

L'objectif de cette étude est de développer une nouvelle méthode de phénotypage, plus rapide et fiable que la notation visuelle au champ pour évaluer la résistance variétale à la fusariose des épis, dans le cadre des épreuves de Valeur Agronomique, Technologique et Environnementale (VATE) pour l'inscription des variétés de blé au Catalogue français.

Une nouvelle méthode basée sur l'imagerie multispectrale a été testée par le GEVES, en développant des algorithmes spécifiques au blé tendre et au blé dur pour quantifier le taux de grains fusariés à *Fusarium graminearum* & *F. culmorum*. Ces résultats ont été comparés avec les notations visuelles sur épislets et les teneurs en Déoxynivalenol (DON).

PRINCIPE DE L'IMAGERIE MULTISPECTRALE

Base de l'imagerie multispectrale

- Jusqu'à 20 longueurs d'onde différentes de l'UV au proche IR (375 à 970 nm)
- Plus discriminant que les images RVB

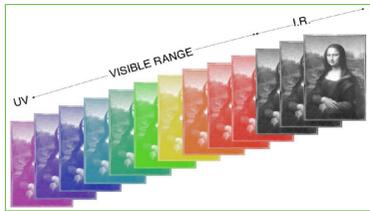


Image acquisition on conveyor belt

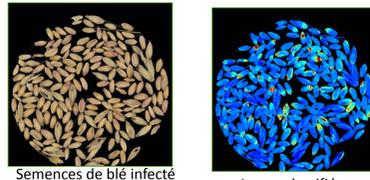
- 2056x2056 pixels par bande ; 45 µm/pixel
- 5 minutes pour 1000 grains



VideometerLab® et bande convoyeuse

Classification des zones infectées par *Fusarium*

Basée sur l'analyse discriminante entre grains infectés (jaune/rouge) et non infectés (bleu)

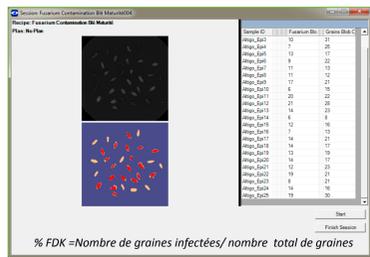


Semences de blé infecté par *F. graminearum*

Image classifiée

Quantification des grains fusariés *Fusarium Damaged Kernels* (FDK)

- Seuillage des pixels classifiés
- Résultats exploités sur Excel



% FDK = Nombre de grains infectés / nombre total de grains

MATERIEL ET METHODES

Etape 1 : Analyse détaillée pour les blé tendre d'hiver et les blés durs

5 facteurs testés

- 1. Organes**
 1. Graines
 2. Epillets
- 2. Dates de notation**
 1. Z75 à Z85
 2. Maturité
- 3. Méthodes**
 1. Comptage visuel
 2. Imagerie multispectrale
 3. qPCR
- 4. Battage des grains**
 1. Mélange de 25 épis
 2. 25 épis individuels
- 5. Support des grains**
 1. Boîte de Petri
 2. Bande convoyeuse

- Essais au champ : GEVES Anjouère ; 2 répétitions de 25 épis
- Blé tendre (2013) : inoculation par pulvérisation de *F. graminearum* & *F. culmorum* au stade mi-floraison (Z65), c=2.10⁵ spores/ml, sur 5 témoins CTPS de même précocité
- Blé dur (2014) : contamination par cannes de maïs, sur 10 variétés, incluant 4 témoins CTPS.
- Mesures:
 1. Comptage visuel d'épillets fusariés à 360°C jour post inoculation (jpi) pour le blé tendre et 500°C jour post floraison pour le blé dur
 2. %FDK par imagerie multispectrale sur grains récoltés à maturité,
 3. Quantification de la masse fongique par qPCR*, 1000 grains/variété, avec une sonde spécifique TaqMan® de *F. graminearum*, sur grains broyés (seulement en blé tendre). * Source Arvalis Institut du Végétal

Etape 2: Analyse à grande échelle pour le blé tendre

2 facteurs testés

- Essais au champ : GEVES Anjouère 2014 ; 3 répétitions de 25 épis
- 73 variétés, dont 22 témoins de résistance :
- Contamination par cannes de maïs
- Estimation visuelle sur épislets à 600°C post floraison et par imagerie multispectrale sur grains à maturité
- Teneurs en DON* mesurées par HPLC/MS sur 41 variétés (inscrites+témoins) parmi les 73. * Source Arvalis Institut du Végétal - Capinov

- 1. Résistance variétale**
- 2. Dates de récolte**
 1. Par groupe de précocité
 2. A la date de maturité de la variété la plus tardive

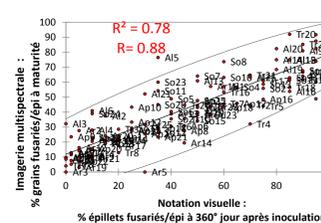
RESULTATS : Corrélations entre notations visuelles et imagerie multispectrale

1. Blé tendre

Année 1 (2013): Analyse détaillée des corrélations entre 5 facteurs

1. Organes, 2. Dates de notation, 3. Méthodes de quantification, 4. échantillonnage des grains, 5. Support des grains

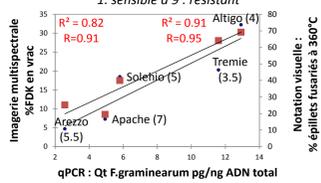
Fig 1 : Corrélation entre % grains fusariés par imagerie multispectrale et % d'épillets fusariés par notation visuelle à 360°C jour après floraison, Issus de 125 épis



Stade de mesure	Coefficient de corrélation de Pearson	Notation visuelle		Imagerie multispectrale			
		A 360°C jour après inoculation à floraison	A maturité	en boîte de Petri	Avec le convoyeur		
Notation visuelle	%	% épislets fusariés en vrac	1	0,95	0,87	0,88	0,92
		% grains fusariés par épi	1	0,85	0,85	0,95	0,93
Imagerie multispectrale	%	En boîte de Petri : % grains fusariés par épi		1	0,89	0,87	0,92
		Avec le convoyeur : % grains fusariés en vrac			1	0,85	0,98

Tableau 1 : Bilan des corrélations entre les notations visuelles et l'imagerie multispectrale pour évaluer la résistance à la fusariose

Fig 2 : Relation entre la masse fongique et les taux de grains et épislets fusariés

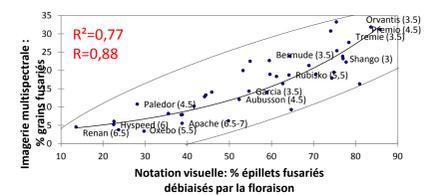


□ Les notations visuelles sur épislets (résistance types I+II), sur 125 épis de variétés de même précocité, se sont révélées significativement corrélées avec le comptage visuel de grains fusariés (résistance type III), aussi bien pour un même stade en végétation (R=0.95), qu'au stade récolte à maturité (R=0.87). Les algorithmes développés par le GEVES pour quantifier le taux de grains fusariés à maturité par imagerie multispectrale ont révélé des corrélations élevées avec les notations visuelles (R>=0.8) : en boîtes de Petri ou avec le convoyeur de grains, pour des grains issus d'épis individuels ou en vrac.

□ Les analyses qPCR ciblant *F. graminearum* ont conforté la validation de cet algorithme, avec une forte corrélation avec l'imagerie multispectrale (R=0.91), ainsi qu'avec les notations visuelles (R=0.95).

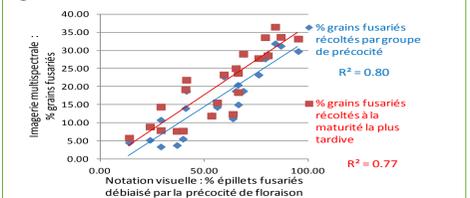
Année 2 (2014) : Etude des facteurs à grande échelle : Variétés et Dates de récolte

Fig 3 : Corrélation entre le %FDK par imagerie multispectrale et % épislets fusariés estimé par notation visuelle



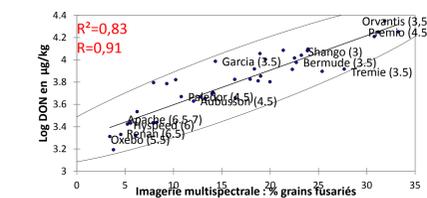
Le classement de la résistance variétale établi par le taux de grains fusariés à l'aide de l'imagerie multispectrale est fortement corrélé à celui obtenu par l'estimation visuelle du taux d'épillets fusariés.

Fig 4 : Effet de la date de récolte sur le pourcentage de grains fusariés en blé tendre sur les témoins CTPS



Pas d'effet significatif de la date de récolte sur le rang de la résistance variétale : en récoltant par groupe de précocité ou en se basant sur la date de maturité de la variété la plus tardive.

Fig 5 : Corrélation entre les teneurs en DON (log) et le taux de grains fusariés mesurés par imagerie multispectrale



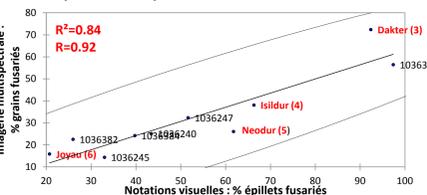
□ La teneur en DON (résistance type V) est mieux corrélée avec le % de grains fusariés (résistance type III), avec R= 0.92 qu'avec le % d'épillets fusariés (résistance types I+II), avec R=0.83.

□ Ces analyses vont se poursuivre sur les futures inscriptions en blé tendre.

2. Blé dur

Analyse détaillée sur 10 cultivars (2014)

Fig 6 : Corrélation entre le %FDK par imagerie multispectrale et % épislets fusariés estimé par notation visuelle (10 cultivars)



□ Un nouvel algorithme a été spécifiquement développé pour le blé dur.

□ Une forte corrélation a été trouvée (R=0.92) entre notations visuelles et imagerie multispectrale. Ce résultat devra être confirmé sur un plus grand panel de variétés

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

□ Pour le blé tendre, des résultats satisfaisants ont été obtenus en utilisant l'imagerie multispectrale couplé au convoyeur avec récolte des grains en vrac pour évaluer la résistance variétale à *Fusarium graminearum* et *culmorum*. L'algorithme Fusa spectral blé tendre, développé par le GEVES a été déposé auprès de l'Agence pour la Protection des Programmes.

□ Cette méthode par imagerie multispectrale a commencé à être utilisée en routine dès 2015 pour les épreuves d'inscription CTPS et pourra aussi être proposée comme services à la filière semences.

□ De bonnes prédictions du classement de la teneur en DON a également été obtenue en mesurant le %FDK par imagerie multispectrale, mais ces mesures devront être confirmées sur les prochaines variétés inscrites au CTPS.

□ Pour le blé dur, des résultats prometteurs ont été obtenus sur 10 cultivars, avec une corrélation élevée entre notation visuelle et imagerie multispectrale. De nouvelles études sur un plus grand panel de variétés sont en cours pour ajuster l'algorithme.

□ De nouvelles recherches sont aussi planifiées sur d'autres espèces de céréales : Triticale,...

□ Un programme de recherche FSOV vient de démarrer pour développer un algorithme par imagerie multispectrale quantifiant le taux de grains avec du *Microdochium* spp et visant si possible à les différencier de *Fusarium graminearum*.