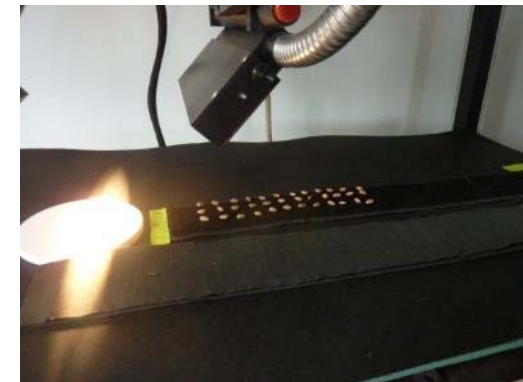


Exemples d'application de l'analyse d'images aux semences

Cadot Valérie, Faure Marlène

valerie.cadot@geves.fr



Les missions du GEVES

Expertise et recherche méthodologique



Sur les nouvelles variétés végétales

En vue de :

- **L'inscription** au Catalogue Officiel français)
- de la **protection** juridique du droit des obtenteurs



Sur les semences

Appui à la filière semences (notamment en vue de la **certification** des semences)

Le GEVES étant organisé en

3 secteurs :

Le **Secteur d'Etude des Variétés (SEV)**

BioGEVES
(Biologie moléculaire)

La **Station Nationale d'Essais de Semences (SNES)**

Attendus de la recherche sur les nouveaux outils de phénotypage au GEVES

- **Dépasser les capacités humaines :**

Débit, précision, volume des données, non destructif, par des **méthodes automatisées utilisant l'imagerie, les mesures spectrales ou les capteurs physiques**

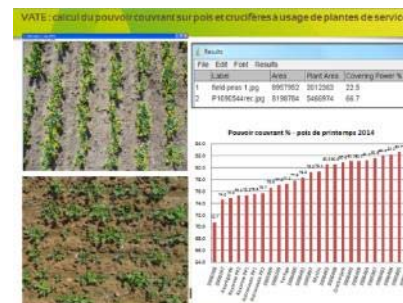
- **Valorisation**

- Intégration dans les méthodes et protocoles
- Nouvelles offres de prestation

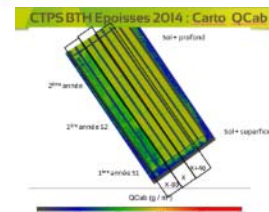
Attendus de la recherche sur le phénotypage au GEVES

● SEV :

- Imagerie numérique conventionnelle
 - Mesure automatique des organes
 - Pouvoir couvrant : nouveau trait
- Imagerie multispectrale et morphométriques : Videometer
 - Résistance variétale, ...
- Drones : Evaluation des potentialités en VATE



Videometer



● BIOGEVES :

- Chromatographie, spectrophotométrie, NIRS

● SNES en lien avec la plateforme Phenotic à Angers

- Germination et levée semences → Bancs de germination, Eloncam
- Analyses semences sèches → Tomographie RX, trieur optique, BD adventices Keepek

Bancs de germination



Eloncam

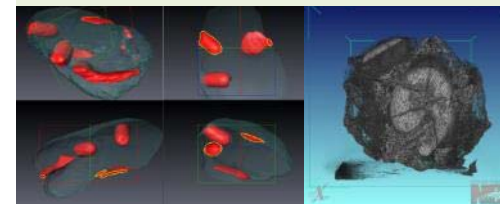


PHENOTIC
SEMENCES & PLANTES

Trieur optique



Tomographe



Tomographe

- Objectif :

- **Morphologie interne des semences en 3D** pour comprendre ou prédire des problèmes de **qualité physique et germinative de certains génotypes**

- Principe :

- Générer une image en 3D de la structure interne d'une semence à partir d'une grande série d'images radiographiques en 2D prises autour d'un seul axe de rotation .

- Accessibilité :

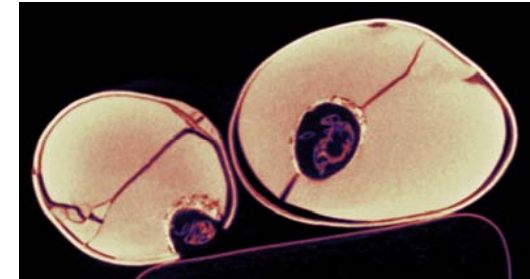
- Analyses sur plusieurs caractères pour plusieurs espèces, dans le cadre de projets de **recherches**, via la plateforme PHENOTIC ou en **prestation privée**.

- Contacts :

Laboratoire d'Analyses Physiques de la SNES

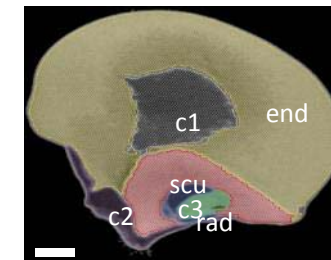
karima.boudehri@geves.fr ghassen.trigui@geves.fr

PEAMUST : **Résistance à la bruche**
% dégâts/semence sur pois, fève/ole

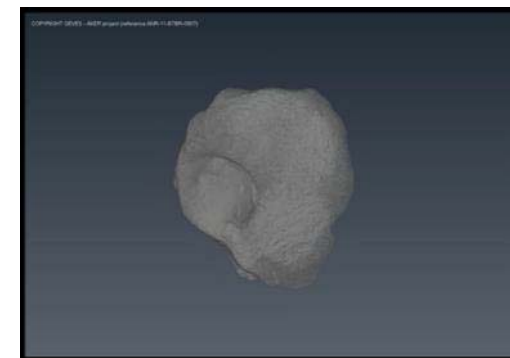


Maïs :

Mesures surfaces, volumes/organe



AKER : Betterave :
Morphologie interne



Résistance variétale aux bioagresseurs

- Phénotypage de la résistance variétale aux bioagresseurs, dans le cadre de l'inscription au catalogue, de la protection variétale et offre de prestation
- Etudes VATE : 128 bioagresseurs, dont 92 au champ

- Cas de la fusariose sur épis : essais inoculés

Estimation visuelle du % **épillets fusariés** sur **blé tendre, blé dur et triticale**

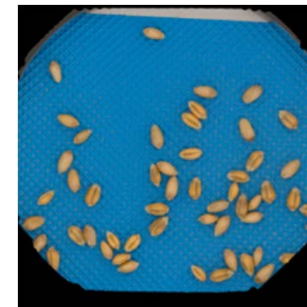
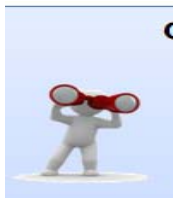
- Inconvénients :
 - Analyse subjective entre experts
 - Nécessite beaucoup d'expertise
 - Confusion si symptômes proches
 - Notation longue, plante à plante



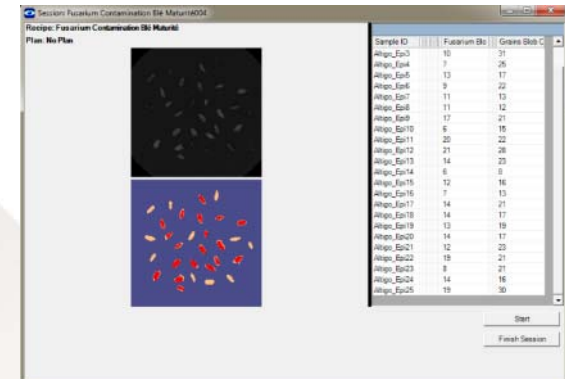
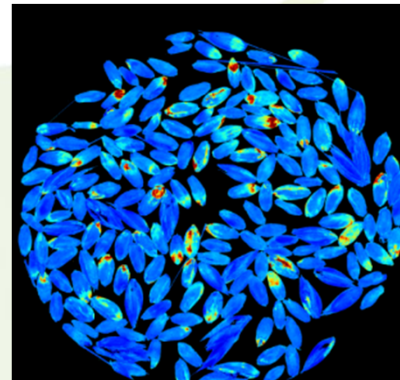
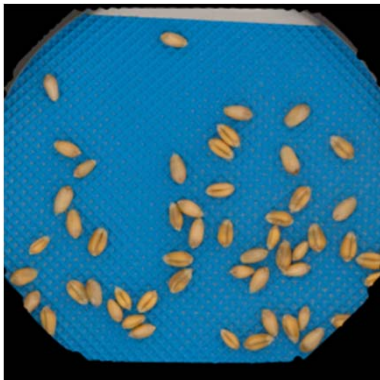
0 5 10 20 40 50 60 90 100

Objectif

Utiliser le traitement d'images pour automatiser le phénotypage de la résistance variétale aux bioagresseurs



A l'échelle du grain : en laboratoire avec le Videometer



GEVES

Groupe d'Étude et de contrôle
des Variétés Et des Semences

Exemples d'application de l'imagerie multispectrale :

1. Application en routine :

Fusariose sur grains de blé tendre

2. Programme de recherche FSOV:

Microdochium sur grains de blé tendre

3. Autres applications

Exemples d'application de l'imagerie multispectrale :

1. Application en routine :

Fusariose sur grains de blé tendre

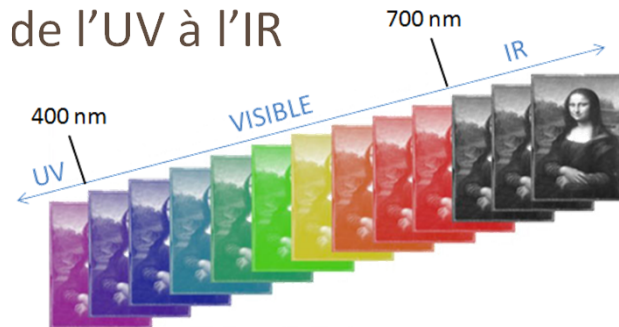
2. Programme de recherche FSOV:

Microdochium sur grains de blé tendre

3. Autres applications

PRÉSENTATION DU VIDEOMETER

- Image multi-spectrale : N bandes correspondant à N longueurs d'onde différentes de l'UV à l'IR

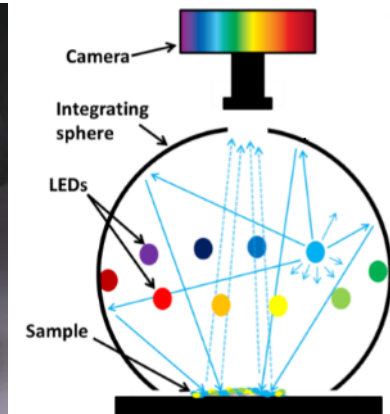


Plus discriminant qu'en RVB

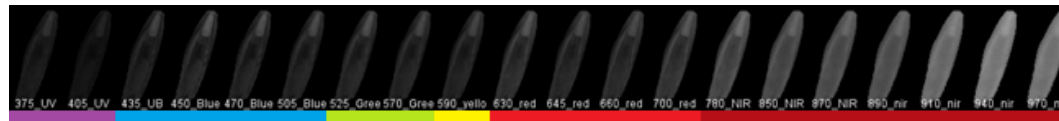
- Imageur multispectrale : Videometer Lab3

- Principe du Videometer : Eclairage de l'échantillon avec 20 LEDs de longueurs d'ondes différentes de 375nm à 970nm

- 1 acquisition \Leftrightarrow 20 images



RGB

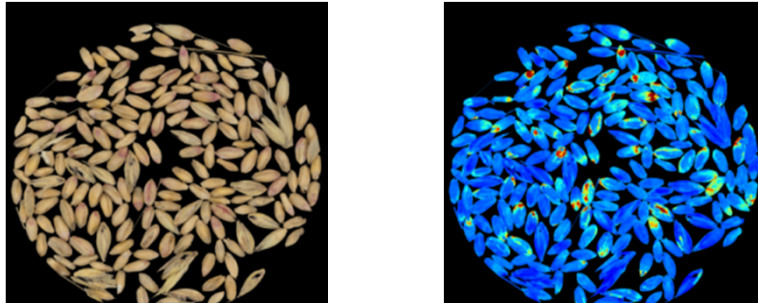


PRÉSENTATION DU VIDEOMETER

1. Acquisition des images multispectrales



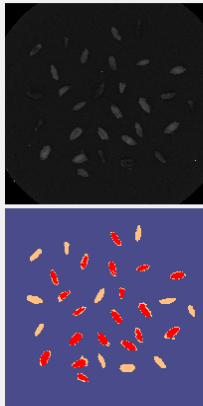
2. Classification des grains par analyse discriminante



- Utilisation de l'information spectrale
- Possibilité d'utiliser l'information morpho-métrique

3. Calcul du pourcentage de grains infectés

Session: Fusarium Contamination Blé Maturité004
Recipe: Fusarium Contamination Blé Maturité
Plan: No Plan



Sample ID	Fusarium Blo	Grains Blob C
Altigo_Epi3	10	31
Altigo_Epi4	7	25
Altigo_Epi5	13	17
Altigo_Epi6	9	22
Altigo_Epi7	11	13
Altigo_Epi8	11	12
Altigo_Epi9	17	21
Altigo_Epi10	6	15
Altigo_Epi11	20	22
Altigo_Epi12	21	28
Altigo_Epi13	14	23
Altigo_Epi14	6	8
Altigo_Epi15	12	16
Altigo_Epi16	7	13
Altigo_Epi17	14	21
Altigo_Epi18	14	17
Altigo_Epi19	13	19
Altigo_Epi20	14	17
Altigo_Epi21	12	23
Altigo_Epi22	19	21
Altigo_Epi23	8	21
Altigo_Epi24	14	16
Altigo_Epi25	19	30

Start
Finish Session

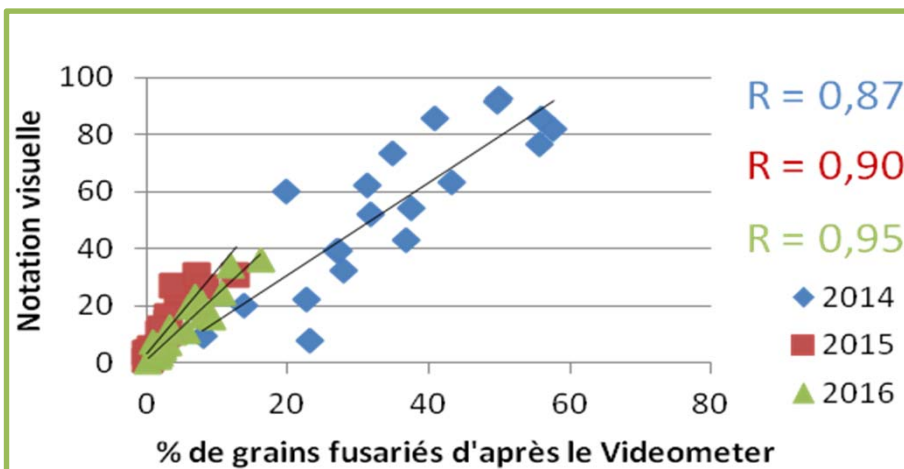
- Seuillage des pixels classés
- Exploitation des résultats avec Excel

Fusariose sur grains de blé tendre

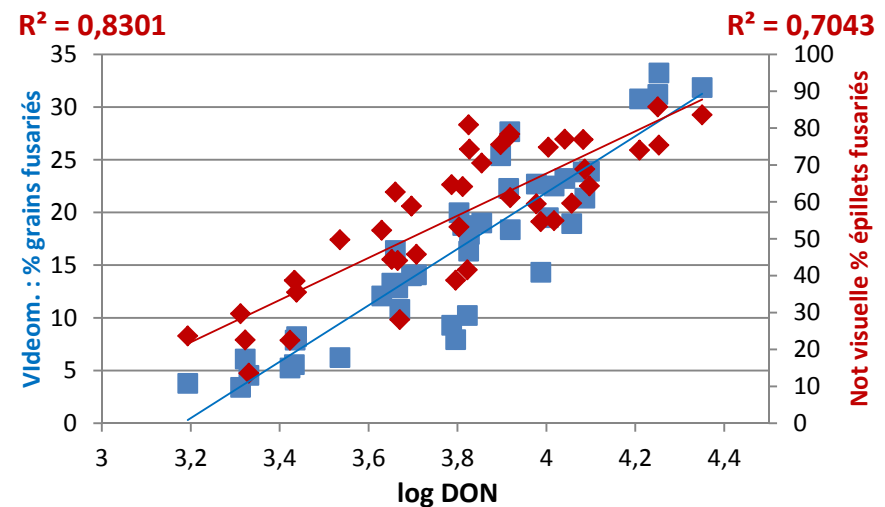
- **Objectif** : Classement des variétés suivant leur résistance à la Fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*)
- Développement d'un algorithme : ***Fusa Spectrale Blé tendre***^R 2013-2015
Evaluation du **pourcentage de grains fusariés**
- Différents facteurs étudiés :
 - Année 1 : stade (en végétation/à la récolte), organe (épi/grain)
 - Année 2 : facteur variétés sur les essais GEVES
 - Année 3 : facteurs année, variétés, autres sites CTPS en étude, en routine pour essais GEVES

Fusariose sur grains de blé tendre

- Fortes corrélations du % grains fusariés par imagerie multispectrale avec **DON** et **notations visuelles sur épis** en blé tendre
- Grains fusariés d'après le Videometer : meilleure estimation de la DON que le taux d'épillets fusariés par notation visuelle



Contamination avec cannes de maïs :
- Site CTPS GEVES Anjouère
- 3 années d'étude (2014, 2015 et 2016)



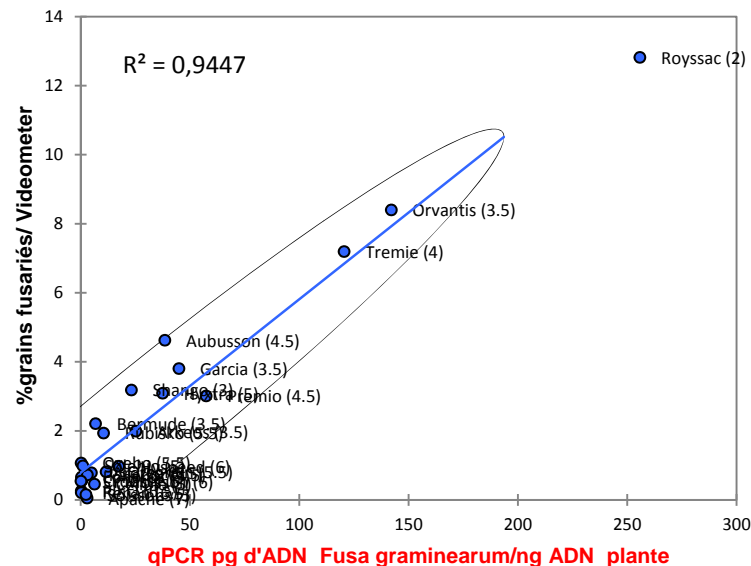
Contamination avec cannes de maïs :
- Site CTPS GEVES Anjouère
- 2014

Fusariose sur grains de blé tendre

- **Corrélations très élevées du % grains fusariés** par imagerie multispectrale avec **qPCR, DON**
- **Corrélation un peu moins élevée du % grains fusariés** avec les notations visuelles

Ex : Site GEVES Anjouère 2015, contaminé par cannes de maïs

%grain fusariés mesuré par imagerie multispectrale en fonction de la qPCR *Fusa. graminearum*



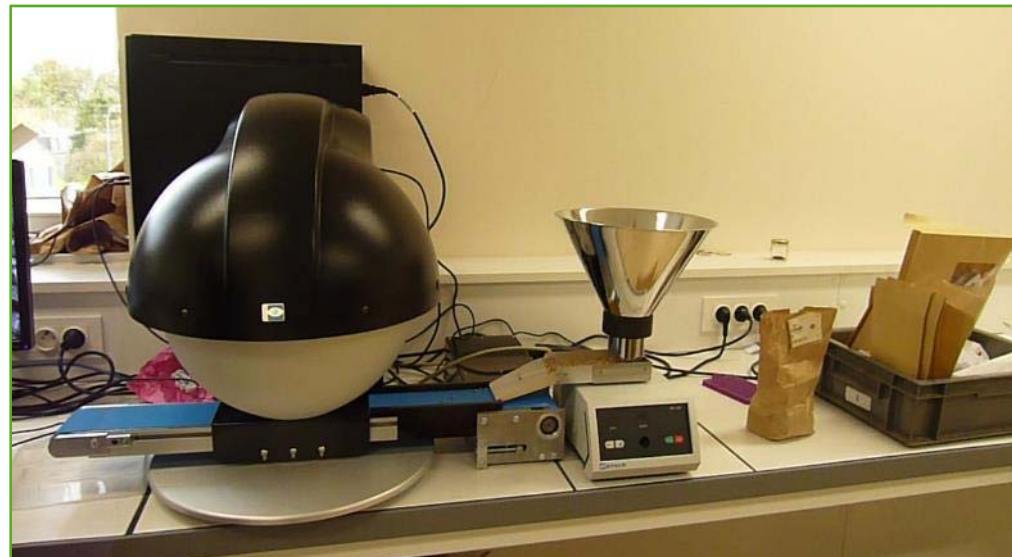
Matrice de corrélation (Pearson) :

Variables	% grains fusariés / Video	%épillets fusariés /Notation visuelle	DON/HPLC	qPCR Fusa gram.
% grains fusariés / Video	1	0.898	0.965	0.972
%épillets fusariés /Notation visuelle	0.898	1	0.867	0.802
DON/HPLC	0.965	0.867	1	0.959
qPCR Fusa gram	0.972	0.802	0.959	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0.05$

Fusariose sur grains de blé tendre

- **Utilisation en routine** pour classer la résistance variétale à *Fusarium graminearum* pour l'inscription au Catalogue **depuis 2015**.
- ➔ **Gain de temps pour les essais déjà récoltés :**
5min/1000 grains (6s pour 10cm) en utilisant le Videometer avec convoyeur
vs 15min / 25 épis (1000 grains) au champ à 3 notateurs



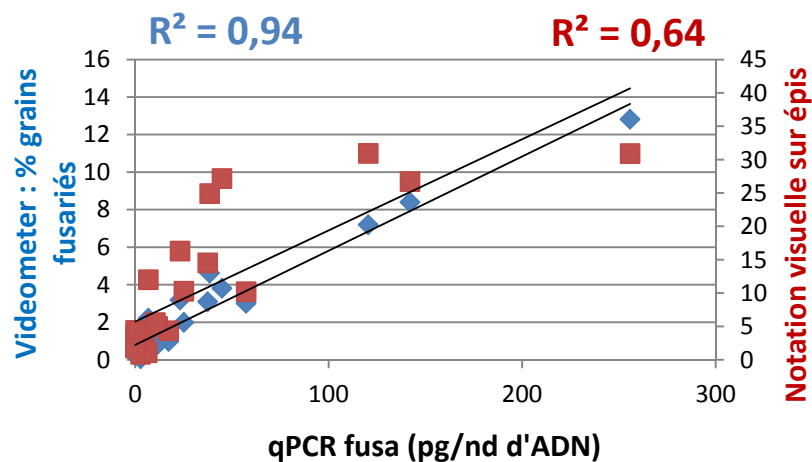
Fusariose sur grains de blé tendre

Etude de la spécificité :

Moins bonnes corrélations en présence d'un complexe Microdochium-Fusarium dans les essais à très forte pression Microdochium, ...

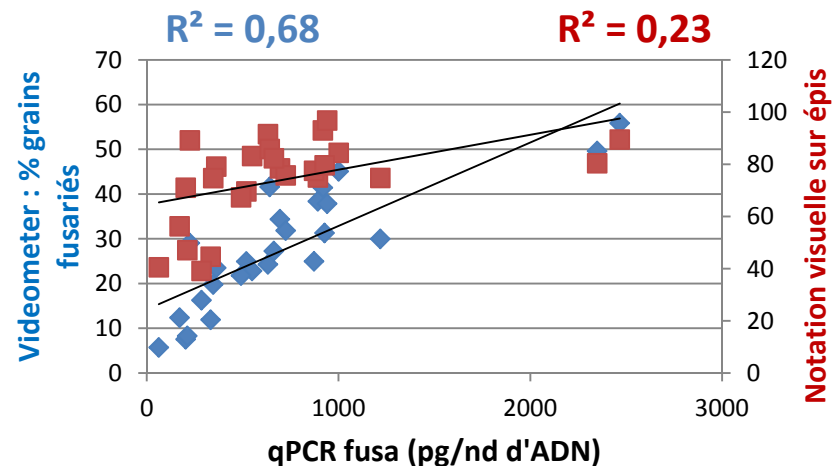
Essais avec Fusa seule

Ex : Essai CTPS de Anjouère 2015



Essais avec Fusa + Micro

Ex : Essai CTPS de Boigneville 2016



Légende :

Notation visuelle

Videometer

... mais meilleure corrélation de la qPCR avec le Videometer qu'avec les notations visuelles, en présence d'un complexe Microdochium-Fusarium

Exemples d'application de l'imagerie multispectrale :

1. Application en routine :

Fusariose sur grains de blé tendre

2. Programme de recherche FSOV:

Microdochium sur grains de blé tendre

3. Autres applications

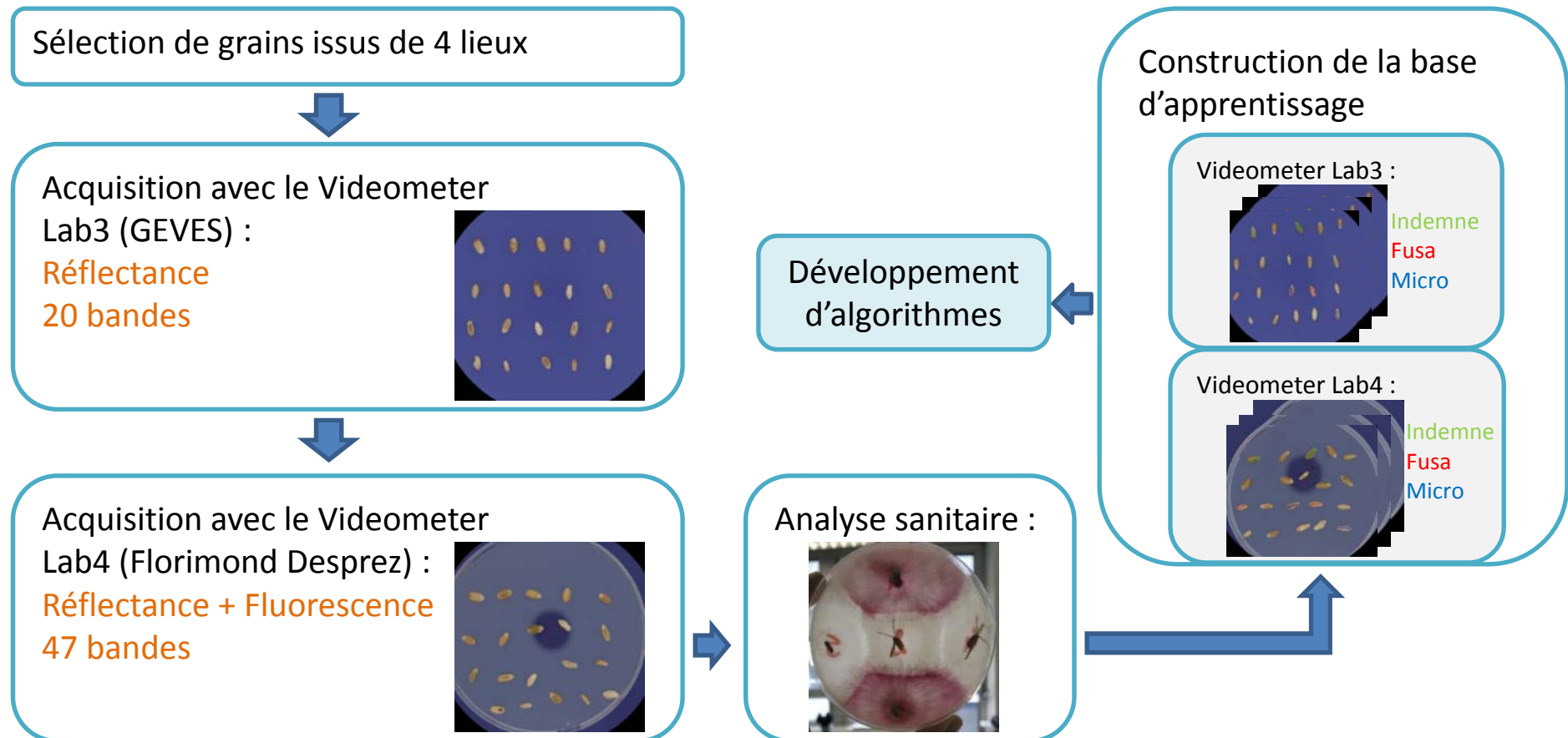
Projet FSOV 2014-17: MICRODOCHIUM

- Partenaires : UFS (Pilote), GEVES, Arvalis Institut du Végétal
- Objectif du WP3 : mettre au point un **test de résistance variétal à Microdochium** pour les sélectionneurs et l'inscription CTPS au Catalogue français

« Tester la capacité du Videometer à quantifier les grains avec symptômes de Microdochium et définir si une distinction peut être faite entre Microdochium spp. et Fusarium spp. »

Projet FSOV 2014-17: MICRODOCHIUM

- Mise en place d'une démarche pour créer un algorithme, méthode transférable à d'autres pathosystèmes :



Projet FSOV 2014-17 MICRODOCHIUM

- Résultats obtenus avec l'algorithme utilisant : **Réflectance + Fluorescence**

Classification en 3 classes : Indemne/Fusa/Micro

Réflectance + Fluorescence

Pourcentage :

		Algorithme		
		Indemne	Fusa	Micro
Analyses sanitaires	Indemne	69%	12%	19%
	Fusa	0%	57%	43%
	Micro	2%	26%	72%

% de bonne classification : **66,92**

Difficulté à différencier *Fusarium spp.*
de *Microdochium spp.*

Classification en 2 classes : Indemne/Fusa+Micro

Réflectance + Fluorescence

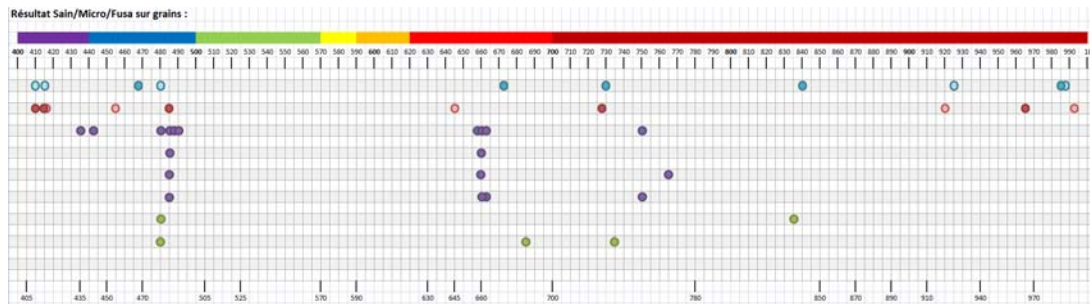
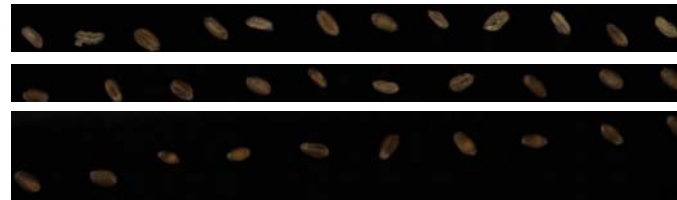
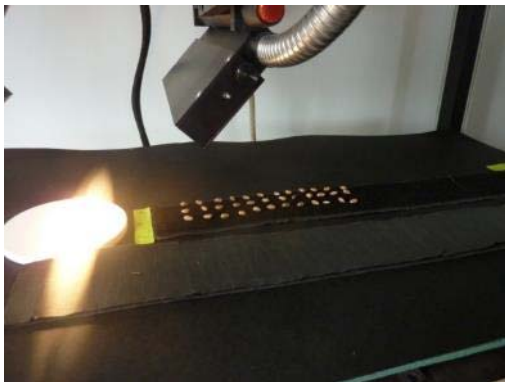
Pourcentage :

		Algorithme	
		Indemne	Micro + Fusa
Analyses sanitaires	Indemne	86%	14%
	Micro + Fusa	0%	100%

% de bonne classification : **95**

Recherche interne GEVES Microdochium

- **Objectif** : déterminer les longueurs d'onde qui permettent de distinguer la Fusariose du Microdochium spp. à l'aide d'une caméra hyperspectrale



Perspective 2017:

Si possible, ajout des leds correspondant aux longueurs d'onde manquantes dans le Videometer afin de différencier la fusa du micro, sur un nouveau Videometer.

Exemples d'application de l'imagerie multispectrale :

1. Application en routine :

Fusariose sur grains de blé tendre

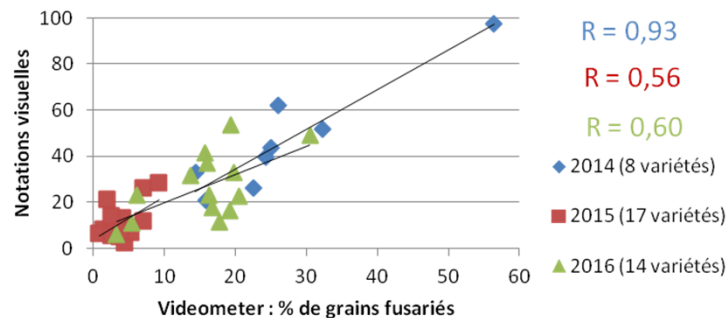
2. Programme de recherche FSOV:

Microdochium sur grains de blé tendre

3. Autres applications

Videometer : Fusariose sur blé dur et triticales

- **Blé dur** : algorithme en cours de développement



Premiers résultats :

- Essais site CTPS Anjouère
- 3 années d'étude (2014, 2015 et 2016)

- Corrélation Videometer/notation visuelle instable entre années :
 - Nécessité d'élargir la base d'apprentissage sur des essais multi-sites et pluriannuels
- **Triticale** : algorithme en cours de développement

NIRS : Fusariose sur grains

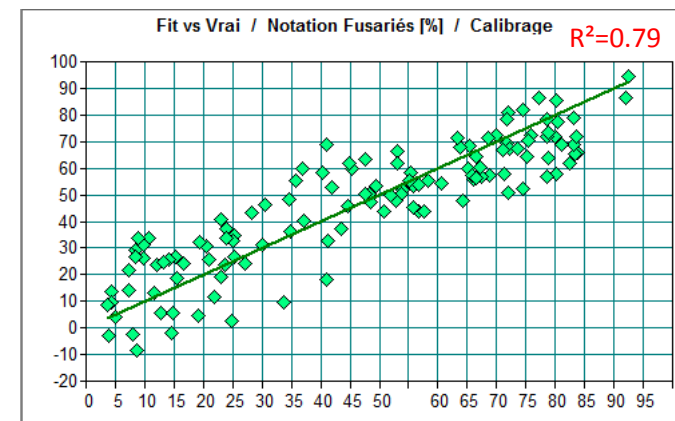
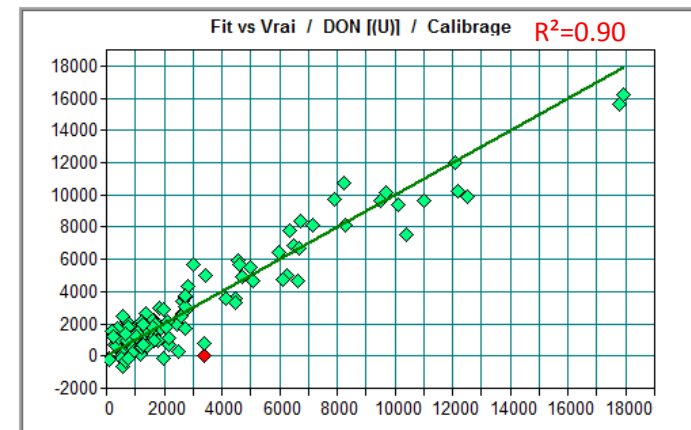
- **Blé tendre :**
 - Développement prometteur de calibration pour la fusariose **NIRS/notation visuelle et NIRS/DON sur 2 ans**
 - **A valider sur plus d'essais.**
- **Blé dur et triticale en cours**

Conséquences du passage en routine :

- Gain de temps: 30 sec à 1 min (max)/1000 grains
- Non destructif

Perspectives :

- Microdochium-Fusarium



A L'ÉCHELLE DU GRAIN : PERSPECTIVES

Perspectives :

Intégrer le NIRS sur des lignes robotisées de phénotypage post récolte ou en usage portatif?

950-1650nm.



MicroNIR™ OnSite

Spectromètre Proche IR portable et ergonomique



1600-2400nm.



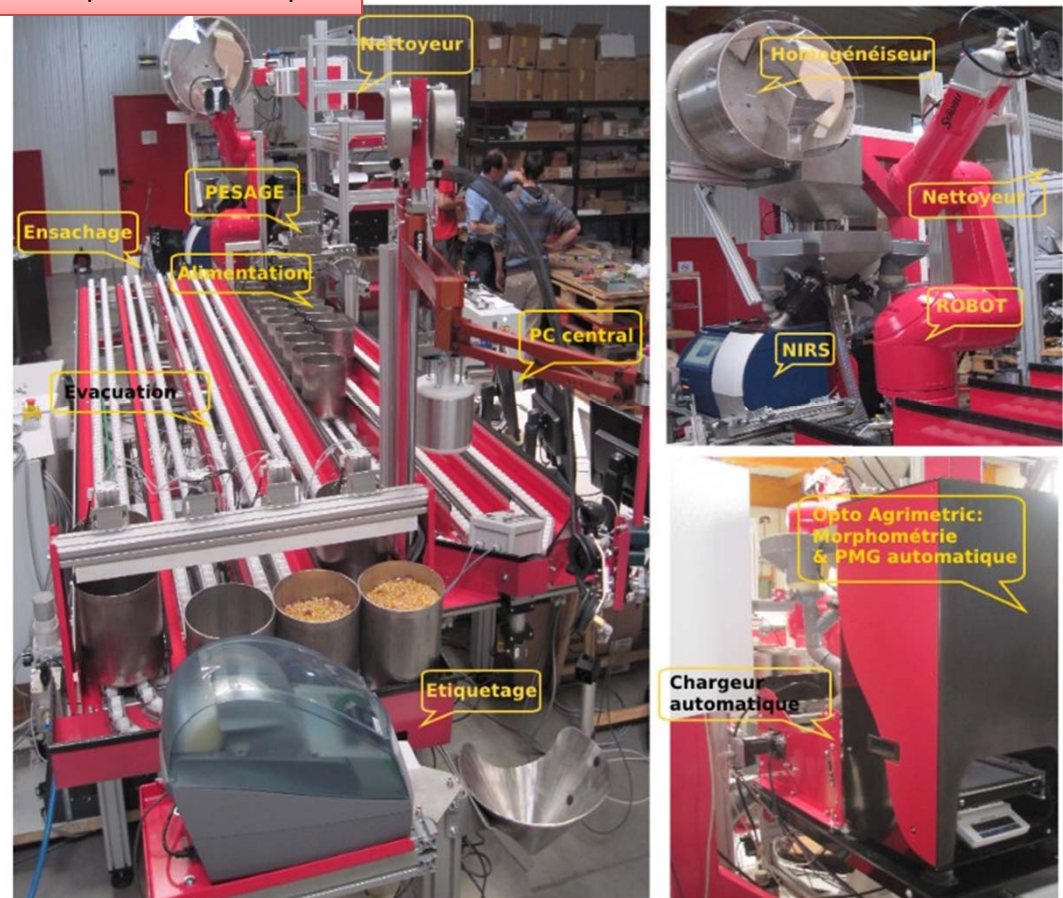
microPHAZIR GP

Avantages

- Analyse Proche IR en temps réel et non destructive
- Compact et ergonomique et robuste pour une utilisation pratique sur le terrain
- Alimenté et piloté par un tablet PC ou un ordinateur portable
- Interface d'utilisation intuitive

LIGNE ROBOTISEE DE PHENOTYPAGE POST-RECOLTE

INRA Montpellier : Seed raptor



A L'ÉCHELLE DU GRAIN : PERSPECTIVES

Phénotypage à l'échelle du grain avec le Videometer

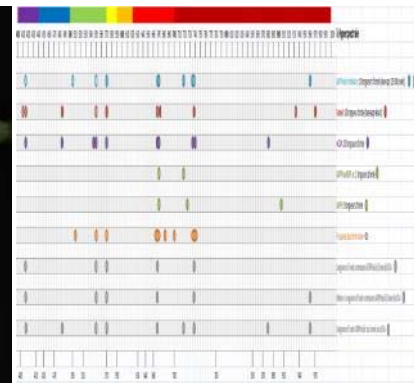
Perspectives :

- Prestation de services
- Passage en routine pour l'ensemble des essais CTPS de blé tendre, de blé dur et de triticales

Conséquences lors du passage en routine :

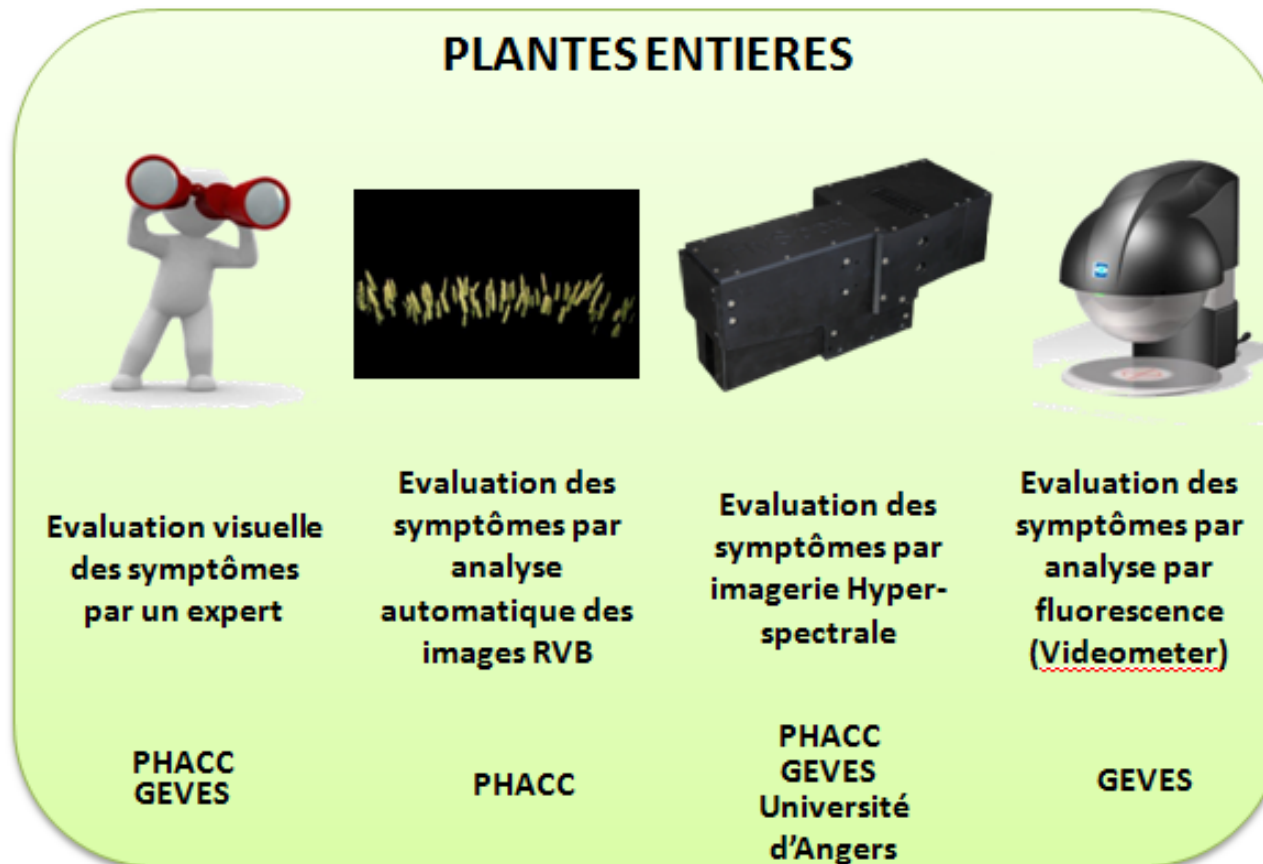
- évaluation d'un nouveau caractère : Résistance au *Microdochium spp.*

A l'échelle de l'épi : du labo au champ



Projet Ecophyto IRIGAM: 2016-2017

- **Objectif** : Comparaison et développement de technologies de phénotypage pour évaluer les symptômes liés au FHB



Ecophyto IRIGAM: 2016-2017

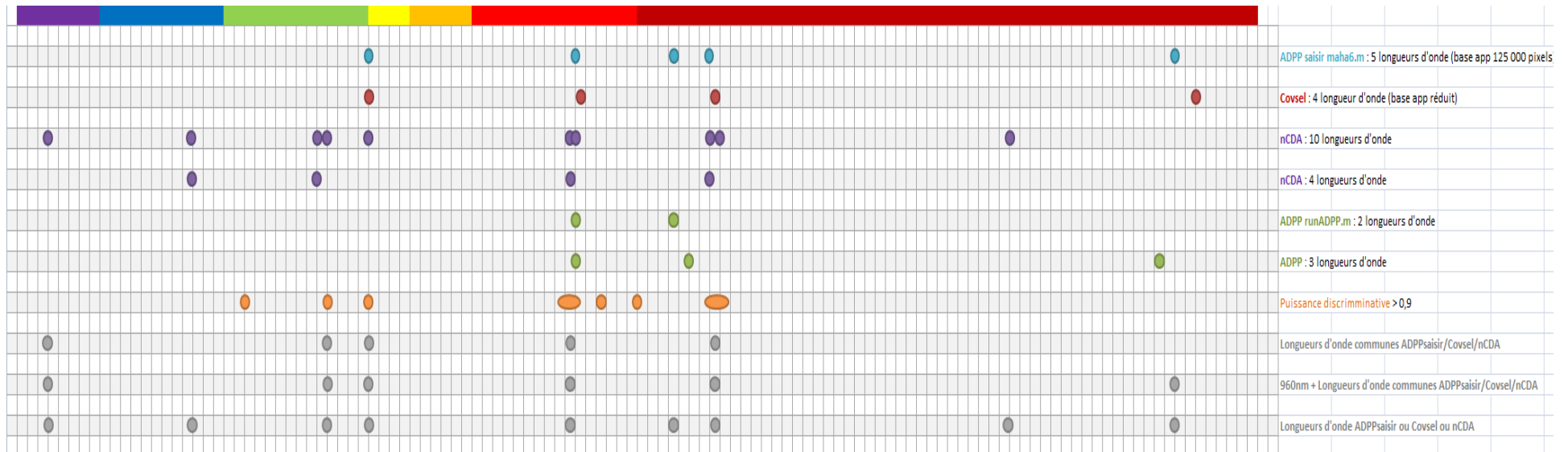
- **Objectif** : en laboratoire et à l'échelle de l'épi, déterminer les longueurs d'onde les plus discriminantes pour la Fusariose à l'aide d'une **caméra hyperspectrale**



- **Caméra hyperspectrale** : NEO HySpex VNIR
216 bandes spectrales correspondant à 216 longueurs d'onde du visible et du proche infrarouge :
 $\lambda_{\min} = 400 \text{ nm}$, $\lambda_{\max} = 1000 \text{ nm}$
- Traitement des images hyperspectrales avec Matlab

Projet IRIGAM

- **Etape 1** : comparaison des différentes méthodes statistiques, basées sur des analyses multivariées, pour sélectionner les longueurs d'onde les plus discriminantes



Projet IRIGAM

- Validation des longueurs d'onde sélectionnées pour détecter la fusariose sur épi
- Pour chaque épis, double validation :
 - Comparaison de la zone fusa détectée visuellement et avec l'algorithme
 - Comparaison du pourcentage de la surface fusariée estimée visuellement et avec l'algorithme

Image initiale

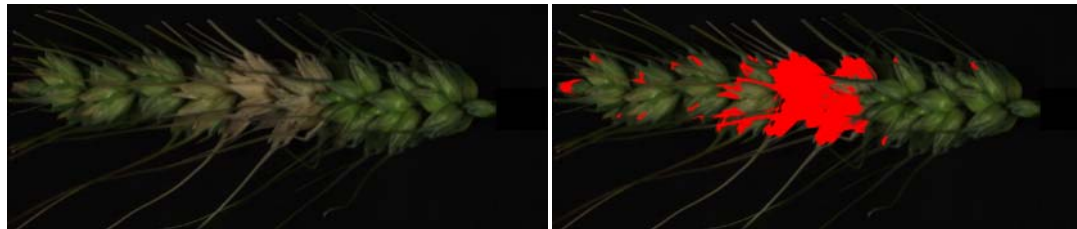


Image avec zone fusa détectée par l'algorithme

Image avec zone fusa détectée visuellement

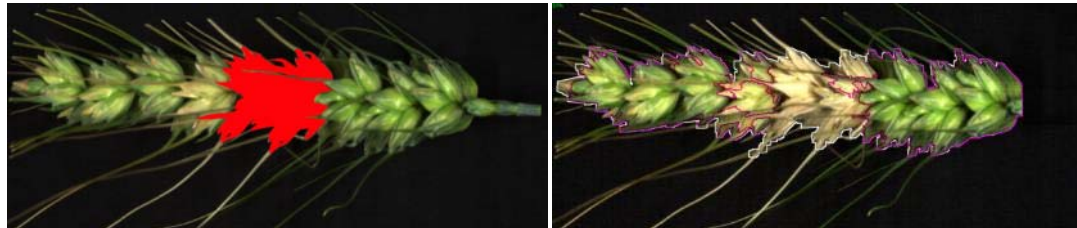


Image avec zone fusa détectée par Image J

A L'ÉCHELLE DE L'ÉPI : PERSPECTIVES

Phénotypage à l'échelle de l'épi : passage au champ

- Existence d'un système au champ avec imagerie RVB développé à l'INRA de Clermont Ferrand



Perspectives : Passage au champ avec **caméra multispectrale** à partir des longueurs d'ondes sélectionnées en laboratoire pour différencier Fusarium, de Microdochium

CONCLUSION ET POINTS D'ATTENTION PHÉNOTYPAGE GEVES

- Nécessité de développer des compétences sur les nouveaux outils : Pas d'équipement totalement clé en main pour nos activités
- Adapter les protocoles expérimentaux, Faire évoluer la réglementation
- Augmenter les transversalités thématiques (chimométrie, analyse d'image avec imageJ)
- Alternatives : Réduire l'activité champ : transfert au labo (Videometer), développer le génotypage...
- Stockage des données

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

