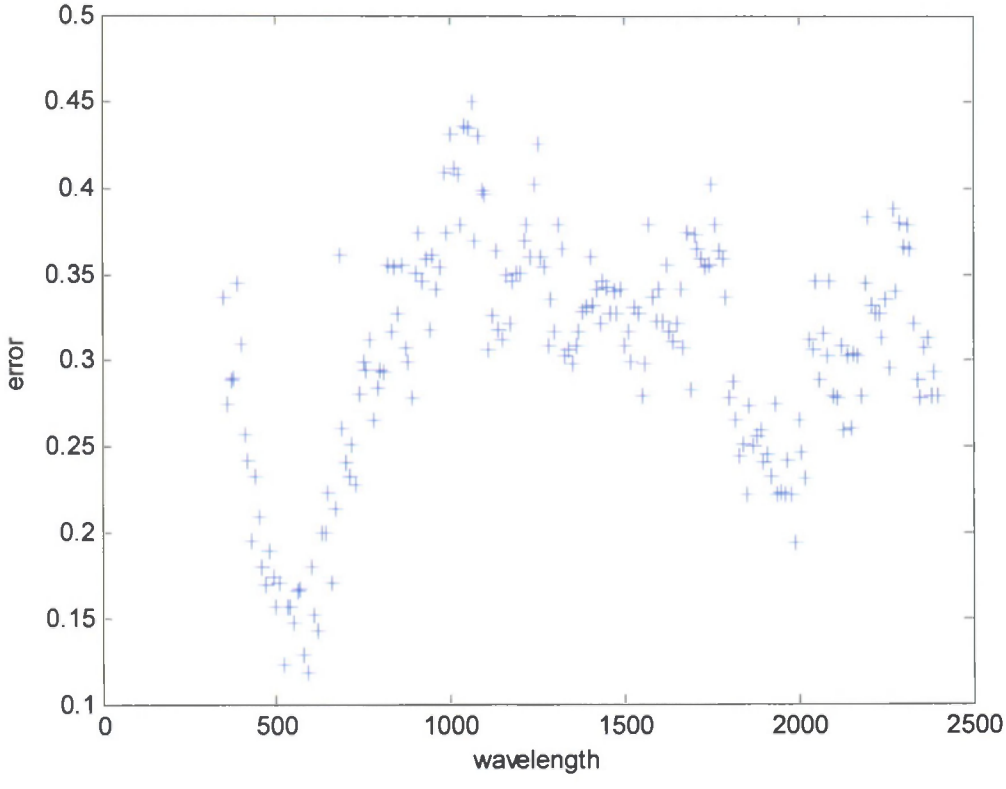
Figuur 8. Spectra van tien gezonde en tien zieke bladeren

Per blad zijn twee spectra beschikbaar. Tabel 9 geeft voor de verschillende rassen de score van de spectra ten opzichte van de Elisa score.

Tabel 9. Score spectrofotometer.

Ras	Terecht gezond	Terecht ziek	Onterecht gezond	Onterecht ziek	Totale fout
Barcelona	147	137	65	51	29%
Monte Carlo	202	63	25	48	24%
Yokohama	189	172	36	25	14%

De errors (fouten) van de classificatie van de deelspectra voor het ras Yokohama staan geplot in Figuur 9.



Figuur 9. Classificatiefout voor deelspectra van 100nm voor Yokohama.

Ook hier blijkt dus dat het golflengte gebied tussen 500 en 700 nm de meeste informatie geeft.

4.1.4 RGB kleurencamera

Analyse van de RGB waarden van de kleuren van de Macbeth referentie gaf aan dat er tijdens de opnames nauwelijks kleurverloop in de belichting heeft plaatsgevonden. Hierdoor konden de verdere metingen zonder correcties plaats vinden. Classificatie is uitgevoerd met alleen de vormkenmerken, alleen de kenmerken van de rood/paarse vlekken en een combinatie van die twee. De combinatie gaf de beste resultaten.

Tabel 10 geeft voor de verschillende rassen de score van de kleurencamera ten opzichte van de Elisa score.

Tabel 10. Score kleuren camera

Ras	Terecht gezond	Terecht ziek	Onterecht gezond	Onterecht ziek	Totale fout
Barcelona	83	72	29	16	22%
Monte Carlo	93	30	14	32	29%
Yokohama	101	84	19	5	12%

4.1.5 Spectraal camera

Classificatie is uitgevoerd met alleen de vormkenmerken, alleen de kenmerken van de rood/paarse vlekken en een combinatie van die twee. De combinatie gaf de beste resultaten.

Tabel 11 geeft voor de verschillende rassen de score van de spectraal camera ten opzichte van de Elisa score.

Tabel 11. Score spectrale camera

Ras	Terecht gezond	Terecht ziek	Onterecht gezond	Onterecht ziek	Totale fout
Barcelona	94	71	30	5	17%
Monte Carlo	89	31	13	36	29%
Yokohama	102	88	15	4	9%

4.1.6 Chlorofyl fluorescentie camera

Tabel 12 geeft voor de verschillende rassen de score van de Chlorofyl fluorescentie camera ten opzichte van de Elisa score.

Tabel 12. Score Chlorofyl fluorescentie camera

Ras	Terecht gezond	Terecht ziek	Onterecht gezond	Onterecht ziek	Totale fout
Barcelona	70	57	44	29	36
Monte Carlo	68	24	20	57	46
Yokohama	73	73	31	34	31

Zoals te zien is, zijn de resultaten van de chlorofylfluorescentie camera beduidend slechter dan voor de andere sensoren. Dit komt omdat de chlorofylfluorescentie camera vooral de gevolgen van stress meet. Die stress kan door allerlei factoren veroorzaakt zijn en hoeft niet per definitie een gevolg te zijn van het virus. In ons geval hadden de planten nogal sterk te leiden gehad van hagelschade, wat de chlorofylfluorescentie camera metingen vermoedelijk sterk beïnvloed heeft.

4.1.7 Combinatie van resultaten

Tabel 13, Tabel 14 en Tabel 15 geven voor de verschillende rassen de score van de gecombineerde methoden ten opzichte van de Elisa score.

Tabel 13. Score waarbij een plant is ziek als minimaal één methode dat aangeeft

Ras	Terecht gezond	Terecht ziek	Onterecht gezond	Onterecht ziek	Totale fout
Barcelona	82	80	24	17	19%
Monte Carlo	90	36	8	35	25%
Yokohama	99	89	14	7	10%

Tabel 14. Score waarbij een plant is ziek als alle methodes dat aangeven

Ras	Terecht gezond	Terecht ziek	Onterecht gezond	Onterecht ziek	Totale fout
Barcelona	96	39	62	3	33%
Monte Carlo	120	14	30	5	21%
Yokohama	106	68	35	0	17%

Tabel 15. Score waarbij als de kleuren camera en de spectrale camera verschillend voorspellen, neem dan het resultaat van de spectrofotometer.

Ras	Terecht gezond	Terecht ziek	Onterecht gezond	Onterecht ziek	Totale fout
Barcelona	88	74	27	11	19%
Monte Carlo	100	31	13	25	22%
Yokohama	102	87	16	4	10%

Tenslotte is er een vergelijking gemaakt met de ziekzoeker. Tabel 16 geeft de resultaten voor de spectrofotometer, de kleuren camera en de spectrale camera

Tabel 16. Vergelijking fouten gemaakt door sensoren en ziekzoeker

Ras	sensor	Aantal fout	Aantal fout ziekzoeker	Zelfde planten fout	Percentage overeenkomst
Barcelona	Spectrofotometer	47	25	10	40%
Monte Carlo	Spectrofotometer	50	47	24	51%
Yokohama	Spectrofotometer	37	20	6	30%
Barcelona	Nikon	45	25	13	52%
Monte Carlo	Nikon	46	47	18	38%
Yokohama	Nikon	24	20	7	35%
Barcelona	Spectrale camera	35	25	9	36%
Monte Carlo	Spectrale camera	49	47	16	34%
Yokohama	Spectrale camera	19	20	7	35%

5 Conclusies en discussie

In 2008 is een uitgebreid haalbaarheidsonderzoek uitgevoerd door Wageningen UR, in samenwerking met een groep telers. Het onderzoek is betaald door PT, de betrokken telers en Wageningen UR gezamenlijk.
In een eerste fase zijn diverse technieken op hun geschiktheid vergeleken. In de tweede fase zijn de vier meest kansrijke technieken in een proef vergeleken op nauwkeurigheid en haalbaarheid. In deze proef zijn drie rassen met een hoge graad van besmetting gebruikt, die speciaal hiervoor zijn opgekweekt in aparte bakken. De gehanteerde technieken zijn: beeldvormende spectroscopie (in golflengtegebied 430-900 nm), RGB-beeldverwerking (vorm plant en patronen op bladeren), spectroscopie (golflengtegebied 350-2500 nm) en chlorofyl-fluorescentie.
Het onderscheidend vermogen van deze technieken is vergeleken met visuele beoordelingen door experts en geverifieerd met een ELISA-toets.
De resultaten met deze technieken zijn veelbelovend. Men lijkt te kunnen volstaan met een kleurencamera, eventueel met een speciaal filter. Afhankelijk van het ras wordt 80-90% van de zieke planten opgespoord. Dit percentage kan mogelijk nog verbeterd worden door verfijningen in de opnamemethode en de software.

Het experiment met drie cultivars tulp viel in drie delen uiteen. De teelt op bedrijf van Piet Apeldoorn te Egmond in vijvermandjes verliep redelijk goed afgezien van muizenvraat aan de bollen! Ook viel het aantal zieke planten wat tegen, vooral in cultivar Monte Carlo. De logistiek van overdracht van visueel beoordeelde planten richting laboratorium in Wageningen van PRI-Biometris verliep goed, evenals de ELISA aan de beoordeelde tulpen. Een kanttekening bij de ELISA is, dat meestal tulpen aan de bol worden getoetst op TBV; toch bleek deze serologische bepaling goed te werken aan bladmateriaal, ondanks de wat lagere uitslagen. Verder dient er rekening gehouden te worden, dat er in tulp nog andere virusziekten kunnen voorkomen. Deze kunnen symptomen gegeven hebben die door de ziekzoeker en visiontechniek wel positief zijn beoordeeld, maar negatief in ELISA. Andere voorkomende virussen in tulp zijn

- Tabaksnecrosevirus (Augusta): ovale en ronde vlekken in de bladeren
- Tulpengrijsvirus:ovale kringvlekken in een vrij vaag licht-en donkergroen mozaïek met een kenmerkend ruw oppervlak; later worden de planten grijs.
- Komkommermozaïekvirus (kurkstip): chlorotische, bruin- of grijs-necrotische strepen, vlekken en banden op de bladeren
- Tabaksratelvirus (TRV): lichtgroene tot grijze, ruitvormige tot streepvormige vlekken die zich vanuit de bladbasis over het gehele bladoppervlak kunnen ontwikkelen
- Tulpenvirus X (TVX): geelgroen- en wit of bruin-necrotische streperigheid, en langgerekte ovale vlekken, plaatselijk of over het hele bladoppervlak.

Vooral TVX en Augustaziek zouden wel eens kunnen voorkomen in tulp. Ook kunnen andere aantastingen als gevolg van beschadiging (hagelschade, spuitschade) valspositieven in de optische beoordeling kunnen geven.

Bij het doorrekenen van wat nu de onkosten zijn die een tulpenteler heeft qua ziekzoekkosten is uitgegaan van de gemiddelde waarde van een partij tulpen.
Bij gebruik van het systeem voor 5 hectare wordt er tussen de € 18.000,- en € 59.000,- per jaar op ziekzoeken bespaard. Vaak zijn er grotere percelen, maar ook percelen met bv. rode tulpen die veel makkelijker virussymptomen laten zien. Na verrekening van de kosten per hectare van het vervangende systeem blijft er ongeveer tussen de € 15000 en € 55000 over om de vaste jaarkosten van het nieuwe systeem te dekken; bij het delen van deze kosten met andere tulpentelers valt dit gunstiger uit.

Uit Tabel 8 blijkt dat voor Barcelona en Yokohama de ziekzoeker een fout maakt van rond de 10 procent. Voor Monte Carlo ligt dit een stuk hoger, maar in deze proef gaf dit ras veel problemen. Het aantal zieke planten is verhoudingsgewijs te laag (44 stuks) om goede statistiek te doen.

Bovendien had vooral dit ras veel last van hagelschade.
Als we naar de spectra kijken van de spectrofotometer metingen (Figuur) is er niet veel verschil te zien tussen zieke en gezonde bladeren. Toch is het mogelijk met een lineair regressie model verschil te zien, waarbij de fout iets hoger ligt dan bij de ziekzoeker. Verder blijkt uit deze analyse dat het grootste spectrale verschil licht tussen 500 en 700 nm. Dit betekent dat voor een praktijk apparaat geen dure infrarood sensor nodig is.
Het gebruik van ruimtelijke informatie bij de kleuren en spectraal camera voegt wezenlijk iets toe aan de resultaten. De fout wordt een stuk kleiner en is voor Yokohama gelijk aan de ziekzoeker en voor Barcelona iets minder.
De resultaten van de chlorofylfluorescentie camera zijn minder. Dit komt vermoedelijk omdat deze camera vooral stress meet, en de planten behoorlijk wat andere stress hadden, met name hagelschade. Stressverschillen veroorzaakt door het virus konden nauwelijks worden aangetoond. Chlorofylfluorescentie lijkt dan ook niet de aangewezen methode voor een praktijk apparaat.
Het combineren van verschillende methoden geeft niet zo heel veel verbetering. Wel kan het aantal onterecht ziek gescoorde planten gereduceerd worden. Dit is belangrijk, want als dit getal te hoog is in een situatie waarbij het percentage zieke planten in een veld laag is, worden er teveel gezonde planten weg gehaald.
Als we nog even kijken op individuele (plant) basis naar verschillen tussen de methoden en de ziekzoeker (Tabel 16, pag. 31), dan blijkt dat de overeenkomst tussen fout gescoorde planten door de ziekzoeker en de optische methoden tussen de 30 en 50% ligt. Dus voor 50 tot 70% maken de optische methoden andere fouten dan de ziekzoeker. Dit is een punt van belang; scoort de camera verschillen met gezonde planten anders dan een ziekzoeker? Door de ziektebeelden die vastgelegd zijn nog eens te bekijken samen met een ziekzoeker kan hier wellicht helderheid in worden gebracht.

Bij vervolgonderzoek zou men moeten denken aan bv. een handgeduwde opstelling met een of twee kleurencamera's, gekoppeld aan een computer. Door deze opstelling (een handkar) door een veld met TBV-zieke tulpen te duwen is direct vast te stellen of een prototype van een ziekzoekrobot haalbaar is. Voor het bouwen van dergelijke opstellen heeft PRI-Biometris de nodige ervaring. Er zijn al plukrobots in de tomatenteelt; er bestaan bovendien al autonoomwerkende rijdende robots, GPS-gestuurd die bv. zuring uit grasland kunnen verwijderen (http://www.biokennis.nl/Nieuws/22052007Zelfrijdenderobot.htm).

Vanwege de goede perspectieven zal toekomstig onderzoek zich richten op
het ontwikkelen en testen van een prototype apparaat voor detectie en verwijdering van virusbesmette (tulpen)planten in het open veld. Het streven is het percentage viruszieke tulpen in de gehele keten terug te dringen. Daardoor zullen er economische (rendement, markt), arbeidstechnische (inzet, ARBO omstandigheden, deskundigheid) én milieukundige (minder preventieve bespuitingen) voordelen te behalen zijn.

6 Communicatie

6.1 Bijeenkomsten en overleg met begeleidingscommissie

Deze bijeenkomsten vonden plaats bij Piet Apeldoorn (Egmond), Agrifirm, Agrifirm Mechanisatie BV (Zwaagdijk), PPO Bollen, Bomen en Fruit (Lisse) of bij PRI-Biometris (Wageningen).

- bijeenkomsten in juni, augustus, okt, nov. 2007;
- bijeenkomsten in 2008: 13 februari (Wageningen); 20 maart (Zwaagdijk), 30 september (Wageningen)

6.2 Vakbladartikelen (in prep.)

- Joop van Doorn, Ton Baltissen, Remco Schreuder, Gerrit Polder, Rob van der Schoor, Gerie van der Heijden: Op zoek naar virus in tulp met een camera BloembollenVisie 2008 (in prep.)
- Interview met Arie Dwarswaard: visiontechnieken: hoe werkt dit wat kan je ermee in de sierteelt? (in voorbereiding)

7 Literatuur

1. Ziekten en afwijkingen in bolgewassen deel 1: liliaceae (2000, LBO Lisse)
2. Derks AFLM *et al.* 1982. Purification of Tulip breaking virus and production of antisera for use in ELISA. Neth.J.Pl.Path.88: 87-98
3. Sato H *et al.* 2002. A comparison of sensitive and specific methods for the detection of Lily mottle virus in lily plants. J. Phytopathol.159: 20-24.
4. Agrarisch Kennis Centrum Noord-Holland, 2003, Haalbaarheidsonderzoek Detectie Mozaïekvirus in tulpen. AKC-Noord-Holland, Zwaagdijk. 13 pp + bijlagen.
5. Polder, G., G.W.A.M. van der Heijden, L.C.P. Keizer & I.T. Young, (2003) Calibration and characterization of spectral imaging systems. Journal Near Infrared Spectroscopy 11: 193-210
6. Schut A.G.T., (2003). Imaging spectroscopy for characterisation of grass swards. Thesis, Wageningen University, Wageningen.
7. Polder, G. 2004. Spectral imaging for measuring biochemicals in plant material. Thesis, Delft Technical University, Delft.
8. Schut, A.G.T., Lokhorst, C., Hendriks, M.M.W.B., Kornet, J.G. and Kasper, G.J., 2005, Potential of imaging spectroscopy as tool for pasture management. Grass and Forage Science, 60, pp. 34-45.
9. Schut, A.G.T., van der Heijden, G.W.A.M., Hoving, I., Stienezen, M.W.J., Van Evert, F.K. and Meuleman, J., 2006, Imaging spectroscopy for on-farm measurement of grassland yield and quality. Agron. J. Accepted.
10. Heijden, G.W.A.M. van der, J.G.P.W. Clevers & A.G.T. Schut (accepted) Combining close-range and remote sensing for local assessment of bio-physical characteristics of arable land. International Journal of Remote Sensing.
11. Asjes, C. J. - Elbertsen, M.,1982, Tulpenmozaïekvirus in tulpen - de symptomem en het ziekzoeken. Laboratorium voor Bloembollenonderzoek Lisse/Wageningen, 40 pp

Bijlage 1. Consortiumvorming

Inleiding

Het vervolg project 'automatisch ziekzoeken in tulp' zal een grotere financiële inspanning vragen dan deze haalbaarheidsstudie. Daarbij zal ook de sector zelf financieel commitment moeten tonen. Dit hoofdstuk beschrijft de aanpak zoals die in de projectgroep is besproken. De projectgroep heeft echter nadrukkelijk aangegeven om pas na een goed resultaat van het haalbaarheidsproject de consortiumvorming ter hand te willen nemen. In dit hoofdstuk wordt de voorgestelde aanpak gepresenteerd.

Consortium

Een consortium is een samenwerkingsverband tussen een aantal partijen met als doel om voor gezamenlijke rekening en risico, te komen tot de ontwikkeling en de realisatie van een automatische ziekzoekmachine in tulp, waarbij partijen

- hun kennis en ervaring inbrengen
- de financiële middelen zullen inbrengen of verkrijgen
- beogen de machine projectmatig te ontwikkelen
- de ziekzoekmachine beogen op eigen bedrijf in te zetten
- de ziekzoekmachine met opslag op de markt willen brengen, althans voor het terugverdienen van de gemaakte kosten wensen te commercialiseren

Deze afspraken worden vastgelegd in een contract (samenwerkingsovereenkomst).
Aan het samenwerkingsverband wordt een projectorganisatie verbonden, welke organisatie wordt ondergebracht in een rechtspersoon.

De basis voor het consortium is een businessplan, bestaande uit:

1. Ontwikkelplan: het ontwikkeltraject.
2. Marktplan: de implementatie en verkoop.

Het businessplan bestaat uit twee onderdelen die hieronder nader worden toegelicht.

<u>1. Het ontwikkelplan</u>

In het ontwikkelplan worden de volgende onderwerpen nader uitgewerkt.

- Haalbaarheid en de toepassing van het te realiseren apparaat: technisch, economische analyse. Kan aansluiten op uitgevoerde haalbaarheid.
- Fasering: project moet technisch en financieel beheersbaar zijn en blijven.
- Go/no go's met duidelijke beslispunten
- Exit regeling voor uittredende deelnemers. Daarbij worden de rechten en plichten geregeld.
- Planning van het ontwikkeltraject.
- Systeembeschrijving van de toepassing. Het is van belang dat dit zo specifiek mogelijk is. Denk daarbij aan: hoe verwijderen van zieke planten, welke cultivars, welke werkbreedte, etc.
- Organisatie: in dit hoofdstuk wordt beschreven hoe het project wordt georganiseerd. Vanwege de omvang van het project en de risico's worden de afspraken formeel vastgelegd.
- Kosten en opbouw van de kosten over de verschillende fasen van het project.
- Financiering, voor totale project. Risico's van de financiering.
- Leverancier(s): wie wordt de leverancier en zijn daar bepaalde afspraken mee gemaakt, zoals exclusief recht voor productie, verkoop en afleveren van de ziekzoekmachine.
- Risico's: beschrijving van de technische en andere risico's.

<u>Marktplan</u>

In het marktplan worden de volgende onderwerpen nader uitgewerkt.

- De marktomvang. Op basis van een berekening wordt de markt ingeschat voor het apparaat.
- De terugverdientijd. Middels een aantal scenario's wordt inzicht gegeven in de terug verdientijd. Vaak zal dit per bedrijf verschillen.
- Het terugverdienmechanisme. Dit is afhankelijk van de wijze van financiering. Kwekers en/of andere investeerders willen hun geïnvesteerd geld (met rente) terug zien. Een mogelijkheid is royalty's op de machine (of op onderdelen).
- Een optie is dat de aan het project deelnemende kwekers geen royalty betalen bij aankoop machine (bijvoorbeeld aankoop minus 8 %)
- De ingebrachte financiën kunnen worden terug verdien middels royalty's van niet deelnemende kwekers. Daarvoor zijn dan afspraken nodig met de producent

Kenniseigendom
Ook over kenniseigendom moeten afspraken gemaakt worden. Dit zal niet gemakkelijk zijn met veel deelnemende partijen (onderzoeksinstellingen, kwekers, commerciële bedrijven). Belangrijke aandachtspunten zijn:

- Nieuwe kennis en of uitvindingen tijdens project, worden direct gemeld.
- De intellectuele eigendomsrechten voortkomend uit of verbandhoudend met het in opdracht van samenwerkingsverband te ontwikkelen ziekzoeksysteem, komen toe aan de gezamenlijke partijen. Dit is een lastig punt, maar zou wel een uitgangspunt kunnen zijn.
- Uitgangspunt is verder dat iedere partij mede –eigenaar is, naar rato van de gemaakte kosten. Ook dit kan lastig liggen, zeker als er al verder gewerkt wordt op basis van bestaande kennis.

Kosten en financiering
Een belangrijk aspect zijn altijd de kosten en de financiering daarvan. De verwachting is dat het totaal project nog een behoorlijk bedrag zal vergen, afhankelijk van het gewenste resultaat. Financieel commitment van de deelnemers van het consortium is noodzakelijk om ook externe financiering te verkrijgen.

Samenvattend
Consortium = samenwerkingsovereenkomst + businessplan + projectplan

De projectgroep heeft besloten om de consortiumvorming verder vorm te geven nadat de resultaten van de haalbaarheidsstudie bekend zijn.