

Végéphyll – 12^e CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 11 ET 12 DÉCEMBRE 2018

**IMAGERIE HYPERSPECTRALE : IDENTIFICATION DES LONGUEURS D'ONDES SPECIFIQUES
POUR QUANTIFIER LA FUSARIOSE DES EPIS SUR BLE TENDRE**

M. FAURE ⁽¹⁾, F. SERRE⁽²⁾, S. ROCHE⁽²⁾, J.-P. MAIGNIEL⁽³⁾, C. SAINTENAC⁽⁴⁾ et V. CADOT⁽¹⁾

⁽¹⁾ GEVES Beaucozéz – 25 rue Georges Morel, 49071 Beaucozéz – France
valerie.cadot@geves.fr

⁽²⁾ INRA UE PHACC 1375 – 5 chemin de Beaulieu, 63100 Clermont-Ferrand – France
frederic.serre@inra.fr, sylvie.roche.2@inra.fr

⁽³⁾ GEVES Domaine de l'Anjouère – La Pouëze, 49370 Erdre-en-Anjou – France
jean-philippe.maigniel@geves.fr

⁽⁴⁾ INRA UMR 1095 GDEC – 5 chemin de Beaulieu, 63100 Clermont-Ferrand – France
cyrille.saintenac@inra.fr

RÉSUMÉ

Un des objectifs du projet Ecophyto IRIGAM est de développer une méthode de phénotypage plus rapide et objective que les notations visuelles pour quantifier les symptômes de la fusariose de l'épi sur blé tendre, en utilisant l'imagerie spectrale. Des analyses chimiométriques d'images hyperspectrales (400nm-1000nm) ont permis d'identifier les longueurs d'ondes les plus pertinentes pour discriminer les épis sains des épis fusariés. A partir de données d'apprentissage acquises en 2016 et 2017, 4 sous-ensembles de 2 à 5 longueurs d'onde ont été validés sur 678 épis, provenant de 20 variétés implantées sur 2 sites. Le taux de surface fusariée sur épi, mesuré par analyse spectrale, est significativement corrélé avec les notations visuelles de référence ($R^2 > 0.86$) pour des stades de développement des épis compris entre 300°C/j et 500°C/j après inoculation. Les facteurs année et environnement ne modifient pas les longueurs d'ondes identifiées comme discriminantes.

Mots-clés : Fusariose des épis – Blé tendre – Imagerie Hyperspectrale – Sélection de longueurs d'ondes.

ABSTRACT

HYPERSPECTRAL IMAGING : IDENTIFICATION OF SPECIFIC WAVELENGTHS TO QUANTIFY FUSARIUM HEAD BLIGHT ON SOFT WHEAT

One of the objectives of the Ecophyto IRIGAM project is to develop a faster and more objective method than visual notations to quantify the symptoms of fusarium head blight on soft wheat using spectral imaging. Chemiometric analyses of hyperspectral images (400nm-1000nm) have enabled to identify the most relevant wavelengths to discriminate healthy ears of fusarium ears. From training data acquired in 2016 and 2017, 4 sets of 2 to 5 wavelengths were validated on 678 ears, coming from 20 varieties planted on 2 sites. The rate of fusarium surface on ear, measured by spectral analysis, is significantly correlated with visual reference notations ($R^2 > 0.86$) whatever the stage of development of the ears between 300°C/d and 500°C/d after inoculation. The year and environment effect do not modify the wavelengths identified as discriminating, with high prediction rate of fusarium ears of $R^2 > 0.82$ in 2017 from training data 2016 and $R^2 > 0.84$ in 2016 from training data 2017.

Keywords: Fusarium Head Blight – Soft wheat – Hyperspectral imaging – Wavelengths selection.

INTRODUCTION

La fusariose de l'épi (FHB), causée par complexe d'espèces dont la principale est *Fusarium graminearum*, est une maladie qui affecte de nombreuses céréales à paille en Europe. Elle entraîne une réduction du rendement de l'ordre de 0.2t/ha mais aussi la contamination des grains en fusariotoxines, se révélant nocive pour la santé humaine et animale. Pour limiter cette maladie et l'accumulation de ces toxines au champ, le développement de variétés résistantes au FHB est primordial. La réglementation CTPS encourage le développement de variétés résistantes à la fusariose de l'épi, en leur octroyant un bonus afin de faciliter leur inscription au Catalogue français et défavorise les variétés sensibles en délivrant un malus. L'effort de sélection en blé tendre en France a permis une élévation du niveau de résistance à la fusariose des variétés inscrites en France depuis 2008, avec une baisse significative des variétés sensibles au profit des variétés intermédiaires et résistantes (Cadot et Maigniel, 2013).

A l'heure où les avancées technologiques permettent un accès direct à l'information génomique et à son utilisation en génétique, disposer d'un outil de phénotypage adapté au caractère étudié reste un élément clé, et souvent limitant pour la mise en place de programme de sélection efficace (Tuberosa, 2012).

Malheureusement à ce jour, il n'existe pas de méthode d'évaluation variétale satisfaisante, notamment en cas de complexe fongique : les méthodes actuelles sont basées sur l'observation humaine, sur de l'imagerie dans le visible (RGB) et sur des analyses chimiques destructives.

Afin d'estimer le niveau de résistance à la fusariose des variétés de blé tendre, blé dur et triticale, lors de l'inscription au Catalogue français, des estimations visuelles du taux d'épillets fusariés sont actuellement réalisées dans le réseau CTPS piloté par le GEVES, avec des essais inoculés au champ, incluant des expérimentateurs du GEVES, des sélectionneurs et des instituts techniques. Mais ces notations visuelles sont dépendantes du notateur, requièrent des experts qualifiés pour identifier et quantifier les symptômes correctement et sont relativement longues.

Plusieurs méthodes de phénotypage, autres que les notations visuelles, ont récemment été décrites pour quantifier la résistance à la fusariose.

Concernant le phénotypage au champ automatisé, très peu d'études sont recensées : citons l'imagerie RGB dans le visible sur blé tendre, mesurant le taux d'épillets fusariés (Serre *et al.*, 2015). Le protocole mis en œuvre est fondé sur l'analyse de photographies prises à partir d'un simple reflex numérique complémenté par des éclairages flash. Deux algorithmes ont été mis en œuvre. « SegEpis » permet d'isoler les seuls pixels appartenant aux épis et « SegFusa », basé sur la couleur, permet de calculer sur les photographies segmentées avec « SegEpis », la surface des épis présentant des symptômes de fusariose. Un protocole de phénotypage par analyse d'images d'épis obtenues en laboratoire sous statif et mettant en œuvre un algorithme spécifique « Fusanote » a donné pleinement satisfaction (Bouguennec *et al.*, 2015).

Des technologies basées sur l'imagerie multispectrale (Cadot *et al.*, 2015 ; Jaillais *et al.*, 2015, Faure *et al.*, 2018) ont été développées pour appréhender la résistance de type III à l'infection des grains, par mesure du taux de grains fusariés ainsi qu'en utilisant le NIRS (Cadot *et al.*, 2017)

Néanmoins en situation de plein champ, une plus grande richesse spectrale couplée à une maîtrise de la lumière paraît la voie principale à considérer pour améliorer la reproductibilité des résultats obtenus sur blé tendre. L'imagerie hyperspectrale qui résulte du couplage entre la spectroscopie et l'imagerie, génère une information en hyper cube dont la dimension spectrale dépend du nombre de longueurs d'ondes utilisées. Cette grande richesse d'information est particulièrement adaptée pour l'analyse des tissus externes. Elle est en plein essor, pour caractériser des couverts végétaux pour quantifier la teneur en azote (Vigneau *et al.*, 2011, Rabatel *et al.*, 2017), ou quantifier les mauvaises herbes (Bossua *et al.*, 2009). Avec cette technique, Williams *et al.*, (2012) ont confirmé qu'il était possible de documenter temporellement l'infection de grains de maïs par *Fusarium verticillioides*. Des conclusions similaires ont été reportées par Chen *et al.* (2008), pour qualifier la présence de *Verticillium Wilt* sur un couvert de coton ou pour la présence de tavelure causée par *Venturia inaequalis* sur pommier (Delalieux *et al.*, 2007). Logiquement, Bauriegel *et al.* (2014) ont proposé d'utiliser cette technique pour détecter la présence d'épillets infectés par la fusariose sur les épis de blé d'hiver en cours de végétation. Ces travaux sont principalement développés pour les blés (dur et tendre).

Disposer d'un outil d'évaluation de la résistance fiable, reproductible, permettant du phénotypage à grande échelle est aujourd'hui indispensable pour identifier de potentielles sources de résistance et pour mieux en comprendre les bases génétiques exploitables en sélection.

Un des enjeux du programme Ecophyto IRIGAM a consisté à évaluer la capacité de l'imagerie hyperspectrale pour quantifier la fusariose sur épis de blé afin de remplacer l'œil humain au champ. Plus précisément, il s'agissait de déterminer les longueurs d'ondes les plus discriminantes en laboratoire pour identifier la fusariose sur épis afin de pouvoir les transférer à moyen terme dans une caméra multispectrale au champ.

MATERIEL ET MÉTHODE

MATERIEL VEGETAL

Pour cette étude, un panel de 20 variétés de blé tendre a été semé au champ en 2016 et en 2017 sur deux sites, le site de l'Anjouère (GEVES, 49) et le site de Crouël à Clermont-Ferrand (INRA, 63). Les essais ont été inoculés artificiellement par *Fusarium graminearum* à floraison. Le panel choisi comprend des variétés ayant des réponses contrastées à la fusariose de l'épi dont 10 témoins CTPS.

DONNEES HYPERSPECTRALES

La caméra hyperspectrale utilisée (NEO Hypspx VNIR-1800) permet d'enregistrer 216 longueurs d'onde sur une plage spectrale allant de 400nm à 1000nm. Les cubes images obtenus contiennent l'information spatiale dans les directions X et Y et l'information spectrale dans la direction Z.

Les mesures hyperspectrales ont été réalisées en laboratoire. Pour chaque variété, site et année, 5 épis ont été récoltés au champ et placés sur un fond noir sous la caméra hyperspectrale à une distance de 30 cm (Figure 1). Les images avec 5 épis obtenues ont ensuite été découpées, de façon automatique sous Matlab, afin d'obtenir une image par épi. En 2016, les mesures hyperspectrales ont été effectuées avec des épis récoltés entre 350°C/j et 400°C/j après inoculation. Afin d'étudier l'effet du stade de développement de l'épi, 3 récoltes ont été faites en 2017 permettant ainsi des mesures hyperspectrales d'épis entre 250°C/j et 550°C/j après inoculation. La base d'images hyperspectrales obtenue comprend 678 images d'épis récoltés entre 250°C/j et 500°C/j dont 189 images acquises en 2016 et 489 en 2017.

Figure 1: Acquisition avec la caméra hyperspectrale et exemples d'images RVB reconstruites à partir des données hyperspectrales
Hyperspectral camera acquisition and examples of RGB images reconstructed from hyperspectral data



DONNEES DE REFERENCES

Des images RGB ont été reconstruites à partir des images hyperspectrales. Des experts ont ainsi pu réaliser une annotation visuelle sur image, correspondant au taux de symptômes de fusariose présents sur l'épi. Cette notation a été réalisée pour chaque épi par 3 experts sur 2016 et 2017 sur les 678 épis. De plus, pour 579 épis 2016 et 2017, les zones fusariées ont été repérées visuellement par un expert sur chacune des images.

ANALYSES DES IMAGES HYPERSPECTRALES

Des algorithmes d'analyses d'images ont été développés sous Matlab pour quantifier la fusariose de l'épi sur blé tendre, en suivant ces trois grandes étapes :

1. Construire une base de données d'apprentissage
2. Sélectionner les longueurs d'ondes les plus discriminantes pour identifier la fusariose de l'épi, à partir des données hyperspectrales.
3. Appliquer les longueurs d'ondes sélectionnées pour quantifier la fusariose de l'épi

Construction de données d'apprentissage

La création d'une base d'apprentissage est nécessaire pour l'analyse d'images hyperspectrales, à partir de méthodes de sélection supervisées afin d'identifier les longueurs d'ondes les plus pertinentes. Les données d'apprentissage sont des données pour lesquelles la classe d'appartenance est connue. Trois bases d'apprentissage de 500 000 pixels ont été créées avec 50% des pixels appartenant à la classe « sain » et 50% des pixels appartenant à la classe « fusa ». La première base d'apprentissage est composée de 250 000 pixels issus de 76 épis 2016, la deuxième base de 250 000 pixels issus de 30 épis 2017 et la troisième base de pixels issus des données 2016 et 2017.

Sélection des longueurs d'ondes les plus pertinentes pour la discrimination de la fusariose de l'épi

Les méthodes de sélection des variables ont pour but d'extraire les informations les plus utiles. Les variables retenues représentent les aspects les plus significatifs des données pour répondre à la problématique. Afin de sélectionner les longueurs d'ondes les plus discriminantes pour la fusariose de l'épi, différentes méthodes de sélection ont été comparées : l'analyse discriminante pas à pas (ADPP) séquentielle, la covariance selection (CovSel) et l'analyse discriminante pas à pas non séquentielle. Les deux premières méthodes sont des méthodes de sélection séquentielle. Elles permettent d'obtenir un classement des longueurs d'ondes de la plus discriminante à la moins discriminante. L'ADPP non séquentielle permet, quant à elle, de définir le sous-ensemble le plus discriminant selon le nombre de longueurs d'ondes à sélectionner.

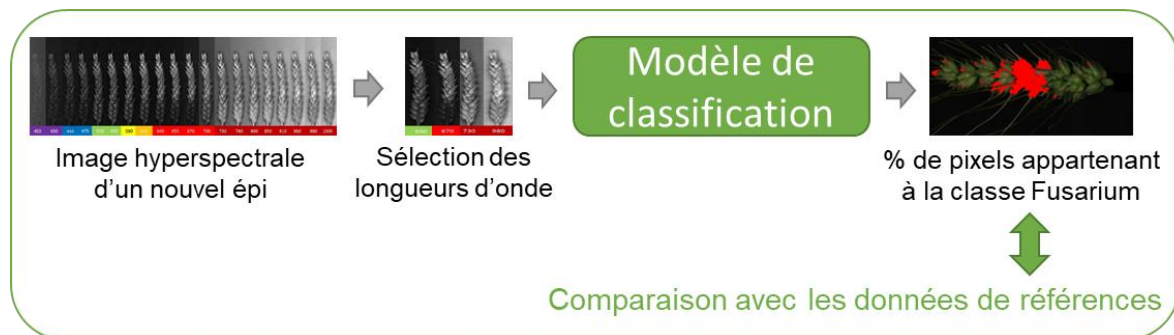
L'ADPP séquentielle utilisée est issue du package SAISIR développé sous Matlab. A chaque itération, une longueur d'onde supplémentaire est ajoutée au sous-ensemble de variables retenues précédemment avec comme critère d'introduction la maximisation de la trace. Ce critère permet d'introduire la longueur d'onde qui maximise le rapport entre l'inertie interclasse et l'inertie totale. La méthode CovSel est également issue du package SAISIR. A chaque itération, la longueur d'onde maximisant la covariance globale entre toutes les données spectrales est sélectionnée. Ensuite, toutes les données sont projetées orthogonalement sur l'espace de l'ensemble des variables sélectionnées. Ainsi, CovSel permet d'éviter d'obtenir un sous-ensemble de variables hautement corrélées. L'ADPP non séquentielle a été développée sous Matlab à partir de la thèse de Younes Chtioui (1997). A chaque itération, l'ensemble des combinaisons de longueurs d'ondes est testé. La combinaison maximisant le critère de la trace est retenue.

Le nombre de longueurs d'onde retenues dépend de la méthode de sélection. Pour les méthodes séquentielles, il faut définir le nombre optimal de longueurs d'onde à sélectionner. Des tests basés sur le taux de pixels bien classés selon le nombre de longueurs d'onde retenues (1 à 20) ont été réalisés. Pour l'ADPP non séquentielle le nombre de combinaisons devenant rapidement important, seules les sélections de 2 et 3 longueurs d'ondes ont pu être testées.

Application des longueurs d'ondes sélectionnées pour quantifier la fusariose de l'épi

Afin de détecter les symptômes de fusariose, une analyse discriminante est utilisée pour prédire l'appartenance des pixels aux classes « sain » ou « fusa » à partir des longueurs d'ondes sélectionnées. Un modèle de classification des pixels a donc été créé pour chaque méthode de sélection. Celui-ci permet de classer les pixels de chaque épi en deux classes « sain » ou « fusa » et de calculer le pourcentage de pixels appartenant à la classe « fusa ». La quantification de la fusariose de l'épi est mesurée, en calculant pour chaque épi, le pourcentage de pixels reconnus comme « fusariés » par le modèle. Il est égal au ratio entre le nombre de pixels appartenant à une zone présentant des symptômes de fusariose d'après le modèle, et le nombre de pixels correspondant à la totalité de l'épi. Le pourcentage obtenu est ensuite comparé aux données de références pour valider les longueurs d'onde retenues (Figure 2).

Figure 2 : Démarche mise en place pour la validation des longueurs d'onde sélectionnées
Process set up for the validation of selected wavelengths



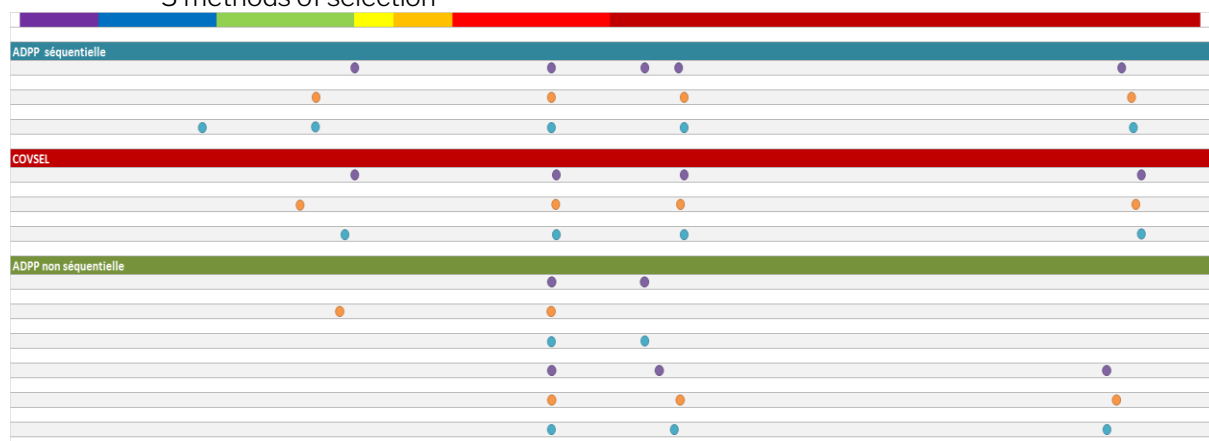
RESULTATS

DETERMINATION DES LONGUEURS D'ONDES LES PLUS PERTINENTES POUR DISCRIMINER LA FUSARIOSE DE L'EPI

Les longueurs d'ondes ont été sélectionnées à partir des données d'apprentissage 2016, 2017 et 2016-2017. Des sous-ensembles de 2 à 5 longueurs d'ondes ont été retenus selon la méthode de sélection utilisée. Pour chaque sous-ensemble, les longueurs d'onde sélectionnées sont similaires et appartiennent au visible et au proche infrarouge (figure 3). Elles reflètent la variation de teneur en chlorophylle et en eau entre les zones saines et fusariées. De plus, la sélection des longueurs d'ondes à partir des différentes bases d'apprentissage a permis de mettre en avant une similarité des longueurs d'ondes retenues entre les années (Figure 3).

Figure 3 : Longueurs d'onde sélectionnées à partir des données 2016 (●), des données 2017 (●) et des données 2016-2017 (●), selon trois méthodes de sélection

Wavelengths selected from 2016 data (●), 2017 data (●) and 2016-2017 data (●), according 3 methods of selection



APPLICATION DES LONGUEURS D'ONDES RETENUES POUR QUANTIFIER LA FUSARIOSE DE L'ÉPI

Les quatre sous-ensembles de longueurs d'ondes sélectionnées à partir de la base d'apprentissage 2016-2017 ont été appliqués pour quantifier la fusariose de l'épi. Ces sous-ensembles ont été validés sur l'ensemble des données 2016-2017. Pour chaque épi, le pourcentage de pixels appartenant à la classe « fusa » d'après les différents modèles a été comparé aux notations visuelles de référence. Les coefficients de détermination R^2 entre les données de références et les modèles sont supérieurs à 0.86 (Tableau I). De plus, les résultats sont similaires quel que soit le sous-ensemble de longueurs d'onde utilisé.

Tableau I : Coefficients de détermination R^2 entre les données de référence et les modèles de sélection

R^2 determination coefficients between reference data and selection models

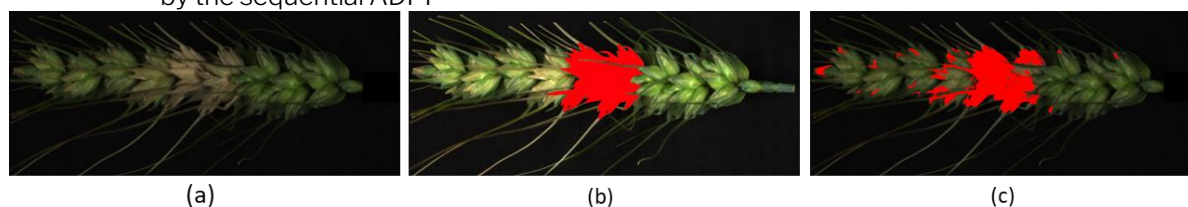
R ²			Références			Modèles			
			Expert 1 : note de 1 à 9	Expert 2 : note de 1 à 9	Expert 3 : % surface fusa	ADPP séquentielle 5λ	Covsel 4λ	ADPP non séquentielle 2λ	ADPP non séquentielle 3λ
731 épis (toutes les données)	Références	Expert 1 : note de 1 à 9	1	0,90	0,94	0,96	0,96	0,93	0,96
		Expert 2 : note de 1 à 9		1	0,84	0,89	0,89	0,87	0,89
		Expert 3 : % surface fusa			1	0,90	0,90	0,86	0,90
	Modèles	ADPP séquentielle 5λ				1	1,00	0,98	1,00
		Covsel 4λ					1	0,97	1,00
		ADPP non séquentielle 2λ						1	0,97
		ADPP non séquentielle 3λ							1

Pour chaque épi, le positionnement des zones fusariées identifiées par les différents modèles a été comparé avec celui déterminé visuellement par un expert. Quel que soit le sous-ensemble de longueurs d'onde utilisé, le pourcentage de bonne classification est supérieur à 90% avec un écart type inférieur à 0.08% (Figures 4 et 5). Les zones fusariées détectées par analyse multispectrale sont donc bien positionnées sur les zones identifiées par expertise visuelle.

Figure 4 : Matrices de confusion entre les zones fusariées identifiées par les différents modèles et les zones fusariées déterminées visuellement par un expert sur 539 épis.
Matrices of confusion between scabbed zones identified by the different models and scabbed zones visually determined by an expert on 539 spikes

ADPP séquentielle (Saisir) : 5λ				Covsel (Saisir) : 4λ			
		Analyse Multispectrale				Analyse Multispectrale	
		Sain	Fusa			Sain	Fusa
Analyse visuelle	Sain	55,79%	4,38%	Analyse visuelle	Sain	55,91%	4,25%
	Fusa	3,34%	36,49%		Fusa	3,49%	36,33%
% moyen de bonne classification :		92,28% 0,07± %		% moyen de bonne classification :		92,25% ± 0,07%	
ADPP non séquentielle : 3λ				ADPP non séquentielle : 2λ			
		Analyse Multispectrale				Analyse Multispectrale	
		Sain	Fusa			Sain	Fusa
Analyse visuelle	Sain	55,95%	4,2%	Analyse visuelle	Sain	54,65%	5,50%
	Fusa	3,55%	36,27%		Fusa	4,30%	35,53%
% moyen de bonne classification :		92,23% ± 0,07%		% moyen de bonne classification :		90,19% ± 0,08%	

Figure 5 : Comparaison des zones fusariées entre : (a) l'image initiale, (b) l'image de référence et (c) le résultat de la classification des pixels par le modèle utilisant les longueurs d'ondes retenues par l'ADPP séquentielle
Comparison of scabbed zones between: (a) the initial image, (b) the reference image and (c) the result of the classification of the pixels by the model using the wavelengths retained by the sequential ADPP



Etude de l'effet lieu sur la quantification de la fusariose de l'épi

Pour chaque épi et chaque lieu, le pourcentage de pixels appartenant à la classe « fusa » d'après les différents modèles a été comparé aux notations visuelles de référence. Il s'avère qu'il n'y a pas d'effet lieu, quelle que soit la méthode de sélection utilisée, avec néanmoins une variation pour 450°C/j (tableau II).

Tableau II : Coefficient de détermination (R^2) minimal entre les taux de surfaces fusariées obtenus par analyse spectrale et les notations visuelles de références, en fonction du lieu
Minimum coefficient of determination (R^2) between fusariate surface rates obtained by spectral analysis and visual reference notations, over locations

		Modèles			
		ADPP séquentielle	Covsel	ADPP non séquentielle 2 λ	ADPP non séquentielle 3 λ
350°C/j	Lieu 49 -- 35 épis	$R^2 > 0,90$	$R^2 > 0,90$	$R^2 > 0,88$	$R^2 > 0,90$
	Lieu 63 -- 120 épis	$R^2 > 0,89$	$R^2 > 0,89$	$R^2 > 0,87$	$R^2 > 0,89$
400°C/j	Lieu 49 -- 105 épis	$R^2 > 0,89$	$R^2 > 0,89$	$R^2 > 0,90$	$R^2 > 0,89$
	Lieu 63 -- 160 épis	$R^2 > 0,88$	$R^2 > 0,88$	$R^2 > 0,89$	$R^2 > 0,88$
450°C/j	Lieu 49 -- 30 épis	$R^2 > 0,65$	$R^2 > 0,64$	$R^2 > 0,52$	$R^2 > 0,65$
	Lieu 63 -- 96 épis	$R^2 > 0,92$	$R^2 > 0,92$	$R^2 > 0,92$	$R^2 > 0,92$

Etude de l'effet année sur la quantification de la fusariose de l'épi

Pour chaque épi, le pourcentage de pixels appartenant à la classe « fusa » d'après les différents modèles a été comparé aux notations visuelles de référence. Cette comparaison a été effectuée sur les données 2016, 2017 et 2016-2017 en utilisant les longueurs d'onde sélectionnées à partir de la base d'apprentissage 2016, 2017 et 2016-2017 (Tableau III). Il en résulte des taux élevés de prédiction de la fusariose de l'épi de $R^2 \geq 0,82$ sur les données 2017 à partir des longueurs d'onde 2016 et de $R^2 \geq 0,84$ sur les données 2016 à partir des longueurs d'onde 2017. Les effets année et environnement ne semblent pas affecter les longueurs d'ondes identifiées comme discriminantes.

Tableau III : Coefficient de détermination (R^2) minimal entre les taux de surfaces fusariées obtenus par analyse spectrale et les notations visuelles de références en fonction des années
Minimum coefficient of determination (R^2) between fusariate surface rates obtained by spectral analysis and visual reference notations, over years

	λ 2016	λ 2017	λ 2016-2017
Test sur les données 2016 : 189 épis	$R^2 > 0,91$	$R^2 > 0,84$	$R^2 > 0,89$
Test sur les données 2017 : 542 épis	$R^2 > 0,82$	$R^2 > 0,82$	$R^2 > 0,84$
Test sur les données 2016-2017 : 731 épis	$R^2 > 0,84$	$R^2 > 0,84$	$R^2 > 0,86$

Etude de l'effet stade de développement des épis sur la quantification de la fusariose de l'épi

Pour chaque épi et chaque lieu, le pourcentage de pixels appartenant à la classe « fusa » d'après les différents modèles a été comparé aux notations visuelles de référence (Tableau IV). Les sous-ensembles de longueurs d'onde retenus permettent d'identifier la fusariose sur épi entre 350°C/j et 500°C/j après inoculation. Ce résultat ne permet pas cependant de statuer sur la validation des sous-ensembles par manque de références stables pour les notations visuelles après 500°C/j.

Tableau IV : Coefficient de détermination (R^2) minimal entre les taux de surfaces fusariées obtenus par analyse spectrale et les notations visuelles de références en fonction du stade de développement de l'épi

Minimum determination coefficient (R^2) between fusariate surface rates obtained by spectral analysis and visual reference notations, according to the growth stage of the spike

R² min entre les experts et l'analyse spectrale	ADPP séquentielle	Covsel	ADPP non séquentielle 2λ	ADPP non séquentielle 3λ
350°C/j après inoculation -- 155 épis	0,9	0,89	0,87	0,89
400°C/j après inoculation -- 265 épis	0,89	0,88	0,9	0,88
450°C/j après inoculation -- 126 épis	0,88	0,87	0,84	0,87
500°C/j après inoculation -- 76 épis	0,94	0,94	0,92	0,94
550°C/j après inoculation -- 26 épis	0,65	0,62	0,5	0,64

DISCUSSION

Dans la plage spectrale 400nm-1000nm considérée dans cette étude, il est possible de distinguer la signature spectrale d'un épi sain et d'un épi fusarié. Les longueurs d'ondes les plus discriminantes pour la fusariose de l'épi ont été sélectionnées. Elles reflètent la variation de teneur en chlorophylle et en eau entre les zones saines et fusariées. Les longueurs d'ondes retenues permettent de quantifier la fusariose de l'épi entre 350°C/j et 500°C/j après inoculation. Elles semblent également indépendantes des effets années et environnement. La robustesse des longueurs d'ondes sélectionnées devra néanmoins être vérifiée sur des années supplémentaires. De plus, comme la résolution des caméras multispectrales est moins élevée que celle des caméras hyperspectrales, il sera nécessaire d'identifier quel est l'intervalle autour des longueurs d'ondes sélectionnées pour lequel la quantification de la fusariose de l'épi est encore possible. Enfin, les acquisitions hyperspectrales ont été effectuées en laboratoire dans un environnement contrôlé. En vue du passage au champ, un dispositif d'acquisition devra être mis en place pour standardiser les acquisitions quel que soit les conditions météorologiques. Ces travaux seront menés dans le cadre du prochain programme de recherche FSOV Fus'eye.

CONCLUSION

Dans le cadre du projet de recherche Ecophyto IRIGAM, 2015-2017, le GEVES en collaboration avec l'INRA de Clermont Ferrand, a réussi à identifier des sous-ensembles de longueurs d'onde permettant la détection et la quantification des symptômes de fusariose de l'épis sur épis de blé tendre, à partir d'épis récoltés au champ, pendant deux années sur deux sites (Faure *et al.*, 2018). L'étude des longueurs d'ondes entre 400 nm et 1000 nm a permis de détecter de façon fiable la fusariose de l'épi sur blé tendre. Une ADPP séquentielle et non séquentielle ainsi que la méthode CovSel ont permis d'identifier quatre sous-ensembles de 2 à 5 longueurs d'ondes pour différencier la signature spectrale entre un épi sain et un épi fusarié.

L'application des sous-ensembles retenus a permis de quantifier la fusariose de l'épi entre 350°C/j et 500°C/j. Le taux de surface fusariée obtenu par analyse spectrale est fortement corrélé aux notations visuelles de référence, avec un coefficient de détermination R^2 supérieur à 0.86. Les effets année et environnement n'ont pas affecté les longueurs d'ondes identifiées comme discriminantes. Cette étude se poursuit en 2018 avec une troisième année d'étude afin de renforcer la robustesse des conclusions.

Les innovations technologiques mises en place lors de ce projet pourront non seulement être utilisées chez le blé tendre mais également chez d'autres espèces.

La suite du programme consistera à transférer les longueurs d'ondes retenues dans une caméra multispectrale pour quantifier directement au champ la fusariose sur les épis. Les images multispectrales étant beaucoup moins volumineuses que les images hyperspectrales, la manipulation des images sera facilitée. Cet objectif sera mené dans le cadre du nouveau programme de recherche FSOV Fus'eye qui démarrera fin 2018.

L'enjeu du projet Fus'eye sera donc de développer des outils de phénotypage fiables, non destructifs, rapides et faciles à manier pour favoriser le développement de variétés de céréales

résistantes à la fusariose limitant ainsi le risque mycotoxique au champ pour le blé tendre, le blé dur et le triticale.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier particulièrement Pierre Roumet et Martin Ecartot pour leur accueil dans le laboratoire INRA AGAP et pour l'utilisation de la caméra hyperspectrale. Un grand merci à Dominique Bertrand pour l'utilisation du package Saisir dans Matlab et à sa disponibilité. Merci également à l'expertise visuelle de Gilberte Bonnet au GEVES.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bauriegel E & Herppich W 2014. Hyperspectral and Chlorophyll Fluorescence Imaging for Early Detection of Plant Diseases, with Special Reference to Fusarium spec. Infections on Wheat. *Agriculture* 4:32-57.
2. Bossua J., Géa Ch., Jones G., Truchetet F. 2009. Wavelet transform to discriminate between crop and weed in perspective agronomic images I, *Science Direct computers and electronics in agriculture* 65 (2009) 133-143.
3. Bouguennec A., Tourvieille de Labrouhe D., Serre F., Masson E., Grignon G., Hourcade-Marcolla D., Valade R., Lonnet P. 2015. Renforcer les résistances du triticale à l'oïdium et à la fusariose par l'intégration de leviers génétiques et agronomiques. *Innovations Agronomiques* 50, 171
4. Cadot V. and Maigniel J.-P., 2013. Testing varieties at GEVES for resistance to Fusarium head blight on cereals: A way to improve genetic progress in the French Catalogue and to reduce the use of pesticides. In Book of abstracts of 12th European Fusarium Seminar, 12-16 May, Bordeaux (France), p. 99.
5. Cadot V., Vadaine R., Demilly D., Maigniel J.-P., 2015 - Multispectral camera and imaging: a new tool for assessment of wheat resistance to Fusarium graminearum and preliminary study for assessment of DON content. In Book of abstracts of 13th European Fusarium Seminar, 10-14 May, Martina Franca (Italy), p. 160.
6. Cadot V., Patricia Lem P., Faure M. Galon C., Baldwin T., du Cheyron P., Dehais N., Maigniel J.P., 2017. Comparison of Multispectral imaging and Near infrared Reflectance Spectroscopy methods for phenotyping resistance of cereals to Fusarium Head Blight (FHB) and Deoxynivalenol (DON). The 12th EFPP-10th SFP conference in 2017, Dunkerque, 29 May-2nd June 2017.
7. Chen B., Wang K., Li S., Wang J., Bai J., Xiao C., Lai J. (2008). Spectrum characteristics of cotton canopy infected with verticillium wilt and inversion of severity level. In IFIP International Federation for Information Processing, Volume 259; *Computer and Computing Technologies in Agriculture*, vol. 2, Daoliang Li, Springer, Boston, pp. 1169-1180.
8. Chtioui Y. 1997 Reconnaissance automatique des semences par vision artificielle basée sur des approches statistiques et connexionnistes. Thèse de Doctorat, 230p
9. Delalieux S., van Aardt J., Keulemans W., Schrevens E., Coppin P. 2007. Detection of biotic stress (*Venturia inaequalis*) in apple trees using hyperspectral data: Non-parametric statistical approaches and physiological implications. *European Journal of Agronomy* 27 (1), 130-143.
10. Faure M., Serre F., Roche S., Maigniel J.P., Saintenac C., Cadot V., 2018. Identification des longueurs d'onde pour quantifier la fusariose des épis sur blé tendre par imagerie hyperspectrale. Colloque Phloème, 1^{ères} biennales de l'innovation céréalières, 24-25 janvier 2018.
11. Faure M., Serre F., Lasserre-Zuber P., Roche S., Maigniel J.P., Saintenac C., Cadot V., 2018. Two approaches for the detection and quantification of Fusarium Head Blight on common wheat: hyperspectral imaging on ears and multispectral imaging on kernels. 14th European Fusarium Seminar. Austria, Tulln. 8-11 April, 2018.
12. Jaillais B, Roumet P, Pinson-Gadais L, Bertrand D. 2015. Detection of Fusarium head blight contamination in wheat kernels by multivariate imaging. *Food Control* 54:250-258.
13. Rabatel G., Al Makdessi N., Ecartot M., Roumet P., 2017. Spectral correction method for multi-scattering effects in close range hyperspectral imagery of vegetation scenes: application to nitrogen content assessment in wheat. Eur. Conf. on Precision Agric. Edinburgh 16-20 Jul.

14. Serre F., Faure M., Abadi M., Desray P., Roche S., Joannin M., Vinot M., Petit S., Tourvieille de Labrouhe D., 2015. Phénotypage au champ des céréales pour la fusariose de l'épi (FDK) par analyse automatique d'image. 11^e Conf. Int. sur les maladies des plantes. Tours (7-9 décembre).
15. Vigneau N., Ecartot M., Rabatel G., Roumet P. 2011. Potential of field hyperspectral imaging as a non-destructive method to assess leaf nitrogen content in Wheat. *Field Crops Research*,122(1):25-31.
16. Williams P.J., P. Geladi, T.J. Britz, and M. Manley 2012. Investigation of fungal development in maize kernels using NIR hyperspectral imaging and multivariate data analysis. *J. Cereal Sci.* 55 272-278.