



HAL
open science

Caractérisation de la dynamique spatio-temporelle de processus complexe chez le blé par spectroscopie proche infra-rouge et imagerie hyperspectrale

Héloïse Villesseche

► **To cite this version:**

Héloïse Villesseche. Caractérisation de la dynamique spatio-temporelle de processus complexe chez le blé par spectroscopie proche infra-rouge et imagerie hyperspectrale. Génie des procédés. Montpellier SupAgro, 2023. Français. NNT : 2023NSAM0002 . tel-04449399

HAL Id: tel-04449399

<https://theses.hal.science/tel-04449399>

Submitted on 9 Feb 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'INSTITUT AGRO MONTPELLIER ET DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Génie des procédés

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau
Portée par

Unité de recherche UMR AGAP / ITAP

Caractérisation de la dynamique spatio-temporelle de processus complexes chez le blé par spectroscopie proche infra-rouge et imagerie hyperspectrale

Présentée par Héloïse VILLESSECHE
Le 24 janvier 2023

Sous la direction de Ryad BENDOULA

Devant le jury composé de

Vincent BAETEN Centre Wallon de recherches agronomiques GEMBLOUX

Jacques LE GOUIS Directeur de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand

Cécile GOMEZ Chargée de Recherche LISAH, IRD

Cyril RUCKEBUSCH Professeur, Université de Lille

Véronique BELLON-MAUREL Ingénieur en chef des Ponts, des Eaux et des Forêts, INRAE, UMR
ITAP

Ryad BENDOULA Directeur de Recherche INRAE, UMR ITAP

Frédéric COINTAULT Maître de Conférences, Agrosup Dijon

Pierre ROUMET Chargé de Recherche INRAE, UMR AGAP

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Présidente du jury

Directeur de thèse

Invité

Invité



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

L'INSTITUT
agro Montpellier

Cette thèse a été co-encadrée par :

- Ryad BENDOULA, INRAE, UMR ITAP



- Pierre ROUMET, INRAE, UMR AGAP
- Martin ECARNOT, INRAE, UMR AGAP



- Elsa BALLINI, Institut Agro, UMR PHIM



- Nathalie GORRETTA, INRAE, DIAGONAL Direction Appui au Pilotage

Et co-financée par INRAE et DigitAg



Sommaire

SOMMAIRE	3
TABLE DES FIGURES	5
RÉSUMÉ	7
REMERCIEMENTS	8
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION ET ÉTAT DE L'ART	9
1. LE PHÉNOTYPAGE	9
1.1. <i>Contexte</i>	9
1.1.1. Quels champs d'applications pour le phénotypage ?	10
1.1.2. L'agriculture de précision	10
1.1.3. La sélection variétale	10
1.2. <i>Approches directes</i>	12
1.3. <i>Approches indirectes</i>	13
2. L'UTILISATION DE LA SPECTROSCOPIE	14
2.1. <i>La spectroscopie proche infra-rouge</i>	14
2.2. <i>L'imagerie hyperspectrale</i>	16
3. TRAITEMENT DES DONNÉES SPECTROSCOPIQUES	16
3.1. <i>Prise en compte de la dimension temporelle</i>	18
3.2. <i>Les approches développées en « batch process »</i>	19
3.2.1. Définitions	19
3.2.2. Méthodes développées	20
4. QUESTIONS SCIENTIFIQUES ET PRÉSENTATION DES CHAPITRES DE LA THÈSE	22
5. RÉFÉRENCES	24
CHAPITRE 2 : SÉNESCENCE ET MWPCA	37
1. INTRODUCTION	37
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	39
2.1. <i>Conditions expérimentales</i>	39
2.2. <i>Acquisitions des spectres</i>	40
2.3. <i>Stratégie supervisée : Développement d'étalonnages NIR et modélisation cinétique temporelle</i>	40
2.4. <i>Stratégie supervisée : Moving Window Principal Component Analysis (MWPCA)</i>	42
3. RÉSULTATS	45
3.1. <i>Données spectrales et processus de sénescence des feuilles</i>	45
3.2. <i>Modèles supervisés de prédiction du contenu foliaire en azote, chlorophylle et eau</i>	45
3.3. <i>Approche non supervisée (MWPCA) : Modifications spectrales au cours du processus de sénescence</i>	47
4. DISCUSSION	53
5. CONCLUSIONS	56
6. RÉFÉRENCES	57
CHAPITRE 3 : INFECTION PAR LA SEPTORIOSE	70
1. INTRODUCTION	70
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	75
2.1. <i>Matériel biologique</i>	75
2.2. <i>Identification des individus</i>	78
2.3. <i>Prélèvements ARN</i>	78
2.4. <i>Acquisition des images hyperspectrales</i>	79
2.5. <i>Extraction des feuilles</i>	81
2.6. <i>Feuilles analysées</i>	82
2.7. <i>Analyse des données par MWPCA</i>	82
2.8. <i>Analyse géostatistique : variogramme et indice de Cambardella</i>	84
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION	85
3.1. <i>Analyse des symptômes</i>	85

3.2.	<i>La MWPCA au niveau macroscopique</i>	86
3.2.1.	Dynamique spectrale temporelle des feuilles non inoculées.....	86
3.2.1.1.	Construction d'un espace de référence (étalonnage de la MWPCA).....	86
3.2.1.2.	Trajectoires temporelles de T ² des individus « Mocks »	86
3.2.2.	Comparaison des dynamiques spectrales temporelles moyennes des feuilles « Mocks » et « Inocs » ...	87
3.2.3.	Conclusion.....	89
3.3.	<i>Utilisation de l'information spatiale</i>	90
3.3.1.	Comparaison des T ² collectés à l'échelle de chaque pixel des feuilles « Mocks » et « Inocs »	90
3.3.2.	Représentation de l'évolution des feuilles à l'aide du T ²	93
3.3.3.	Evaluation de la structure spatiale au sein des feuilles par analyse variographique	96
3.3.4.	Analyse discriminante et différenciation des pixels « Mocs » et « Inocs »	101
3.3.5.	Conclusion.....	102
4.	RÉFÉRENCES.....	104
CONCLUSION		110
1.	LA MWPCA UNE MÉTHODE ISSUE DU « BATCH PROCESS » PEUT ÊTRE UTILISÉE POUR LE SUIVI TEMPOREL DE PROCESSUS COMPLEXES <i>IN PLANTA</i> ET ADAPTÉ À DES ANALYSES SPATIALES DE CES PROCESSUS.	110
2.	QUELS POINTS COMMUNS ENTRE LA SÉNESCENCE ET LE SUIVI DE LA MALADIE DANS NOTRE ANALYSE ?.....	112
3.	ANALYSES COMPLÉMENTAIRES ET PERSPECTIVES	113
4.	EST-IL POSSIBLE D'ENVISAGER UNE UTILISATION DE CETTE MÉTHODE SUR LE TERRAIN ?.....	115
5.	RÉFÉRENCES.....	116
ANNEXE 1		117
ANNEXE 2		140
ANNEXE 3		142
ANNEXE 4		146
ANNEXE 5		150

Table des figures

FIGURE 1 : NOMBRE D'ARTICLES PUBLIÉS ENTRE 2010 ET 2022 SUR LE PHÉNOTYPAGE (SOURCE : SCORPUS)	9
FIGURE 2 : FAISABILITÉ DE LA SÉLECTION SUR DIFFÉRENTS TRAIT EN FONCTION DE L'IMPACT DE LA MESURE (ROITSCH ET AL., 2019). RUE: RADIATION USE EFFICIENCY ; NUE: NITROGEN USE EFFICIENCY ; WUE: WATER USE EFFICIENCY.	12
FIGURE 3 : SCHÉMA PRÉSENTANT LA PROPAGATION DE LA LUMIÈRE EN RÉFLEXION SPÉCULAIRE	14
FIGURE 4 : CLASSIFICATION DES ALGORITHMES DE DÉTECTION DE CHANGEMENT (D'APRÈS JIANYA ET AL., 2008).....	19
FIGURE 5 : SCHÉMA DE PRÉSENTATION DES DIFFÉRENTES MÉTHODES DE SURVEILLANCE DES PROCESSUS BASÉES SUR LES DONNÉES (D'APRÈS GE ET AL., 2013).....	21
FIGURE 6 : PATRON GÉNÉRAL DE LA CINÉTIQUE TEMPORELLE OBSERVÉE POUR UN TRAIT FOLIAIRE ASSOCIÉ À LA SÉNESCENCE (EXEMPLE DU NDVI) DE LA FEUILLE DRAPEAU DE BLÉ DUR. L'AXE TEMPOREL (EN ABCISSE) EST NORMALISÉ POUR CHAQUE PLANTE : LE TEMPS T_0 CORRESPOND À LA DATE DE FLORAISON DE LA PLANTE ET LES TEMPÉRATURES MOYENNES QUOTIDIENNES (EN °C) SONT CUMULÉES JUSQU'À LA SÉNESCENCE COMPLÈTE DE LA FEUILLE (GDD). CHAQUE POINT EXPÉRIMENTAL EST INDIQUÉ PAR UN CERCLE ET LE PROCESSUS EST MODÉLISÉ PAR UNE COURBE À 4 PARAMÈTRES A, B, C, D. LES POINTS REMARQUABLES ET LES PARAMÈTRES GÉNÉRÉS PAR CET AJUSTEMENT NON LINÉAIRE CORRESPONDENT AUX VALEURS DU 1ER ET 2E PLATEAU (RESPECTIVEMENT (A + D) ET D) LA PENTE AINSI QUE L'AIRE SOUS LA COURBE (AUDPC). LES TEMPS T_0 , T_{INF} ET T_1 CORRESPONDENT RESPECTIVEMENT AUX TEMPS DE FIN DU 1ER PLATEAU, AU POINT D'INFLEXION, ET AU DÉBUT DU SECOND PLATEAU (ROUMET COM. PERS.).....	38
FIGURE 7 : ALGORITHME DE L'ACP À FENÊTRE MOBILE (MWPCA) (ADAPTÉ DE AWHANGBO ET AL. (2020))	43
FIGURE 8 : SPECTRES BRUTS (DE 400 À 2500 NM) D'UNE FEUILLE INDIVIDUELLE AU COURS DE LA SÉNESCENCE ; LES COURBES BLEUES LES PLUS FONCÉES CORRESPONDENT À LA PREMIÈRE DATE DE L'EXPÉRIENCE (FLORAISON) TANDIS QUE LES COURBES BLEUES LES PLUS CLAIRES INDIQUENT LE DERNIER JOUR DE L'EXPÉRIENCE (FIN DE LA SÉNESCENCE DE LA FEUILLE). LES FLÈCHES ROUGES INDIQUENT LES PRINCIPALES PLAGES SPECTRALES OÙ DES MODIFICATIONS DE SIGNAL INTERVIENNENT AU COURS DE LA SÉNESCENCE.....	45
FIGURE 9 : ÉVOLUTION TEMPORELLE DE LA TENEUR EN CHLOROPHYLLE (A), DE LA TENEUR EN AZOTE (B) ET DE LA TENEUR EN EAU (C) D'UNE FEUILLE INDIVIDUELLE DE LA FLORAISON À LA MATURITÉ. LES LIGNES EN POINTILLÉS JOIGNENT LES DIFFÉRENTS POINTS ISSUS DES PRÉDICTIONS NIRS DE CHAQUE COMPOSÉ BIOCHIMIQUE ; LES LIGNES PLEINES RÉSULTENT DE LA COURBE LOGISTIQUE MODÉLISÉE POUR CHAQUE TRAIT FOLIAIRE. LES POINTS ROUGES ET NOIRS CORRESPONDENT RESPECTIVEMENT AUX T_0 ET T_1 DE CHAQUE COMPOSÉ.	46
FIGURE 10 : NOMBRE DE PICS DE T^2 TROUVÉS DANS LA MWPCA EN FONCTION DE LA TAILLE DE LA FENÊTRE (I.E. TAILLE DE LA MATRICE DE RÉFÉRENCE EXPRIMÉE EN NOMBRE DE SPECTRES QUOTIDIENS INCLUS) ET DU PRÉTRAITEMENT DES SPECTRES.	48
FIGURE 11 : DIFFÉRENCE EXPRIMÉE EN GDD ENTRE LES VALEURS OBTENUES POUR $T_{0,SUPERV}$ ET LA $T_{0,MWPCA}$ EN FONCTION DE LA TAILLE DE LA FENÊTRE ET DU PRÉTRAITEMENT.	49
FIGURE 12 : RELATION ENTRE $T_{0,SUPERV}$ ET $T_{0,MWPCA}$. LA LIGNE ROUGE CORRESPOND À LA LIGNE DE RÉGRESSION 1:1 ET LE NOMBRE AU- DESSUS DE CHAQUE DISTRIBUTION À LA CORRÉLATION ENTRE LE $T_{0,SUPERV}$ ET LE $T_{0,MWPCA}$	50
FIGURE 13 : CORRÉLATIONS ENTRE LA DIFFÉRENCE ENTRE LE $T_{0,MWPCA}$ ET LE $T_{0,SUPERV}$ (D0) EXPRIMÉE EN DEGRÉ JOUR (°C) ET LA DURÉE DE LA SÉNESCENCE (SDURATION) EN GDD EN FONCTION DE LA TAILLE DE LA FENÊTRE ET DU PRÉTRAITEMENT. LA LIGNE ROUGE CORRESPOND À LA LIGNE DE RÉGRESSION ENTRE LES DEUX PARAMÈTRES. LE CHIFFRE AU-DESSUS DE CHAQUE DISTRIBUTION CORRESPOND À LA CORRÉLATION ENTRE D0 ET SDURATION.	55
FIGURE 14 : CYCLE DE VIE DE LA SEPTORIOSE (MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA (ASEXUAL STAGE ZYMOSEPTORIA TRITICI, SYNONYM SEPTORIA TRITICI) D'APRÈS BRENNAN ET AL., 2019 ET RUDD ET AL., 2015.	71
FIGURE 15 : STADES D'INFECTION DE Z. TRITICI DANS LE BLÉ D'APRÈS FANTOZZI ET AL, 2021. L'ÉPIDERME DE LA PLANTE (GRIS) ET LES CHLOROPLASTES (ROUGE) SONT DÉTECTÉS PAR LEUR AUTO-FLUORESCENCE. LES CELLULES FONGIQUES EXPRIMENT L'EGFP CYTOPLASMIQUE (VERT). L'IMAGE SUPÉRIEURE MONTRE UNE VUE DE DESSUS ET L'IMAGE INFÉRIEURE UNE VUE LATÉRALE D'IMAGES CONFOCALES. LES BARRES D'ÉCHELLE REPRÉSENTENT 20 μ M. (A) STADE 1, "REPOS EN SURFACE". UNE SPORE DE TYPE "LEVURE" SE POSE SUR LA SURFACE DE LA FEUILLE, OÙ ELLE PEUT SURVIVRE PENDANT PLUSIEURS JOURS. DURANT CETTE PÉRIODE, ELLE PEUT PASSER AU STADE 2 ET ENVAHIR LA PLANTE. (B) STADE 2, "EXPLORATION DE LA SURFACE". LES SPORES PEUVENT CHANGER ET FORMER UN HYPHA INFECTIEUX, QUI SE DÉVELOPPE DE MANIÈRE DIRIGÉE. CES HYPHES EXPLORENT LA SURFACE ET FINISSENT PAR PÉNÉTRER DANS LA FEUILLE VIA LE STOMATE (C) STADE 3, "PÉNÉTRATION DU STOMATE". LES HYPHES PÉNÈTRENT DANS L'HÔTE PAR LES OUVERTURES STOMATIQUES. (D) STADE 4, "COLONISATION DU MÉSOPLHYLE". LE CHAMPIGNON SE DÉVELOPPE DANS L'ESPACE APOPLASTIQUE ENTRE LES CELLULES INTACTES DU MÉSOPLHYLE. PENDANT CETTE PHASE "BIOTROPHIQUE", AUCUN SYMPTÔME D'INFECTION N'EST VISIBLE. (E) STADE 5, "INITIATION DU CORPS FRUCTIFÈRE". LES HYPHES SE DÉVELOPPENT DANS LA CAVITÉ DES STOMATES VIERGES ET COMMENCENT À REMPLIR CET ESPACE DE MATÉRIEL FONGIQUE. CETTE ÉTAPE DU DÉVELOPPEMENT MARQUE LE DÉBUT DE LA PHASE NECTROTROPHE, RECONNUE PAR LES PREMIERS	

SIGNES DE CHLOROSE FOLIAIRE. (F) STADE 6, "MATURATION DU CORPS FRUCTIFÈRE". LES HYPHES ONT REMPLI LA CAVITÉ SUBSTOMATALE ET LE CORPS FRUCTIFÈRE (PYCNIDE) COMMENCE À PRODUIRE DES SPORES.	72
FIGURE 16 : ABONDANCE RELATIVE DES 6 STADES DE DÉVELOPPEMENT DE LA SOUCHE IPO323_G DE Z. TRITICI SUR ET DANS LES FEUILLES DE BLÉ INFECTÉES JUSQU'À 18 JOURS APRÈS INFECTION (« DAYS POST INFECTION » DPI) D'APRÈS FANTOZZI ET AL., 2021. (A) GRAPHIQUE MONTRANT L'ABONDANCE RELATIVE DES STRUCTURES FONGIQUES À DIFFÉRENTS JOURS APRÈS L'INFECTION. (B) REPRÉSENTATION GRAPHIQUE SIMPLIFIÉE DES DONNÉES QUANTITATIVES DE LA FIGURE A.	73
FIGURE 17 : ORGANISATION DE LA PLANTATION AU SEIN DES POTS. LA BANDE VERTE CORRESPOND AU PLACEMENT DE L'ÉTIQUETTE INDIQUANT LE NOM DU POT.	76
FIGURE 18 : PLAN D'EXPÉRIENCE. LA PRISE CORRESPOND À LA PRISE DE SPECTRE QUOTIDIENNE.	77
FIGURE 19 : PHOTO DE L'ASSEMBLAGE PERMETTANT LA PRISE DES IMAGES HYPERSPECTRALES	79
FIGURE 20 : CALENDRIER DE L'EXPÉRIENCE.	80
FIGURE 21 : DIFFÉRENTES ÉTAPES D'EXTRACTION DES PIXELS D'INTÉRÊT	81
FIGURE 22 : VARIOGRAMME ET PARAMÈTRES C1 ET C0.....	84
FIGURE 23 : CINÉTIQUE MOYENNE DES T ² POUR LES « MOCKS » DE CONSTRUCTION (A) 22_G, 23_G ET 24_G (EN NOIR) ET LES « MOCKS » DE PROJECTION 48_G, 34_G ET 35_G (EN ROUGE) DU GÉNOTYPE EPO_67 AU COURS DE L'EXPÉRIENCE (B) 17_G ET 41_D (EN NOIR) ET LES « MOCKS » DE PROJECTION 41_G ET 42_D (EN ROUGE) DU GÉNOTYPE EPO_68 AU COURS DE L'EXPÉRIENCE. LES ÉCARTS-TYPES CORRESPONDENT AUX BARRES VERTICALES PRÉSENTENT SUR LES COURBES ET CORRESPONDENT À LA VALEUR DE LA COURBE PLUS OU MOINS L'ÉCART-TYPE. LES ÉTOILES CORRESPONDENT À DES VALEURS SIGNIFICATIVES DE T-TEST (P-VALUE <0.05) ENTRE LES DEUX DISTRIBUTIONS « INOCS » ET « MOCKS ».....	87
FIGURE 24 : CINÉTIQUE MOYENNE DES T ² POUR LES MOCKS DE CONSTRUCTION (EN NOIR) ET LES INOCS DE PROJECTION (EN ROUGE) (A) DU GÉNOTYPE EPO_67 AU COURS DE L'EXPÉRIENCE (B)) DU GÉNOTYPE EPO_68 AU COURS DE L'EXPÉRIENCE. LES ÉCART-TYPES CORRESPONDENT AUX BARRES VERTICALES PRÉSENTENT SUR LES COURBES ET CORRESPONDENT À LA VALEUR DE LA COURBE PLUS OU MOINS L'ÉCART-TYPE. LES ÉTOILES CORRESPONDENT À DES VALEURS SIGNIFICATIVES DE T-TEST (P-VALUE <0.05) ENTRE LES DEUX DISTRIBUTIONS « INOCS » ET « MOCKS ».....	88
FIGURE 25 : DISTRIBUTION DES T ² À 12 DPI. LES COURBES ROUGES ET VERTES CORRESPONDENT À DES ESTIMATIONS DES DONNÉES PAR UNE LOI NORMALE (A) FEUILLE 34_G_1 (INDIVIDU « MOCK ») AVEC UNE MOYENNE ~0.9 ET UN ÉCART-TYPE ~0.14 POUR LA COURBE DE DISTRIBUTION ROUGE (B) LA FEUILLE 26_G_2 (INDIVIDU « INOC ») AVEC UNE MOYENNE ~1.1 ET UN ÉCART-TYPE ~0.12 POUR LA COURBE ROUGE ET UNE MOYENNE ~1.4 ET UN ÉCART-TYPE ~0.19 POUR LA COURBE VERTE.	91
FIGURE 26 : (A) IMAGE RGB D'UN INDIVIDU (26_G_2) À 12 DPI, (B) HEATMAP D'UN INDIVIDU (26_G_2) À DEUX NIVEAUX DE T ² (PIXELS MALADES : FONCÉ ; PIXELS NON MALADES : CLAIR) PRIS À 12 DPI.....	92
FIGURE 27 : (A) 34_G_1 EPO_67 « MOCK » HEATMAP EN ZONES (6 ZONES AVEC EN HAUT LA ZONE PROXIMALE (6) ET EN BAS LA ZONE DISTALE (1)) (B) IMAGES RGB DE 34_G_1 EN MIROIR PAR RAPPORT AUX HEATMAPS ET EN FAUSSES COULEURS ISSUES DE LA CAMÉRA VNIR. LES GROUPES DE VALEURS DE T ² SONT RÉPARTIS AINSI : (i) DE 0 À 0.75 ; (ii) DE 0.75 À 1 ; (iii) DE 1 À 1.25 ; (iv) DE 1.25 À 2 ; (v) DE 2 À 6 (GROUPES REPRÉSENTANT LA QUEUE LOURDE DE LA DISTRIBUTION) ; (vi) DE 6 À 15 (GROUPES REPRÉSENTANT LA QUEUE LOURDE DE LA DISTRIBUTION).....	95
FIGURE 28 : (A) 26_G_2 EPO_67 « INOC » HEATMAP EN ZONES (6 ZONES AVEC EN HAUT LA ZONE PROXIMALE (6) ET EN BAS LA ZONE DISTALE (1)) (B) IMAGES RGB DE 26_G_2 EN MIROIR PAR RAPPORT AUX HEATMAPS EN FAUSSE COULEUR ISSUS DE LA CAMÉRA VNIR. LES GROUPES DE VALEURS DE T ² SONT RÉPARTIS AINSI : (i) DE 0 À 0.75 ; (ii) DE 0.75 À 1 ; (iii) DE 1 À 1.25 ; (iv) DE 1.25 À 2 ; (v) DE 2 À 6 (GROUPES REPRÉSENTANT LA QUEUE LOURDE DE LA DISTRIBUTION) ; (vi) DE 6 À 15 (GROUPES REPRÉSENTANT LA QUEUE LOURDE DE LA DISTRIBUTION).....	97
FIGURE 29 : ANALYSE VARIOGRAPHIQUE DES ZONES 1 À 6 DE LA HEATMAP DE L'INDIVIDU « MOCK » 34_G_1 DU GÉNOTYPE EPO_67. LA COURBE VERTE INDIQUE LE SEUIL DE 25%, EN DESSOUS DE CE SEUIL, LES VALEURS SONT SIGNIFICATIVES ET INDIQUENT UNE STRUCTURATION SPATIALE. LA COURBE ROUGE INDIQUE LE SEUIL DE 75%, EN DESSUS DE CE SEUIL, LES VALEURS SONT NON SIGNIFICATIVES ET INDIQUENT QU'IL N'Y A AUCUNE STRUCTURE SPATIALE.....	99
FIGURE 30 : ANALYSE VARIOGRAPHIQUE DES DIFFÉRENTES ZONES DE LA HEATMAP DE L'INDIVIDU « INOC » 26_G_2 DU GÉNOTYPE EPO_67. LA COURBE VERTE INDIQUE LE SEUIL DE 25%, EN DESSOUS DE CE SEUIL, LES VALEURS SONT SIGNIFICATIVES ET INDIQUENT UNE STRUCTURATION SPATIALE. LA COURBE ROUGE INDIQUE LE SEUIL DE 75%, EN DESSUS DE CE SEUIL, LES VALEURS SONT NON SIGNIFICATIVES ET INDIQUENT QU'IL N'Y A AUCUNE STRUCTURE SPATIALE.....	100
FIGURE 31 : ANALYSE FACTORIELLE DISCRIMINANTE (AFD) À LA DATE 12 DPI DES GROUPES MOCKS ET INOCS DE PIXELS EPO_67. 'GROUP I' CORRESPOND AUX INDIVIDUS « INOCS » ET 'GROUP M' CORRESPOND AUX INDIVIDUS « MOCKS »	101
FIGURE 32 : VECTEURS DISCRIMINANTS ASSOCIÉS À L'ANALYSE DISCRIMINANTE POUR 5 DATES (9 DPI, 10 DPI, 11 DPI, 12 DPI ET 13 DPI).....	102

Résumé

Les plantes sont des organismes devant répondre à des stress biotiques et abiotiques. L'impact de ces stress a un coût important sur le rendement en agriculture. La détection de ces stress est un champ d'expertise faisant appel à de nombreuses technologies et méthodes. Ces techniques comprennent l'utilisation de la spectroscopie et de l'imagerie hyperspectrale. Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à deux processus complexes du blé dur (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) : la senescence foliaire et l'interaction plante-pathogène (l'infection par la septoriose (*Z. tritici*)). Pour pouvoir étudier la senescence, nous avons tout d'abord utilisé de la spectroscopie proche infra-rouge couplée avec une méthode d'analyse issue du suivi des procédés, la MWPCA. Cette étude a permis de comprendre l'utilisation de cette méthode et son intérêt. Nous avons pu déterminer des temps d'intérêt dans la MWPCA qui semblaient relier à des chutes de concentration de composés biochimiques tels que l'azote, la chlorophylle ou l'eau. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'infection du blé dur par la septoriose. Pour cela, nous avons cette fois-ci utilisé l'imagerie hyperspectrale couplée avec la MWPCA. L'intérêt de l'imagerie hyperspectrale vient de l'exploitation de l'information spatiale. Pour une maladie fongique, il est intéressant de pouvoir avoir accès à la spatialité de l'infection. Dans cette partie, la MWPCA a permis de mettre en évidence des différences entre individus infectés et non infectés et l'intérêt de la spatialité.

Mots-clés : blé dur ; imagerie hyperspectrale ; données temporelles ; MWPCA ; septoriose ; senescence

Abstract

Plants are organisms that must respond to biotic and abiotic stresses. The impact of these stresses has a significant cost on agricultural yield. Detection of these stresses is a field of expertise involving many technologies and methods. These techniques include the use of spectroscopy and hyperspectral imaging. In this thesis, we focused on two complex processes in durum wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*): leaf senescence and plant-pathogen interaction (septoria *Z. tritici* infection). In order to study senescence, we first used near infrared spectroscopy coupled with an analysis method from process monitoring, the MWPCA. This study allowed us to understand the use of this method and its interest. We were able to determine times of interest in the MWPCA that seemed to be related to concentration drops of biochemical compounds such as nitrogen, chlorophyll or water. In a second step, we were interested in the infection of durum wheat by septoria. For this purpose, we used hyperspectral imaging coupled with MWPCA. The interest of hyperspectral imaging comes from the exploitation of spatial information. For a fungal disease, it is interesting to have access to the spatiality of the infection. In this part, MWPCA has allowed to highlight differences between infected and non-infected individuals and the interest of spatiality.

Key words: durum wheat; hyperspectral imaging; temporal data; MWPCA; septoria; senescence

Remerciements

Pour commencer, j'aimerais remercier Rémi, mon fiancé, qui a été là du début à la fin. Il a subi mes humeurs, mes bêtises, mes fatigues... et il est toujours là. Sans son soutien, je ne serai jamais arrivée à présenter un manuscrit. J'aimerais aussi remercier Rorschach, le meilleur des amis, malgré les morsures répétées.

Le deuxième soutien considérable dont j'ai pu bénéficier vient de mon encadrement. Ce n'était pas un encadrement facile (je ne suis pas un cadeau) mais le résultat n'est pas si mal. J'aimerais donc remercier Ryad, mon directeur, qui a dû subir toutes les catastrophes administratives ; Pierre, même s'il ne nous a pas ramenés de litchis ; Elsa, sans qui les expériences n'auraient jamais pu être mises en place ; Martin, pour avoir participé aux manips (ça ne se serait pas fait non plus sans lui) et Nathalie, qui est restée jusqu'au bout.

J'aimerais également remercier les équipes dans lesquelles j'ai été accueillies, l'équipe GE2pop et l'équipe COMIC, tout comme les habitants du bâtiment Minéa.

Parmi toutes ces personnes, j'aimerais remercier tout particulièrement, le seul, l'unique, l'incroyable, le **modeste** dont je ne prononcerai pas le nom (on sait jamais). J'aimerais remercier Daniel, malgré ses préférences ; Victoria, malgré ses vocalises ; Shérif, malgré son nez ; Marc, pour sa ponctualité ; Elodie, que j'ai découverte trois ans après son arrivée ; Jules, banal ; Maud, pour son fromage scoutz-scoutz ; Tom, le mi-cuit ; Théo, pour sa sérieuxité ; Florent, pour sa sagesse ; Laurent, pour son absence (seul moment tranquille) ; Belal, pour son imitation de Bob l'éponge ; Daniel jeune, promis je te dis ; Léa, même si elle m'a abandonné ; Maxime, au choix un des deux ; Jean-Philippe, pour ses discussions ; Cyril, pour son jugement ; David, à la piscine on prend une planche ; Anis, le bison ; Gaëlle, pour les plus belles photos ; Gérard, le lâcheur qui me doit 10 centimes ; Jean-François, le passe-partout ; Daniel, une deuxième fois ; Anice et Eva, les anciens ; Eric, les deux ; Augustin, pour son rire très chaud ; Daniel, une troisième fois ; Alexis, celui-dont-on-ne-doit-pas-prononcer-le-nom ; Jean-Luc, qui veut rester anonyme ; Sonia.

Je remercie ma famille pour son entourage et ses encouragements.

Pour finir, j'aimerais remercier toutes les personnes qui m'ont entourée et m'ont encouragée tout au long de cette thèse.

Chapitre 1 : Introduction et état de l'art

1. Le phénotypage

1.1. Contexte

Le phénotype des plantes, c'est-à-dire l'ensemble des caractéristiques observables d'un individu, reflète à la fois l'expression des gènes et la quantité de ressources disponibles dont disposent les plantes (nutriments minéraux, eau, température, lumière) ainsi que leur interaction. Les mesures des différents traits phénotypiques sont essentielles pour comprendre comment les organismes interagissent avec leur environnement et identifier leur déterminisme génétique afin d'améliorer les performances agronomiques et leur adaptation à des réductions d'intrants dans le cadre d'une production plus durable. En agronomie, le phénotypage consiste à être en capacité de mesurer des traits complexes impliqués dans les fonctions associées à la croissance végétative, au développement reproducteur (nombre et poids des grain(s)) et l'adaptation aux stress. Ces mesures peuvent être faites à différentes échelles : peuplement, individu, organe (Fiorani and Schurr, 2013; Li et al., 2014). Ainsi ces mesures incluent, par exemple, l'estimation de la biomasse végétale (Golzarian et al., 2011; Menzel et al., 2009), les caractéristiques des feuilles (Arvidsson et al., 2011), les caractéristiques des fruits (Monforte et al., 2013), la morphologie des racines (Flavel et al., 2012; Kumar et al., 2014; Walter et al., 2009) mais aussi les phénotypes chimiques tel que les composés organiques volatiles (Taiti et al., 2015). Le nombre d'articles publiés sur le phénotypage depuis 2010 a fortement augmenté, montrant un engouement pour cette thématique, en lien avec les avancées technologiques (Figure 1).

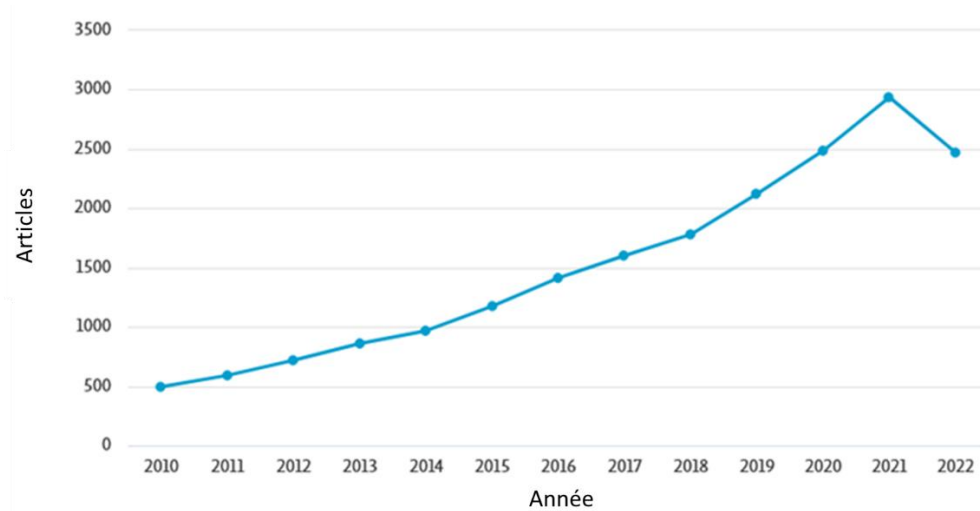


Figure 1 : Nombre d'articles publiés entre 2010 et 2022 sur le phénotypage (source : Scopus)

1.1.1. Quels champs d'applications pour le phénotypage ?

Les techniques de phénotypage se sont développées récemment pour répondre aux questions de deux grands champs disciplinaires (Costa et al., 2019). Le premier est connu sous l'appellation agriculture de précision, c'est-à-dire l'optimisation des rendements en tenant compte de la variation des milieux et des conditions entre différentes parcelles. Le deuxième est celui de la sélection variétale dont l'objet est d'améliorer les performances agronomiques d'une espèce afin de répondre au mieux aux différentes attentes de la filière (producteurs, distributeurs, industriels), des consommateurs et des contraintes sociétales (aspects environnementaux notamment) à l'aide de phénotypage haut débit.

1.1.2. L'agriculture de précision

L'agriculture de précision est un domaine de recherche récent ayant bénéficié de nombreuses avancées technologiques. Le but de l'agriculture de précision est l'optimisation des parcelles agricoles en améliorant l'efficacité de l'utilisation des ressources, la productivité, la qualité, la rentabilité et la durabilité de la production agricole. Dans cette optique, l'objectif général est d'avoir le meilleur rendement en utilisant le moins d'énergie et d'intrants possibles dans une parcelle. L'agriculture de précision est un domaine où les nouvelles technologies sont largement mobilisées pour permettre des avancées vers une agriculture plus économe en intrants et permettant de maximiser la productivité (Kumar et al., 2021). Dans ce contexte, le développement de méthodes de traitement de données telle que, par exemple, le Machine Learning devient un levier majeur pour de nouvelles avancées (Falana and Durodola, 2022; Sharma et al., 2021). On peut ainsi construire des modèles de prédiction permettant de prédire des phénotypes au sein des parcelles associées, par exemple, à des stress biotiques ou abiotiques, des concentrations de minéraux et, par conséquent, d'anticiper des variations de rendements. Pour ce faire, la construction des modèles peut être réalisée à l'aide, entre autre, de données issues de l'imagerie comme par exemple la télédétection (Sishodia et al., 2020). Cependant, le traitement de cette donnée est un véritable challenge. En effet, la quantité de données à traiter et leur complexité (dimensions, ...) nécessitent le développement de méthodes de traitement spécifiques.

1.1.3. La sélection variétale

L'amélioration des plantes est une discipline qui a bénéficié à la fois des découvertes en matière de biologie fondamentale et de développement technologiques. Cela a permis d'avoir accès, avec des débits de plus en plus importants, à des échelles de plus en plus fines et diversifiées, aux organismes, cellules, molécules et gènes.

A partir de la fin du 19^{ème}, la découverte des lois de l'hérédité par Mendel puis des gènes a permis de connaître les vecteurs de transmission des caractères. Dans cette même période, Charles Darwin a formalisé les principaux mécanismes évolutifs encore étudiés de nos jours. Ces découvertes ont été à l'origine des travaux actuels en sélection variétale. Au cours du 20^e siècle, les travaux soutenus dans cette discipline ont permis de compléter ces 1^{ers} travaux notamment en précisant les différents Les

technologies ont rapidement évolué à partir des années 1990. Au cours des vingt dernières années, les différents moyens de séquençage ont permis de séquencer un grand nombre d'espèces de culture (Yang et al., 2020). Aujourd'hui, les méthodes de sélection variétale sont basées sur ces connaissances académiques et cette offre technologique. L'expérimentation en champ reste un moyen essentiel pour appliquer les connaissances acquises et valider la sélection effectuée (Reynolds et al., 2020). Le choix des traits sur lesquels porte cette sélection s'effectue sur la base de mesures directes ou par différents proxys incluant la sélection basée sur une information liée aux allèles (Jannink et al., 2010). La sélection par marqueurs est une sélection qui utilise des marqueurs moléculaires associés à des gènes d'intérêt. L'efficacité de la sélection assistée par marqueurs dépend de la qualité de la relation entre phénotypes et génotypes. Le phénotypage, qui permet alors de mesurer de nombreux traits de la façon la plus objective possible, sera un aspect important pour tracer cette relation (en faire en quelque sorte l'étalonnage), étalonnage qui sera ensuite utilisé dans les laboratoires par les sélectionneurs (Rincent et al., 2018).

La sélection variétale en champ se heurte actuellement à une limite des traits phénotypiques mesurables menant à une stagnation des connaissances actuelles (Araus et al., 2018). Cette difficulté se traduit par une difficulté de mise en place d'approches de phénotypage facilement automatisables et répétables ainsi que non-destructives. En effet, la majorité des mesures actuelles, en ce qui concerne la sélection, s'effectue sur la base de prélèvements destructifs sur les plantes. Le passage vers des méthodes non-destructives présente de nombreux avantages notamment la prise en compte de la temporalité ou de la spatialisation des phénomènes ; différents développements technologiques offrent des outils pour les intégrer aux pratiques des sélectionneurs (Roitsch et al., 2019). C'est le cas de l'imagerie conventionnelle et de la spectroscopie. Dans un certain nombre de cas, ces techniques ont déjà été utilisées pour la mesure de traits agronomiques qui peuvent être plus ou moins complexes au sens où le nombre de mécanismes moléculaires ou physiologiques sous-jacents sera plus ou moins important (Figure 2). Parmi ces nombreux phénotypes complexes, deux d'entre eux seront étudiés dans les prochains chapitres : la senescence et les interactions plante-pathogène.

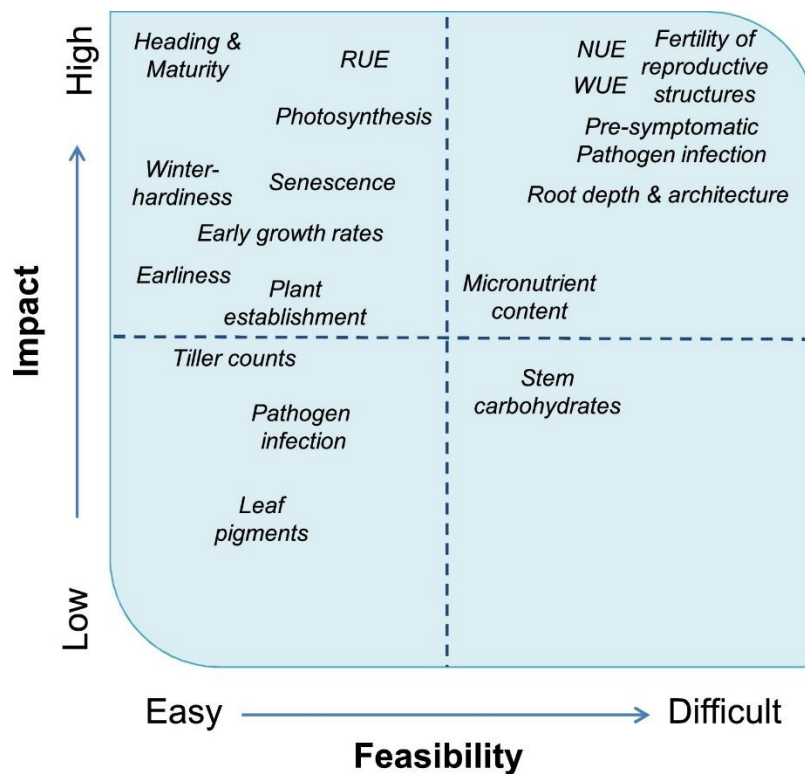


Figure 2 : Faisabilité de la sélection sur différents traits en fonction de l'impact de la mesure (Roitsch et al., 2019). RUE: Radiation Use Efficiency ; NUE: Nitrogen Use Efficiency ; WUE: Water Use Efficiency.

Pour pouvoir caractériser le phénotype, il existe plusieurs outils qui peuvent être classés en deux types d'approches : les approches directes et les approches indirectes. Dans les parties suivantes, les approches directes seront d'abord discutées, suivies des approches indirectes. L'approche indirecte tout comme l'approche directe ne sont pas des méthodes exclusives. Combiner les deux permet d'avoir une vision plus détaillée des interactions de la plante avec son environnement (Crandall et al., 2020). Cela permet de mieux comprendre la réaction de la plante à certaines conditions particulières.

1.2. Approches directes

Ici, la collecte de l'information nécessaire au phénotypage d'un individu se fait directement par des mesures sur les traits cibles. Historiquement, c'est la première approche utilisée. Différentes techniques et technologies sont mobilisables. La première technique, la plus évidente, est celle de mesurer directement le trait phénotypique si complexe soit-il. Par exemple, pour augmenter le rendement, on peut vouloir avoir plus de graines dans des épis de blé et en plus grande quantité. Dans ce cas, les graines vont être comptées et pesées jusqu'à trouver un individu ayant les caractères requis. En matière de recherche de plantes résistantes à un pathogène, l'évaluation des symptômes finaux permettra d'évaluer la variabilité génotypique et de classer les génotypes à chaque génération du processus de sélection. Il est ainsi possible de sélectionner des individus avec cette approche directe. Les lignées servant pour la suite des cultures viendront des individus ayant les caractères que l'on a choisis.

Une autre technique va cibler la mesure des composantes de ce trait complexe. Ces composantes sont identifiées et mesurées pour mieux comprendre l'élaboration du caractère complexe. Cette décomposition peut être simple ; ainsi, le rendement en grains peut être décomposé en un produit entre le nombre de grains et le poids moyen d'un grain. Mais cette décomposition simple peut s'avérer insuffisante. Dans le cas des interactions plante pathogène, les symptômes observés sont issus de plusieurs processus simultanés : défense de la plante, attaque de l'agent pathogène, mise à disposition des ressources nutritives pour la plante ou l'agent pathogène... Les symptômes finaux ne sont donc pas suffisants pour interpréter ce processus de mise en place de la maladie dans son ensemble (Willoquet et al., 2017).

De ce fait des décompositions plus complexes allant jusqu'à l'intégration d'informations issues de données liées à l'expression du génome commencent d'être proposées. Cette approche consiste à étudier l'ARN transcrit, cet ARN étant la résultante directe d'un génotype dans un environnement précis. Les études sur le rôle de l'ARN sur son rôle entre le passage du génotype au phénotype sont encore en développement, mais elles sont facilitées par les avancées technologiques actuelles (Manning and Cooper, 2017). Par exemple, le changement climatique étant un changement d'environnement, il fait sens que l'expression du génome et donc l'ARN subisse des changements inattendus. Ainsi, il est possible de mesurer la quantité d'ARN produit par un gène de défense comme mesure de l'immunité préformée de la plante dans le cadre d'une interaction plante-pathogène (Haueisen et al., 2019). La mesure de l'expression des gènes est alors utilisée comme biomarqueur du processus biologique (Vicente et al., 2015).

1.3. Approches indirectes

La deuxième approche de collecte d'information pour le phénotypage est l'approche indirecte. La valeur du trait est donc estimée et non plus mesurée directement. Schématiquement, le développement de ces méthodes est justifié par le fait que les techniques impliquées permettent d'augmenter le débit des mesures, et/ou par le fait qu'elles sont non destructives (plusieurs mesures du même trait au cours du cycle cultural sont donc possibles), ou encore par leur moindre coût comparativement aux approches directes. Tous les traits, indépendamment de leur complexité, peuvent être ciblés. Ces approches indirectes peuvent avoir tout de même un intérêt particulier dans le cas des traits complexes qui résultent de nombreux processus successifs ainsi que de leurs interactions : leur mesure directe étant soit difficile soit peu informative. Depuis deux décennies, de nombreuses applications basées sur des méthodologies non invasives et non destructives, telles que l'analyse d'image ou la spectroscopie proche infrarouge, ont été développées pour déduire la valeur des caractères (Cobb et al., 2013; Furbank and Tester, 2011). L'analyse d'image conventionnelle (prise d'image de 1 à 3 longueurs d'onde) conduit à la dissection de ces traits complexes en traits élémentaires afin de faciliter l'identification des voies physiologiques sous-jacentes ou du déterminisme génétique. Cette stratégie est couramment utilisée dans les communautés scientifiques telles que les physiologistes ou les généticiens pour qui une meilleure

compréhension de la construction de traits complexes est essentielle. Par exemple, il est possible de mesurer la réponse d'une plante à un stress hydrique tout au long de son cycle.

Ces approches sont actuellement développées pour répondre à un besoin de phénotypage haut-débit. Mais, comme nous le verrons par la suite, il existe un manque de développement de méthodes pour exploiter les données issues de la technologie actuellement à notre disposition. Une question qui peut être posé est comment peut-on décrire un processus complexes à partir de mesures indirectes.

De nombreux travaux liés à l'utilisation de méthodes non destructives et non invasives sont largement basées sur l'utilisation de l'imagerie et de la spectroscopie dans le visible et le proche infrarouge (VIS-NIR) (Watt et al., 2020). Grâce à des modèles supervisés basés sur des méthodes de traitement du signal, les étalonnages ont fourni des prédictions pertinentes avec une précision et une robustesse documentées, qui peuvent être utilisées comme indicateurs des traits clés ciblés (Anderegg et al., 2020; Chapman et al., 2021). Plusieurs auteurs se sont déjà intéressés à la détection d'un stress biotique (Delalieux et al., 2009; Hillnhütter et al., 2012) ou abiotique (Ecarnot et al., 2013; Makdessi et al., 2017) à l'aide de technologies spectrales et de différentes modalités d'analyse du signal.

2. L'utilisation de la spectroscopie

2.1. La spectroscopie proche infra-rouge

La spectroscopie est la science qui traite des interactions lumière et matière à chaque longueur d'onde pour caractériser le contenu biochimique et/ ou les propriétés physiques des matrices grâce aux modifications des propriétés spectrales (absorbance ou réflectance). Les techniques de mesure en réflexion sont utilisées pour les échantillons difficiles à analyser par les méthodes classiques en transmission qui elles sont plus adaptées aux matrices liquides. Lorsqu'un faisceau lumineux arrive à l'interface d'un second milieu dont l'indice de réfraction est plus grand, il subit suivant l'angle d'incidence, soit une réflexion totale comme un miroir, soit une réflexion atténuée après avoir, en partie, pénétré dans ce milieu. La réflexion spéculaire est la partie de la lumière réfléchié dans une direction d'observation symétrique à la lumière incidente (Figure 3).

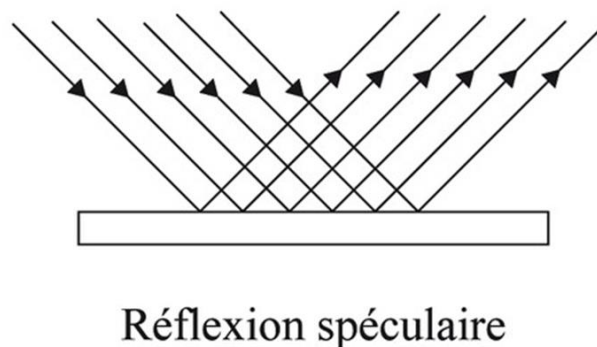


Figure 3 : Schéma présentant la propagation de la lumière en réflexion spéculaire

La technique de réflexion spéculaire est utilisée uniquement pour les échantillons transparents et réfléchissants à leur surface (vernis, films de polymères...). Si, au contraire, la rugosité de surface est de l'ordre de la longueur d'onde du rayonnement incident (typiquement de l'ordre du micromètre), comme c'est le cas pour des surfaces rugueuses ou des matières pulvérulentes, ou si le milieu présente des hétérogénéités, alors l'énergie du faisceau réfléchi n'est plus concentrée dans une seule direction (celle de la réflexion spéculaire). Elle est, au contraire, dispersée dans toutes les directions de l'espace par des effets de diffraction, réfraction et réflexion et on parlera de réflexion diffuse.

La spectrométrie Vis-Nirs (couramment appelée NIRS) est une technique basée sur l'étude de l'interaction lumière-matière obtenue au sein d'une gamme spectrale comprise classiquement entre 400 et 2500 nm. Lorsque la lumière entre en contact avec un objet, elle peut être réfléchie, absorbée ou passer au travers de l'objet (transmission). L'approche NIRS, pouvant être couplée avec l'imagerie, est basée sur la mesure de l'énergie électromagnétique réfléchie par la surface d'une matrice (feuille, racines ou grains dans le cas des plantes) à chaque longueur d'onde pour obtenir un spectre de réflectance. La réponse spectrale obtenue est ensuite mise en relation avec les propriétés physiques et biochimiques de la matrice analysée *via* des modèles d'étalonnage ou des modèles de prédiction. La construction de ces modèles nécessite de s'appuyer sur des données de référence, en provenance d'échantillons pour lesquels les propriétés d'intérêt sont connues. Cet étalonnage du signal spectral est utilisé, dans une seconde étape, pour prédire ces mêmes propriétés chez d'autres échantillons pour lesquels il n'y a pas de données de référence disponibles. Chez les plantes, les propriétés physiques des feuilles peuvent être identifiées dans une gamme de longueurs d'ondes comprises entre 700 et 1100 nm, dans le proche-infrarouge (NIR), tandis que les propriétés biochimiques, comme le contenu en eau ou en protéines, peuvent être caractérisées entre 1100 et 2500 nm, dans l'infrarouge à courtes longueurs d'ondes (SWIR).

La spectroscopie proche-infrarouge est un domaine qui a des applications dans le domaine de la sélection variétale (Deery and Jones, 2021) car elle permet l'étude d'un plus grand nombre de caractères en même temps (Araus et al., 2018). Cette technologie peut, par exemple, servir à effectuer le suivi de la sénescence dans une canopée (Anderegg et al., 2020a). Dans le cas de stress multiples et à un stade précoce d'infection, les phénomènes de réaction de la plante sont très complexes et fins (Ma et al., 2018). Leur étude et compréhension nécessitent des acquisitions optiques multimodales (plusieurs gammes spectrales, plusieurs résolutions spatiales) et temporelles avec des approches de traitement de données dédiées afin d'être en capacité d'observer des interactions lumière-matière représentatives de ces différentes réactions.

Le couplage de la spectroscopie avec l'imagerie permet d'obtenir des données spectrales à l'échelle de chaque pixel. Cette technologie est appelée imagerie multispectrale ou hyperspectrale, selon si le signal obtenu est basé sur un petit (<10) ou un grand nombre (> 100) de longueurs d'ondes. Grâce à cette

spatialisation du signal, cette technologie permettra de rendre compte des possibles états différents d'une matrice donnée (Martinelli et al., 2015).

2.2. L'imagerie hyperspectrale

L'imagerie hyperspectrale résulte de l'association de deux technologies qui ont évolué séparément pendant des années : l'imagerie numérique d'une part et la spectroscopie d'autre part. Les imageurs hyperspectraux permettent d'obtenir des images en 3 dimensions : deux d'entre elles représentent l'information spatiale et la troisième correspond à l'information spectrale (Nagasubramanian et al., 2019; Wahabzada et al., 2015). Par conséquent, le résultat d'une acquisition par un imageur hyperspectral est un hypercube dont les deux premières dimensions sont spatiales et la troisième correspond aux longueurs d'onde (dimension spectrale). Dans le cas du phénotypage de maladies, l'information spatiale est primordiale car l'agent pathogène infecte la plante de façon hétérogène générant des variations de structure ou de composition au sein de la matrice. L'imagerie hyperspectrale permettra de détecter ces changements de réflectance localement. Ces changements peuvent s'expliquer directement par les structures produites par l'agent pathogène mais aussi par l'altération des tissus et les changements biochimiques induits par l'agent pathogène dans la feuille et par l'induction des gènes de défense de la plante (Anderegg et al., 2019; Bohnenkamp et al., 2021a; Mahlein, 2016; Yu et al., 2018). Les variations spectrales associées à ces changements nécessitent des méthodes de traitement adaptées à leur complexité. Pour l'instant, les variations spectrales n'ont pu être détectées que dans des études ciblant des temps fixes (Anderegg et al., 2019; Bohnenkamp et al., 2021a; Yu et al., 2018). Dans la perspective de réaliser des suivis d'infection des plantes par des organismes pathogènes, comme *Z. tritici*, en utilisant l'information spectrale spatialisée acquise, il est nécessaire de mettre au point une méthode permettant d'interpréter ces informations et de les associer aux phases d'infection et aux défenses de la plante (Behmann et al., 2018; Lowe et al., 2017; Odilbekov et al., 2018).

3. Traitement des données spectroscopiques

Les données issues des capteurs spectroscopiques correspondent à un spectre, c'est-à-dire des valeurs d'absorption, de transmission ou de réflectance en fonction des longueurs d'onde. Les phénomènes d'absorption ont été expliqués par les transitions électroniques au sein de la chlorophylle (absorption entre 400 et 700 nm) et des vibrations-oscillations de la liaison O – H dans l'eau et autres composés présents dans la plante (absorption à 970, 1200, 1400 et 1940 nm). D'autres études ont permis d'établir un tableau plus précis regroupant 42 autres phénomènes d'absorption, associés à des vibrations (élongation et déformation) de liaisons chimiques plus fortes entre les atomes d'hydrogène et ceux de carbone, azote ou oxygène. Cependant, il est difficile de relier la concentration d'un composé chimique à une longueur d'onde particulière car :

- les bandes d'absorption sont larges et interfèrent entre elles : c'est le cas par exemple des bandes dues aux liaisons O – H et N – H,

- plusieurs composés organiques absorbent dans les mêmes longueurs d'onde puisqu'ils peuvent avoir les mêmes liaisons atomiques : par exemple, la liaison O – H est présente dans l'eau, la cellulose, le sucre, l'amidon et la lignine et la longueur d'onde correspondante n'est donc pas reliée uniquement à un seul composé chimique,

L'approche privilégiée dans le traitement de la donnée spectrale consiste à utiliser le spectre dans son ensemble et de rechercher les relations entre ces données spectrales et la variable d'intérêt que l'on veut prédire.

Les résultats des mesures en spectroscopie, les spectres, doivent faire l'objet d'un traitement et d'une analyse approfondie afin d'obtenir une information pertinente. Dans ce contexte, la chimiométrie et, plus particulièrement, les méthodes d'extraction de l'information sont essentielles. Il faut faire appel à des méthodes statistiques et construire un modèle mathématique permettant de relier les spectres aux informations issues d'une technique analytique de référence. Dans tous les cas, le principe d'analyse mathématique consiste à considérer le spectre comme un vecteur dans l'espace des longueurs d'onde.

L'approche utilisée dans le milieu de la chimiométrie est une approche dite "par prédiction de paramètre". Le cas le plus fréquent est la prédiction de variables quantitatives. Les méthodes chimiométriques utilisées dans cette approche sont diverses et reposent souvent sur la régression. De telles régressions nécessitent un étalonnage complet du spectre (la matrice X) avec des valeurs de référence (la ou les valeurs Y). Ces méthodes peuvent extraire les informations importantes du spectre, mais les caractéristiques spectrales d'intérêt nécessitent souvent une amélioration ou prétraitement afin d'éliminer les autres sources de variation spectrale, souvent provoquées par la diffusion de la lumière (Shetty and Gislum, 2011). Ces prétraitements spectraux incluent des dérivées, souvent de type Savitzky-Golay (Savitzky and Golay, 1964), des corrections de dispersion multiplicative (Multiplicative Scatter Correction –MSC-), la normalisation par SNV (Standard Normal Variate, Barnes et al. (1989)) ou logarithme, le detrending et le lissage, décrits en détail dans les manuels chimiométriques (Næs et al., 2002). La régression linéaire multiple (MLR) n'est pas adaptée aux spectres infrarouges en raison du degré élevé de colinéarité entre les longueurs d'onde (Shetty and Gislum, 2011). Ainsi, la régression des moindres carrés partiels (PLSR) (Martens and Naes, 1989) est une approche couramment utilisée pour la prédiction de ces paramètres.

La méthode PLS (Wold, 1966) est une technique de régression multivariée. Elle convient particulièrement à l'analyse de données colinéaires et bruitées. L'algorithme de la PLS construit des variables latentes, qui sont des combinaisons linéaires des variables de départ. La PLS réduit la dimension de la matrice X en produisant une matrice de scores T, telle que la covariance entre T et Y (matrice des variables explicatives) soit maximale. Une régression linéaire classique est ensuite réalisée entre les matrices T et Y. Au final, les opérations de réduction de dimension et de régression sont combinées pour produire un vecteur de régression, b, appelé généralement b-coefficients. Pour un nouvel échantillon mesuré, donnant un spectre x, la valeur prédite sera alors calculée en multipliant le spectre par les b-coefficients, longueur d'onde par longueur d'onde. Différents paramètres du modèle,

tels que le nombre de variables latentes, le type de prétraitement, la plage de longueurs d'onde, etc., doivent être ajustés. Pour ce faire, on procède généralement à une validation croisée, ce qui produit une erreur de calibration (RMSEC, « Root Mean Squarred Error of Calibration ») et de cross-validation (RMSECV, « Root Mean Squarred Error of Cross Validation »). L'examen de l'évolution de ces deux erreurs en fonction du nombre de variables latentes permet de choisir le meilleur modèle. Ce modèle est ensuite testé sur un ensemble de données externes, fournissant une erreur de prédiction (RMSEP, Root Mean Squarred Error of Prediction).

3.1. Prise en compte de la dimension temporelle

Le traitement d'une donnée possédant une dimension temporelle est un domaine en plein essor. La raison de cet engouement vient, d'une part, des avancées technologiques permettant l'acquisition de ce type de données ainsi que le développement d'approches de traitement adaptées et, d'autre part, d'une demande grandissante pour l'observation et la compréhension de phénomènes dynamiques complexes. En théorie, l'acquisition de spectres à différents temps est juste une question de protocole expérimental et de gestion de la donnée, ce qui ne semble pas représenter de challenge technique. En pratique, créer un protocole prenant en compte la temporalité peut s'avérer plus ou moins complexe selon l'outil d'acquisition de données utilisées ou de la matrice observée. La gestion de la donnée est elle-aussi une question plus ou moins complexe en fonction de l'outil utilisé pour l'acquisition des données (par exemple un imageur hyperspectral) à cause de la quantité de données générée. La mise en place d'une expérience prenant en compte la temporalité des données, bien que complexe, est tout à fait envisageable. Le traitement de série temporelle implique l'utilisation d'algorithmes spécifiques. En effet, il existe des méthodes permettant de traiter des données temporelles mais très peu ont été appliquées au domaine de la sélection variétale (Lu et al., 2020). Dans l'agriculture de manière plus large, la télédétection a développé un grand nombre d'outils pour ce traitement.

Pour résumer les informations précédemment présentées, il est possible de répertorier la plupart des méthodes de traitement de la donnée spectroscopique en ce qui concerne la détection de changement dans une matrice (Figure 4). Il est à noter que les pré-traitements ne sont pas présentés. Seule une portion minimale, les « Time-series analysis » (TSA) sont utilisées pour le traitement du signal temporel. Un des problèmes principaux de ces méthodes est la perte d'au moins une partie de l'information spatiale, ce qui limite le champ d'utilisation de ces méthodes à des dynamiques générales. De plus, les données spectrales sont multisp spectrales et donc d'un ordre de grandeur inférieur à celles acquises en imagerie hyperspectrale. Au sein des TSA, il existe deux groupes de méthodes, les méthodes en temps réel (une vidéo) et les méthodes en temps long (les prises d'image se font les unes après les autres avec des temps plus ou moins longs entre chaque prise d'image).

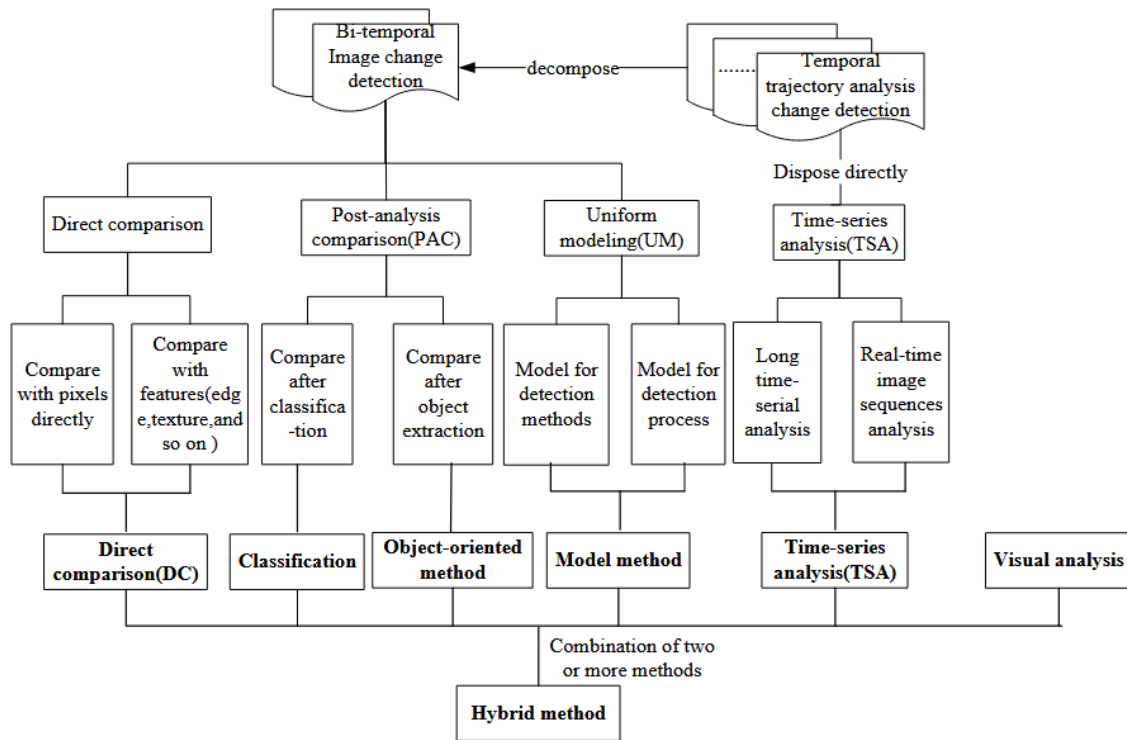


Figure 4 : Classification des algorithmes de détection de changement (d’après Jianya et al., 2008)

Les analyses d’image en temps long sont des analyses dont les données pourraient correspondre à des données de suivi de plantes dans un champ. Cependant, les analyses sont basées sur des analyses Bayésiennes ou sur le calcul d’un paramètre quantitatif, souvent basé sur des ratios de réflectance à différentes longueurs d’ondes comme par exemple le NDVI.

Le fait d’utiliser un modèle supervisé simplifie ce problème : la complexité de la dimensionnalité spectrale n’existe plus puisque l’on va travailler sur les données générées par les étalonnages et pour peu que l’on n’ait pas de spatialité à gérer on pourra sans problème utiliser les TSA classiques. Ainsi si ces modèles présentent un certain nombre de désavantages à l’utilisation tel qu’un besoin d’apprentissage du modèle, des problèmes de robustesse, des modèles complexes plus ou moins interprétables, l’analyse temporelle des données produites reste possible avec les approches classiques. Dans des applications sur le végétal, il n’existe pas à notre connaissance de modèle non supervisé qui combine l’information spectral et temporel ce qui n’est pas le cas dans le domaine du génie des procédés et plus particulièrement dans le « batch processing ».

3.2. Les approches développées en « batch process »

3.2.1. Définitions

Le contrôle des procédés ou suivi des procédés (« batch processing » ou « batch process ») est le suivi, le diagnostic ou la recherche d’erreurs d’un procédé. Ce domaine est particulièrement utilisé en industrie et en contrôle de qualité. Le principe est simple, un procédé est suivi dans le temps en utilisant différents

capteurs. En général, le procédé est connu et parfaitement contrôlé. Une itération du processus sans dysfonctionnement est nommée un « golden batch ». C'est en général la référence des méthodes utilisées dans ce domaine. Un grand nombre de méthodes ont été développées dans ce domaine pour contrôler le déroulement du processus et stopper tout processus devenant anormal à savoir différent du « golden batch ».

3.2.2. Méthodes développées

Les approches de traitement du signal du contrôle des procédés se basent directement sur l'évolution des spectres mesurés, considérée comme une empreinte globale du système, sans identifier un composé chimique ou paramètre spécifique, pour détecter les dysfonctionnements dans le processus. Elles reposent sur le contrôle statistique de procédé appelé Multivariate Statistical Process Control (MSPC). La MSPC permet d'extraire des informations utiles de l'état initial du procédé et de construire des statistiques pour le suivi d'un procédé. La plupart des méthodes MSPC peuvent gérer des variables corrélées et de grande dimension car elles sont capables de réduire la dimension des variables et de décomposer les corrélations entre elles. Les méthodes MSPC largement utilisées pour le contrôle de procédé sont l'Analyse en Composantes Principales (ACP) et la PLS avec la détermination de paramètres multivariés que sont la distance de Hotelling T^2 et le résidu Q (Q ou SPE pour « Square Prediction Error ») (Kourti and MacGregor, 1995).

L'objectif principal est d'évaluer le potentiel des variables initiales à prédire la stabilité du système alors que dans la première approche ces méthodes servent plutôt d'alternative aux méthodes de mesures traditionnelles, coûteuses et chronophages. La première approche pour l'analyse de variables corrélées a été développée en 1947 par Harold Hotelling avec une procédure de contrôle basée sur le concept de "distance statistique" nommée la statistique T^2 de Hotelling. Le T^2 représente la structure de covariance d'une distribution normale multivariée et peut être vu comme une généralisation du test de Student. Il bénéficie des mêmes avantages que ce dernier, à savoir une bonne robustesse lorsque l'hypothèse de normalité des données n'est pas respectée mais au contraire une perte de robustesse lorsque l'hypothèse d'homoscédasticité ne l'est pas. Alors que le T^2 fournit une indication sur une potentielle variabilité inhabituelle dans le sous-espace défini par les variables latentes, le résidu Q représente les variations non expliquées par les variables latentes conservées (Joe Qin, 2003). Ces deux paramètres statistiques permettent de définir les limites du procédé en conditions de fonctionnement idéal et servent de cartes de contrôle pour la prédiction ou la détection d'éventuels futurs dysfonctionnements dans les procédés suivis.

Au sein de toutes ces méthodes, celles qui nous intéressent particulièrement sont celles permettant le suivi de processus temporels et multimodaux (Figure 5). En effet, elles semblent particulièrement adaptées à notre problématique à savoir le suivi dans le temps d'un processus complexe impliquant de multiples phénomènes et interactions. Parmi celles-ci on peut en particulier citer les méthodes adaptatives récursives, les approches multi-modèles, les méthodes par modélisation douce, celles par

modèle local ou encore les méthodes robustes. Chacune de ces approches possède des avantages et inconvénients qui sont rassemblés dans la table 1.

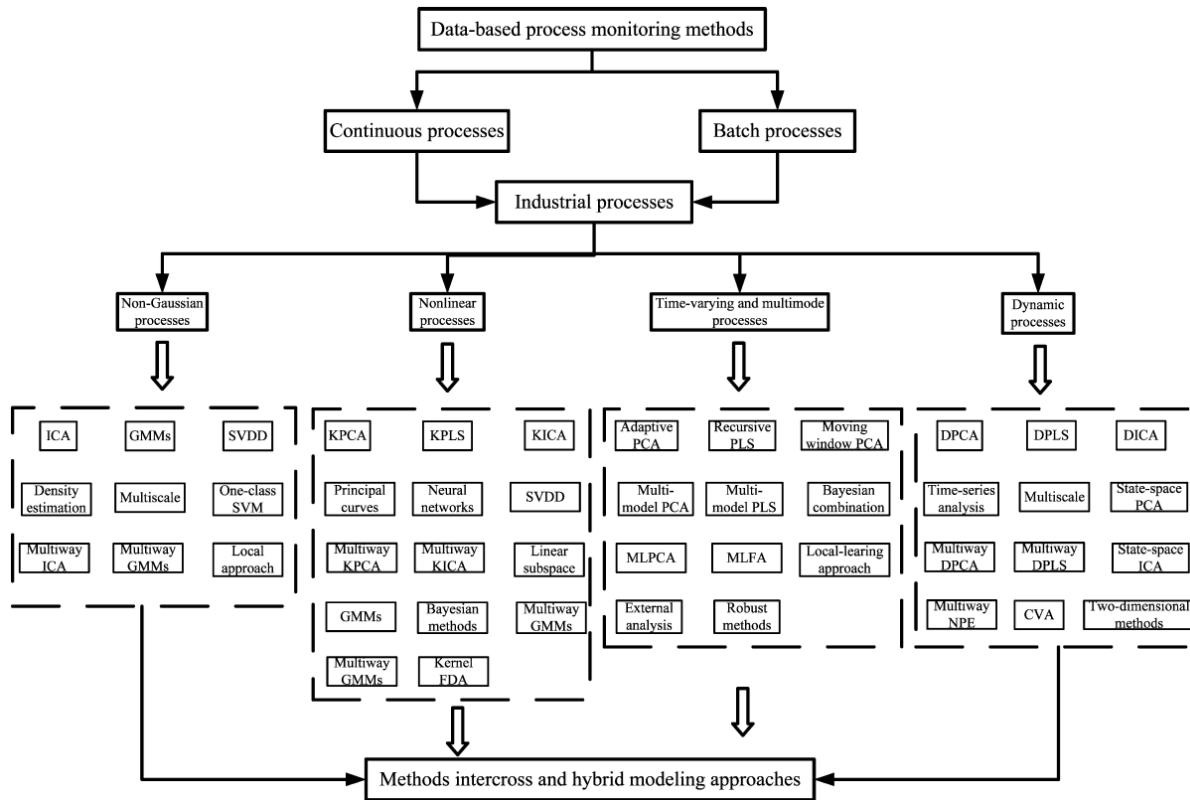


Figure 5 : Schéma de présentation des différentes méthodes de surveillance des processus basées sur les données (d'après Ge et al., 2013)

Ainsi, cette comparaison nous permet d'orienter notre choix vers les méthodes adaptatives et récurrentes. En effet, ces dernières offrent une facilité d'application du modèle et sont par ailleurs adaptées aux processus lents. Par ailleurs, elles permettent une interprétation aisée des résultats obtenus. Garder le modèle aveugle peut être intéressant dans certains processus où la recherche d'alertes ne se limite pas à une seule alerte. En effet, dans de la fabrication d'un médicament, une seule alerte signifie que le médicament ne se construit pas correctement. Chez les plantes, les processus sont complexes et longs dans le temps, donc peuvent présenter des séries de changements ou d'alertes. Au sein de ces méthodes, il faut encore choisir une des méthodes parmi la RPCA (Recursive Principal Component Analysis), la MWPCA (Mowing Window PCA), la MLPCA (Maximum Likelihood PCA). D'après la littérature, la MWPCA est la méthode la plus adaptée à tout type de données (Schmitt et al., 2016). C'est donc cette méthode que nous avons décidé de privilégier lors de nos travaux.

Table 1 : Comparaison des méthodes de suivi de processus temporelle et multimodale.

Méthodes	Avantages	Désavantages
Méthode adaptive/réursive (« adaptive/recursive methods »)	<ul style="list-style-type: none"> - Suivi des processus lent facilité - Structure de modèle stable - Interprétation facile 	<ul style="list-style-type: none"> - Mise à jour du modèle aveugle (pas de prise en compte des alertes) - Peut-être plus difficile sur des changements rapides
Méthodes multimodèles (« multimodel methods »)	<ul style="list-style-type: none"> - Chaque modèle est adapté à un type de conditions précises 	<ul style="list-style-type: none"> - Beaucoup de construction de modèle - Besoin d'une sélection du meilleur modèle si on veut faire du 'online'
Modélisation douce (« soft modeling methods »)	<ul style="list-style-type: none"> - Un seul modèle - Interprétation facile 	<ul style="list-style-type: none"> - Très forte complexité de modèle - Modèle supervisée avec un besoin de grand jeu d'entraînement
Méthodes locales (« local-learning methods »)	<ul style="list-style-type: none"> - Modèle flexible (non dépendant du type de données) - Nouveaux changements facilement incorporables 	<ul style="list-style-type: none"> - Capacité de calcul importante - Modèle très dépendant du nombre d'échantillons
Méthodes robustes (« robust modelling methods »)	<ul style="list-style-type: none"> - Structure du modèle flexible 	<ul style="list-style-type: none"> - Interprétation difficile du modèle quand le processus se complexifie

4. Questions scientifiques et présentation des chapitres de la thèse

Fort de ce constat nous avons choisi comme modèle d'étude le blé dur qui est une plante d'intérêt agronomique mais qui sert également de modèle de laboratoire à deux des équipes du projet : GE2POP

pour la caractérisation du processus de sénescence (Vilmus, 2013) et MOMIE pour la caractérisation de la résistance aux maladies fongiques (Ballini et al., 2020). Ces deux processus seront plus largement présentés dans les chapitres 2 et 3 mais ils présentent l'intérêt de posséder plusieurs points communs. Ce sont des processus complexes qui représentent la mise en œuvre de diverses voies métaboliques. Dans chacun de ces deux processus des dynamiques de sénescence via la chlorophylle, l'azote, les modifications de la teneur en eau sont présentes. Le premier processus de la sénescence a été assez finement caractérisé au sein de GE2POP via des modèles (Vilmus et al., 2014) et les jeux de données disponibles nous permettraient de répondre à notre première question en comparant cette caractérisation avec l'approche d'analyse proposée dans cette thèse:

- ❖ Est-il possible de caractériser un processus complexe par une mesure spectrale et exploitée à partir de la MWPCA ? Application à la sénescence du blé dur.

Ce premier jeu de données a été acquis dans le cadre de la thèse d'Ingrid Vilmus en 2013 à partir d'un capteur ASD. Dans le cadre de cette thèse, nous souhaitons également compléter cette question en utilisant des technologies de prises d'images plus complexes *via* une imagerie hyperspectrale de type VNIR et SWIR. L'intérêt de ce type de prise d'image est la possibilité d'accéder, outre à une information spectrale, à une information spatiale sur la donnée. Dans ce cas, nous avons choisi comme modèle l'analyse des interactions blé-septoriose qui présente l'intérêt d'être un processus partiellement similaire à la sénescence pour laquelle nous espérons valider précédemment notre méthode, mais ce processus est spatialisé. En effet, les spores germent de manière aléatoire sur la surface de la feuille et la réaction de la plante est variable dans sa temporalité aux différents sites d'infection. Concrètement, l'apparition des symptômes de la maladie sur la surface de la feuille est alors spatialisée et l'image hyperspectrale est alors l'image de l'hétérogénéité de ce processus qui associe spatialement des zones de feuilles encore saines avec d'autres infectées qui n'expriment pas encore de symptômes de nécroses. L'utilisation de ces données devait nous permettre de répondre à notre deuxième question :

- ❖ Comment intégrer l'information spatiale pour améliorer la caractérisation d'un processus complexe ? Application à la septoriose du blé dur

Dans cette thèse nous allons donner des éléments de réponse à ces deux questions au sein de deux chapitres. Le premier chapitre se concentrera sur l'utilisation de la MWPCA sur des données acquises avec un spectroscope proche infra-rouge avec, pour modèle d'étude, la sénescence du blé dur. Le deuxième chapitre est lui-même divisé en deux sections. La première section se concentre sur l'utilisation de la MWPCA avec un imageur hyperspectral avec, pour modèle d'étude, l'infection par la septoriose du blé dur sans prendre en compte l'aspect spatial. La deuxième section s'intéresse à l'exploitation de l'information spatiale acquise par l'imageur hyperspectral.

5. Références

- Abdulah, S., Alamri, F., Nag, P., Sun, Y., Ltaief, H., Keyes, D.E., Genton, M.G., 2022. The Second Competition on Spatial Statistics for Large Datasets.
- Aboukhaddour, R., Fetch, T., McCallum, B.D., Harding, M.W., Beres, B.L., Graf, R.J., 2020. Wheat diseases on the prairies: A Canadian story. *Plant Pathol* 69, 418–432. <https://doi.org/10.1111/ppa.13147>
- Alappat, B., Alappat, J., 2020. Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. *Molecules* 25, 5500. <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>
- Anderegg, J., Aasen, H., Perich, G., Roth, L., Walter, A., Hund, A., 2021. Temporal trends in canopy temperature and greenness are potential indicators of late-season drought avoidance and functional stay-green in wheat. *Field Crops Research* 274, 108311. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108311>
- Anderegg, J., Hund, A., Karisto, P., Mikaberidze, A., 2019. In-Field Detection and Quantification of Septoria Tritici Blotch in Diverse Wheat Germplasm Using Spectral–Temporal Features. *Front. Plant Sci.* 10, 1355. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01355>
- Anderegg, J., Yu, K., Aasen, H., Walter, A., Liebisch, F., Hund, A., 2020a. Spectral Vegetation Indices to Track Senescence Dynamics in Diverse Wheat Germplasm. *Front. Plant Sci.* 10, 1749. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01749>
- Anderegg, J., Yu, K., Aasen, H., Walter, A., Liebisch, F., Hund, A., 2020b. Spectral Vegetation Indices to Track Senescence Dynamics in Diverse Wheat Germplasm. *Front. Plant Sci.* 10, 1749. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01749>
- Araus, J.L., Kefauver, S.C., Zaman-Allah, M., Olsen, M.S., Cairns, J.E., 2018. Translating High-Throughput Phenotyping into Genetic Gain. *Trends in Plant Science* 23, 451–466. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.02.001>
- Araus, J.L., Labrana, X., 1991. Leaf photosynthesis and chloroplast senescence patterns in wheat flag leaves during grain filling. *Photosynthetica (Praha)* 25, 33–37.
- Arens, N., Backhaus, A., Döll, S., Fischer, S., Seiffert, U., Mock, H.-P., 2016. Non-invasive Presymptomatic Detection of *Cercospora beticola* Infection and Identification of Early Metabolic Responses in Sugar Beet. *Front. Plant Sci.* 07. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01377>
- Arvidsson, S., Pérez-Rodríguez, P., Mueller-Roeber, B., 2011. A growth phenotyping pipeline for *Arabidopsis thaliana* integrating image analysis and rosette area modeling for robust

- quantification of genotype effects. *New Phytologist* 191, 895–907. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03756.x>
- Awhangbo, L., Bendoula, R., Roger, J.M., Béline, F., 2020. Fault detection with moving window PCA using NIRS spectra for monitoring the anaerobic digestion process. *Water Science and Technology* 81, 367–382. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.117>
- Azawi, H., Saleh, M.S., 2021. Review of the Kriging Technique Applications to Groundwater Quality. *jcoeng* 27, 23–32. <https://doi.org/10.31026/j.eng.2021.12.03>
- Ballini, E., Tavaud, M., Ducasse, A., Sanchez, D., Paux, E., Kitt, J., Charmet, G., Audigeos, D., Roumet, P., David, J., Morel, J.-B., 2020. Genome wide association mapping for resistance to multiple fungal pathogens in a panel issued from a broad composite cross-population of tetraploid wheat *Triticum turgidum*. *Euphytica* 216, 92. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02631-9>
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S., Lister, S.J., 1989. Standard Normal Variate Transformation and De-Trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra. *Appl Spectrosc* 43, 772–777. <https://doi.org/10.1366/0003702894202201>
- Bebronne, R., Carlier, A., Meurs, R., Leemans, V., Vermeulen, P., Dumont, B., Mercatoris, B., 2020. In-field proximal sensing of septoria tritici blotch, stripe rust and brown rust in winter wheat by means of reflectance and textural features from multispectral imagery. *Biosystems Engineering* 197, 257–269. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.06.011>
- Behmann, J., Bohnenkamp, D., Paulus, S., Mahlein, A.-K., 2018. Spatial Referencing of Hyperspectral Images for Tracing of Plant Disease Symptoms. *J. Imaging* 4, 143. <https://doi.org/10.3390/jimaging4120143>
- Bertrand, D., Dufour, E., 2006. *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Lavoisier.
- Blackman, E., 1971. The Morphology and Development of Cross Veins in the Leaves of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany* 35, 653–665. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084510>
- Bogard, M., Jourdan, M., Allard, V., Martre, P., Perretant, M.R., Ravel, C., Heumez, E., Orford, S., Snape, J., Griffiths, S., Gaju, O., Foulkes, J., Le Gouis, J., 2011. Anthesis date mainly explained correlations between post-anthesis leaf senescence, grain yield, and grain protein concentration in a winter wheat population segregating for flowering time QTLs. *Journal of Experimental Botany* 62, 3621–3636. <https://doi.org/10.1093/jxb/err061>

- Bohnenkamp, D., 2020. Hyperspectral in-field sensing of foliar diseases of wheat 158.
- Bohnenkamp, D., Behmann, J., Paulus, S., Steiner, U., Mahlein, A.-K., 2021a. A Hyperspectral Library of Foliar Diseases of Wheat. *Phytopathology*® 111, 1583–1593. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-19-0335-R>
- Bohnenkamp, D., Behmann, J., Paulus, S., Steiner, U., Mahlein, A.-K., 2021b. A Hyperspectral Library of Foliar Diseases of Wheat. *Phytopathology*® 111, 1583–1593. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-19-0335-R>
- Börjesson, T., Stenberg, B., Schnürer, J., 2007. Near-infrared spectroscopy for estimation of ergosterol content in barley: A comparison between reflectance and transmittance techniques. *Cereal chemistry* 84, 231–236.
- Brown, J.K.M., Chartrain, L., Lasserre-Zuber, P., Saintenac, C., 2015. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genetics and Biology* 79, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.017>
- Camargo, A.V., Mott, R., Gardner, K.A., Mackay, I.J., Corke, F., Doonan, J.H., Kim, J.T., Bentley, A.R., 2016. Determining Phenological Patterns Associated with the Onset of Senescence in a Wheat MAGIC Mapping Population. *Front. Plant Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01540>
- Camargo Rodriguez, A.V., 2021. Integrative Modelling of Gene Expression and Digital Phenotypes to Describe Senescence in Wheat. *Genes* 12, 909. <https://doi.org/10.3390/genes12060909>
- Chapman, E.A., Orford, S., Lage, J., Griffiths, S., 2021. Capturing and Selecting Senescence Variation in Wheat. *Front. Plant Sci.* 12, 638738. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.638738>
- Chatterton, N.J., Lee, D.R., Hungerford, W.E., 1972. Diurnal Change in Specific Leaf Weight of *Medicago sativa* L. and *Zea mays* L. ¹. *Crop Sci.* 12, 576–578. <https://doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183X001200050008x>
- Christopher, J.T., Veyradier, M., Borrell, A.K., Harvey, G., Fletcher, S., Chenu, K., 2014. Phenotyping novel stay-green traits to capture genetic variation in senescence dynamics. *Functional Plant Biol.* 41, 1035. <https://doi.org/10.1071/FP14052>
- Cobb, J.N., DeClerck, G., Greenberg, A., Clark, R., McCouch, S., 2013. Next-generation phenotyping: requirements and strategies for enhancing our understanding of genotype–phenotype relationships and its relevance to crop improvement. *Theor Appl Genet* 126, 867–887. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2066-0>

- Costa, C., Schurr, U., Loreto, F., Menesatti, P., Carpentier, S., 2019. Plant Phenotyping Research Trends, a Science Mapping Approach. *Front. Plant Sci.* 9, 1933. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01933>
- Crandall, S.G., Gold, K.M., Jiménez-Gasco, M. del M., Filgueiras, C.C., Willett, D.S., 2020. A multi-omics approach to solving problems in plant disease ecology. *PLoS ONE* 15, e0237975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237975>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., Tavaud-Pirra, M., 2014. Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Mol Breeding* 34, 1531–1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Deery, D.M., Jones, H.G., 2021. Field Phenomics: Will It Enable Crop Improvement? *Plant Phenomics* 2021, 1–16. <https://doi.org/10.34133/2021/9871989>
- Delalieux, S., Somers, B., Verstraeten, W.W., van Aardt, J.A.N., Keulemans, W., Coppin, P., 2009. Hyperspectral indices to diagnose leaf biotic stress of apple plants, considering leaf phenology. *International Journal of Remote Sensing* 30, 1887–1912. <https://doi.org/10.1080/01431160802541556>
- Devadas, R., Lamb, D.W., Backhouse, D., Simpfendorfer, S., 2015. Sequential application of hyperspectral indices for delineation of stripe rust infection and nitrogen deficiency in wheat. *Precision Agric* 16, 477–491. <https://doi.org/10.1007/s11119-015-9390-0>
- Distelfeld, A., Avni, R., Fischer, A.M., 2014. Senescence, nutrient remobilization, and yield in wheat and barley. *Journal of Experimental Botany* 65, 3783–3798. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert477>
- Dowell, F., Ram, M., Seitz, L., 1999. Predicting scab, vomitoxin, and ergosterol in single wheat kernels using near-infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry* 76, 573–576.
- Duba, A., Goriewa-Duba, K., Wachowska, U., 2018. A Review of the Interactions between Wheat and Wheat Pathogens: *Zymoseptoria tritici*, *Fusarium* spp. and *Parastagonospora nodorum*. *IJMS* 19, 1138. <https://doi.org/10.3390/ijms19041138>
- Ecarnot, M., Compan, F., Roumet, P., 2013. Assessing leaf nitrogen content and leaf mass per unit area of wheat in the field throughout plant cycle with a portable spectrometer. *Field Crops Research* 140, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.10.013>
- Falana, O.B., Durodola, O.I., 2022. Multimodal Remote Sensing and Machine Learning for Precision Agriculture: A Review. *JERR* 30–34. <https://doi.org/10.9734/jerr/2022/v23i8740>

- Fantozzi, E., Kilaru, S., Gurr, S.J., Steinberg, G., 2021. Asynchronous development of *Zymoseptoria tritici* infection in wheat. *Fungal Genetics and Biology* 146, 103504. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103504>
- Femenias, A., Gatius, F., Ramos, A.J., Sanchis, V., Marín, S., 2021. Near-infrared hyperspectral imaging for deoxynivalenol and ergosterol estimation in wheat samples. *Food Chemistry* 341, 128206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128206>
- Fiorani, F., Schurr, U., 2013. Future Scenarios for Plant Phenotyping. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 267–291. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120137>
- Flavel, R.J., Guppy, C.N., Tighe, M., Watt, M., McNeill, A., Young, I.M., 2012. Non-destructive quantification of cereal roots in soil using high-resolution X-ray tomography. *Journal of Experimental Botany* 63, 2503–2511. <https://doi.org/10.1093/jxb/err421>
- Fones, H., Gurr, S., 2015. The impact of *Septoria tritici* Blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genetics and Biology* 79, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.004>
- Francesconi, S., 2022. High-throughput and point-of-care detection of wheat fungal diseases: Potentialities of molecular and phenomics techniques toward in-field applicability. *Front. Agron.* 4, 980083. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.980083>
- Furbank, R.T., Tester, M., 2011. Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science* 16, 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.09.005>
- Gausman, D.H., 1974. Leaf Reflectance of Near-Infrared. *Photogramm Eng* 40, 183–91.
- Gelang, J., 2000. Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone. *Physiol. Plant.* 10.
- Ghaffary, S.M.T., Chawade, A., Singh, P.K., 2018. Practical breeding strategies to improve resistance to *Septoria tritici* blotch of wheat. *Euphytica* 214, 122. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2205-4>
- Gitelson, A., Merzlyak, M.N., 1994. Spectral Reflectance Changes Associated with Autumn Senescence of *Aesculus hippocastanum* L. and *Acer platanoides* L. Leaves. Spectral Features and Relation to Chlorophyll Estimation. *J. Plant Physiol* 143, 286–292.
- Golzarian, M.R., Frick, R.A., Rajendran, K., Berger, B., Roy, S., Tester, M., Lun, D.S., 2011. Accurate inference of shoot biomass from high-throughput images of cereal plants. *Plant Methods* 7, 2. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-7-2>

- Gustafson, P., Raskina, O., Ma, X., Nevo, E., 2009. Wheat Evolution, Domestication, and Improvement, in: Carver, B.F. (Ed.), *Wheat Science and Trade*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 3–30. <https://doi.org/10.1002/9780813818832.ch1>
- Haimi, H., Mulas, M., Corona, F., Marsili-Libelli, S., Lindell, P., Heinonen, M., Vahala, R., 2016. Adaptive data-derived anomaly detection in the activated sludge process of a large-scale wastewater treatment plant. *Engineering Applications of Artificial Intelligence* 52, 65–80. <https://doi.org/10.1016/j.engappai.2016.02.003>
- Hauelsen, J., Möller, M., Eschenbrenner, C.J., Grandaubert, J., Seybold, H., Adamiak, H., Stukenbrock, E.H., 2019. Highly flexible infection programs in a specialized wheat pathogen. *Ecol Evol* 9, 275–294. <https://doi.org/10.1002/ece3.4724>
- Hellmann, C., Große-Stoltenberg, A., Lauströ, V., Oldeland, J., Werner, C., 2015. Retrieving nitrogen isotopic signatures from fresh leaf reflectance spectra: disentangling $\delta^{15}\text{N}$ from biochemical and structural leaf properties. *Front. Plant Sci.* 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00307>
- Hillnhütter, C., Mahlein, A.-K., Sikora, R.A., Oerke, E.-C., 2012. Use of imaging spectroscopy to discriminate symptoms caused by *Heterodera schachtii* and *Rhizoctonia solani* on sugar beet. *Precision Agric* 13, 17–32. <https://doi.org/10.1007/s11119-011-9237-2>
- Jannink, J.-L., Lorenz, A.J., Iwata, H., 2010. Genomic selection in plant breeding: from theory to practice. *Briefings in Functional Genomics* 9, 166–177. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elq001>
- Joe Qin, S., 2003. Statistical process monitoring: basics and beyond. *J. Chemometrics* 17, 480–502. <https://doi.org/10.1002/cem.800>
- Jørgensen, L.N., Oliver, R.P., Heick, T.M., 2018. Occurrence and avoidance of fungicide resistance in cereal diseases, in: *Integrated Disease Management of Wheat and Barley*. Burleigh Dodds Science Publishing, pp. 255–280.
- Keon, J., Antoniw, J., Carzaniga, R., Deller, S., Ward, J.L., Baker, J.M., Beale, M.H., Hammond-Kosack, K., Rudd, J.J., 2007. Transcriptional Adaptation of *Mycosphaerella graminicola* to Programmed Cell Death (PCD) of Its Susceptible Wheat Host. *MPMI* 20, 178–193. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-2-0178>
- Kirby, E., 2002. Botany of the wheat plant. Bread wheat improvement and production. *FAO Plant production and protection series* 30–52.
- Kourti, T., MacGregor, J.F., 1995. Process analysis, monitoring and diagnosis, using multivariate projection methods. *Chemometrics and intelligent laboratory systems* 28, 3–21.

- Kumar, D.R., Singh, R.K., Panda, D.A., Singh, S.K., 2021. Nano Urea: An Efficient Tool for Precision Agriculture and Sustainability 2, 3.
- Kumar, P., Huang, C., Cai, J., Miklavcic, S.J., 2014. Root phenotyping by root tip detection and classification through statistical learning. *Plant Soil* 380, 193–209. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2071-3>
- Kuska, M.T., Behmann, J., Großkinsky, D.K., Roitsch, T., Mahlein, A.-K., 2018. Screening of Barley Resistance Against Powdery Mildew by Simultaneous High-Throughput Enzyme Activity Signature Profiling and Multispectral Imaging. *Front. Plant Sci.* 9, 1074. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01074>
- Lehmann, J., Große-Stoltenberg, A., Römer, M., Oldeland, J., 2015. Field Spectroscopy in the VNIR-SWIR Region to Discriminate between Mediterranean Native Plants and Exotic-Invasive Shrubs Based on Leaf Tannin Content. *Remote Sensing* 7, 1225–1241. <https://doi.org/10.3390/rs70201225>
- Lev-Yadun, S., Gould, K.S., 2008. Role of Anthocyanins in Plant Defence, in: Winefield, C., Davies, K., Gould, K. (Eds.), *Anthocyanins*. Springer New York, New York, NY, pp. 22–28. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3_2
- Li, L., Zhang, Q., Huang, D., 2014. A Review of Imaging Techniques for Plant Phenotyping. *Sensors* 14, 20078–20111. <https://doi.org/10.3390/s141120078>
- Lim, P.O., Kim, H.J., Gil Nam, H., 2007. Leaf Senescence. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 115–136. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105316>
- Lopes, M.S., Saglam, D., Ozdogan, M., Reynolds, M., 2014. Traits associated with winter wheat grain yield in Central and West Asia: Drought and heat adaptation in winter wheat. *J. Integr. Plant Biol.* 56, 673–683. <https://doi.org/10.1111/jipb.12172>
- López, M.M., Bertolini, E., Olmos, A., Caruso, P., Gorris, M.T., Llop, P., Penyalver, R., Cambra, M., 2003. Innovative tools for detection of plant pathogenic viruses and bacteria. *Int Microbiol* 6, 233–243. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0143-y>
- Lovell, D.J., Hunter, T., Powers, S.J., Parker, S.R., Van den Bosch, F., 2004. Effect of temperature on latent period of septoria leaf blotch on winter wheat under outdoor conditions. *Plant Pathology* 53, 170–181. <https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.00983.x>
- Lowe, A., Harrison, N., French, A.P., 2017. Hyperspectral image analysis techniques for the detection and classification of the early onset of plant disease and stress. *Plant Methods* 13, 80. <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0233-z>

- Lu, B., Dao, P., Liu, J., He, Y., Shang, J., 2020. Recent Advances of Hyperspectral Imaging Technology and Applications in Agriculture. *Remote Sensing* 12, 2659. <https://doi.org/10.3390/rs12162659>
- Ma, D., Yuan, Y., Wang, Q., 2018. Hyperspectral Anomaly Detection via Discriminative Feature Learning with Multiple-Dictionary Sparse Representation. *Remote Sensing* 10, 745. <https://doi.org/10.3390/rs10050745>
- Mahlein, A.-K., 2016. Plant Disease Detection by Imaging Sensors – Parallels and Specific Demands for Precision Agriculture and Plant Phenotyping. *Plant Disease* 100, 241–251. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0340-FE>
- Mahlein, A.-K., Kuska, M.T., Thomas, S., Wahabzada, M., Behmann, J., Rascher, U., Kersting, K., 2019. Quantitative and qualitative phenotyping of disease resistance of crops by hyperspectral sensors: seamless interlocking of phytopathology, sensors, and machine learning is needed! *Current Opinion in Plant Biology* 50, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.06.007>
- Mahlein, A.-K., Steiner, U., Dehne, H.-W., Oerke, E.-C., 2010. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. *Precision Agric* 11, 413–431. <https://doi.org/10.1007/s11119-010-9180-7>
- Makdessi, N.A., Jean, P.-A., Ecarnot, M., Gorretta, N., Rabatel, G., Roumet, P., 2017. How plant structure impacts the biochemical leaf traits assessment from in-field hyperspectral images: A simulation study based on light propagation modeling in 3D virtual wheat scenes. *Field Crops Research* 205, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.001>
- Manning, K.S., Cooper, T.A., 2017. The roles of RNA processing in translating genotype to phenotype. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18, 102–114. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.139>
- Martens, H., Naes, T., 1989. *Multivariate Calibration*, Wiley. ed. New-York.
- Martinelli, F., Scalenghe, R., Davino, S., Panno, S., Scuderi, G., Ruisi, P., Villa, P., Stroppiana, D., Boschetti, M., Goulart, L.R., Davis, C.E., Dandekar, A.M., 2015. Advanced methods of plant disease detection. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 1–25. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0246-1>
- McCartney, C.A., Somers, D.J., Fedak, G., Cao, W., 2004. Haplotype diversity at fusarium head blight resistance QTLs in wheat. *Theor Appl Genet* 109, 261–271. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1640-x>
- Menzel, M.I., Tittmann, S., Bühler, J., Preis, S., Wolters, N., Jahnke, S., Walter, A., Chlubek, A., Leon, A., Hermes, N., Offenhäuser, A., Gilmer, F., Blümmler, P., Schurr, U., Krause,

- H.-J., 2009. Non-invasive determination of plant biomass with microwave resonators. *Plant, Cell & Environment* 32, 368–379. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01931.x>
- Mitra, D., 2021. Emerging Plant Diseases: Research Status and Challenges, in: Singh, K.P., Jahagirdar, S., Sarma, B.K. (Eds.), *Emerging Trends in Plant Pathology*. Springer Singapore, Singapore, pp. 1–17. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6275-4_1
- Monforte, A.J., Diaz, A., Caño-Delgado, A., van der Knaap, E., 2013. The genetic basis of fruit morphology in horticultural crops: lessons from tomato and melon. *Journal of Experimental Botany* 65, 4625–4637. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru017>
- Montazeaud, G., Karatoğma, H., Öztürk, I., Roumet, P., Ecartot, M., Crossa, J., Özer, E., Özdemir, F., Lopes, M.S., 2016. Predicting wheat maturity and stay-green parameters by modeling spectral reflectance measurements and their contribution to grain yield under rainfed conditions. *Field Crops Research* 196, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.06.021>
- Morel, J., Jay, S., Féret, J.-B., Bakache, A., Bendoula, R., Carreel, F., Gorretta, N., 2018. Exploring the potential of PROCOSINE and close-range hyperspectral imaging to study the effects of fungal diseases on leaf physiology. *Sci Rep* 8, 15933. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34429-0>
- Mur, L.A.J., Kenton, P., Lloyd, A.J., Ougham, H., Prats, E., 2008. The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? *J. Exp. Bot.* 59, 501–520. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm239>
- Næs, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T., 2002. *A user-friendly guide to multivariate calibration and classification*. NIR Chichester.
- Nagasubramanian, K., Jones, S., Singh, A.K., Sarkar, S., Singh, A., Ganapathysubramanian, B., 2019. Plant disease identification using explainable 3D deep learning on hyperspectral images. *Plant Methods* 15, 98. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0479-8>
- Odilbekov, F., Armoniené, R., Henriksson, T., Chawade, A., 2018. Proximal Phenotyping and Machine Learning Methods to Identify Septoria Tritici Blotch Disease Symptoms in Wheat. *Front. Plant Sci.* 9, 685. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00685>
- Oerke, E.-C., 2006. Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* 144, 31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Osman, S.O.M., Saad, A.S.I., Tadano, S., Takeda, Y., Yamasaki, Y., Tahir, I.S.A., Tsujimoto, H., Akashi, K., 2022. Probing Differential Metabolome Responses among Wheat

- Genotypes to Heat Stress Using Fourier Transform Infrared-Based Chemical Fingerprinting. *Agriculture* 12, 753. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060753>
- Pichon, L., Bopp, O., Tisseyre, B., 2021. Pichon, L., Bopp, O., & Tisseyre, B. Characterising the within-field variability of vine water status with simple visual, in: *Precision Agriculture'21*. pp. 17–27.
- Pimentel, D., Zuniga, R., Morrison, D., 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* 52, 273–288. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2004.10.002>
- R Development Core Team, 2012. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Radočaj, D., Jurišić, M., Gašparović, M., 2022. The Role of Remote Sensing Data and Methods in a Modern Approach to Fertilization in Precision Agriculture. *Remote Sensing* 14, 778. <https://doi.org/10.3390/rs14030778>
- Reynolds, M., Chapman, S., Crespo-Herrera, L., Molero, G., Mondal, S., Pequeno, D.N.L., Pinto, F., Pinera-Chavez, F.J., Poland, J., Rivera-Amado, C., Saint Pierre, C., Sukumaran, S., 2020. Breeder friendly phenotyping. *Plant Science* 295, 110396. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110396>
- Rincent, R., Charpentier, J.-P., Faivre-Rampant, P., Paux, E., Le Gouis, J., Bastien, C., Segura, V., 2018. Phenomic Selection Is a Low-Cost and High-Throughput Method Based on Indirect Predictions: Proof of Concept on Wheat and Poplar. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 8, 3961–3972. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200760>
- Robert, C., Garin, G., Abichou, M., Houlès, V., Pradal, C., Fournier, C., 2018. Plant architecture and foliar senescence impact the race between wheat growth and *Zymoseptoria tritici* epidemics. *Annals of Botany* 121, 975–989. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx192>
- Roitsch, T., Cabrera-Bosquet, L., Fournier, A., Ghamkhar, K., Jiménez-Berni, J., Pinto, F., Ober, E.S., 2019. Review: New sensors and data-driven approaches—A path to next generation phenomics. *Plant Science* 282, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.011>
- Rouse Jr, J.W., Haas, R.H., Deering, D.W., Schell, J.A., Harlan, J.C., 1974. Monitoring the Vernal Advancement and Retrogradation (Green Wave Effect) of Natural Vegetation. No. E75-10354.
- Sánchez-Vallet, A., Mesters, J.R., Thomma, B.P.H.J., 2015. The battle for chitin recognition in plant-microbe interactions. *FEMS Microbiology Reviews* 39, 171–183. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu003>

- Sankaran, S., Mishra, A., Ehsani, R., Davis, C., 2010. A review of advanced techniques for detecting plant diseases. *Computers and Electronics in Agriculture* 72, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.02.007>
- Savary, S., Stetkiewicz, S., Brun, F., Willocquet, L., 2015. Modelling and mapping potential epidemics of wheat diseases—examples on leaf rust and *Septoria tritici* blotch using EPIWHEAT. *Eur J Plant Pathol* 142, 771–790. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0650-7>
- Savitzky, Abraham., Golay, M.J.E., 1964. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Anal. Chem.* 36, 1627–1639. <https://doi.org/10.1021/ac60214a047>
- Schmitt, E., Rato, T., De Ketelaere, B., Reis, M., Hubert, M., 2016. Parameter selection guidelines for adaptive PCA-based control charts: Parameter selection guidelines for adaptive PCA-based control charts. *J. Chemometrics* 30, 163–176. <https://doi.org/10.1002/cem.2783>
- Sharma, A., Jain, A., Gupta, P., Chowdary, V., 2021. Machine Learning Applications for Precision Agriculture: A Comprehensive Review. *IEEE Access* 9, 4843–4873. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3048415>
- Shetty, N., Gislum, R., 2011. Quantification of fructan concentration in grasses using NIR spectroscopy and PLSR. *Field Crops Research* 120, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.08.008>
- Shetty, N.P., Jensen, J.D., Knudsen, A., Finnie, C., Geshi, N., Blennow, A., Collinge, D.B., Jorgensen, H.J.L., 2009. Effects of -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat. *Journal of Experimental Botany* 60, 4287–4300. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp269>
- Simón, M.R., Börner, A., Struik, P.C., 2021. Editorial: Fungal Wheat Diseases: Etiology, Breeding, and Integrated Management. *Front. Plant Sci.* 12, 671060. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.671060>
- Singh, R.P., Singh, P.K., Rutkoski, J., Hodson, D.P., He, X., Jørgensen, L.N., Hovmøller, M.S., Huerta-Espino, J., 2016. Disease Impact on Wheat Yield Potential and Prospects of Genetic Control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 54, 303–322. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095835>
- Sishodia, R.P., Ray, R.L., Singh, S.K., 2020. Applications of Remote Sensing in Precision Agriculture: A Review. *Remote Sensing* 12, 3136. <https://doi.org/10.3390/rs12193136>

- Somers, D.J., Isaac, P., Edwards, K., 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109, 1105–1114. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1740-7>
- Sultana, N., Islam, S., Juhasz, A., Ma, W., 2021. Wheat leaf senescence and its regulatory gene network. *The Crop Journal* 9, 703–717. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.01.004>
- Taiti, C., Costa, C., Menesatti, P., Comparini, D., Bazihizina, N., Azzarello, E., Masi, E., Mancuso, S., 2015. Class-modeling approach to PTR-TOFMS data: a peppers case study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95, 1757–1763.
- Thomas, H., Howarth, C.J., 2000. Five ways to stay green. *Journal of Experimental Botany* 51, 329–337. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.suppl_1.329
- Tosi, S., Sfeir, C., Carnesecchi, E., Chauzat, M.-P., others, 2022. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. *Science of The Total Environment* 156857.
- Vicente, R., Pérez, P., Martínez-Carrasco, R., Usadel, B., Kostadinova, S., Morcuende, R., 2015. Quantitative RT–PCR platform to measure transcript levels of C and N metabolism-related genes in durum wheat: transcript profiles in elevated [CO₂] and high temperature at different levels of N supply. *Plant and Cell Physiology* 56, 1556–1573.
- Vilmus, I., Ecartot, M., Verzelen, N., Roumet, P., 2014. Monitoring Nitrogen Leaf Resorption Kinetics by Near-Infrared Spectroscopy during Grain Filling in Durum Wheat in Different Nitrogen Availability Conditions. *Crop Science* 54, 284–296. <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.02.0099>
- Vimus, I., 2013. Analyse des déterminants génétiques contrôlant la résorption d’azote chez le blé dur, relations avec les paramètres quantitatifs et qualitatifs de la récolte.
- Wahabzada, M., Mahlein, A.-K., Bauckhage, C., Steiner, U., Oerke, E.-C., Kersting, K., 2015. Metro Maps of Plant Disease Dynamics—Automated Mining of Differences Using Hyperspectral Images. *PLoS ONE* 10, e0116902. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116902>
- Walter, A., Silk, W.K., Schurr, U., others, 2009. Environmental effects on spatial and temporal patterns of leaf and root growth. *Annual review of plant biology* 60, 279–304.
- Wang, S., Guan, K., Wang, Z., Ainsworth, E.A., Zheng, T., Townsend, P.A., Li, K., Moller, C., Wu, G., Jiang, C., 2021. Unique contributions of chlorophyll and nitrogen to predict crop photosynthetic capacity from leaf spectroscopy. *Journal of Experimental Botany* 72, 341–354. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa432>

- Watt, M., Fiorani, F., Usadel, B., Rascher, U., Muller, O., Schurr, U., 2020. Phenotyping: New Windows into the Plant for Breeders. *Annu. Rev. Plant Biol.* 71, 689–712. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-041124>
- Willocquet, L., Savary, S., Yuen, J., 2017. Multiscale phenotyping and decision strategies in breeding for resistance. *Trends in Plant Science* 22, 420–432.
- Wold, H., 1966. Estimation of principal components and related models by iterative least squares. *Multivariate analysis* 391–420.
- Xie, Q., Mayes, S., Sparkes, D.L., 2016. Early anthesis and delayed but fast leaf senescence contribute to individual grain dry matter and water accumulation in wheat. *Field Crops Research* 187, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.12.009>
- Yang, F., Li, W., Jørgensen, H.J.L., 2013. Transcriptional Reprogramming of Wheat and the Hemibiotrophic Pathogen *Septoria tritici* during Two Phases of the Compatible Interaction. *PLoS ONE* 8, e81606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081606>
- Yang, W., Feng, H., Zhang, X., Zhang, J., Doonan, J.H., Batchelor, W.D., Xiong, L., Yan, J., 2020. Crop Phenomics and High-Throughput Phenotyping: Past Decades, Current Challenges, and Future Perspectives. *Molecular Plant* 13, 187–214. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.01.008>
- Yu, K., Andereg, J., Mikaberidze, A., Karisto, P., Mascher, F., McDonald, B.A., Walter, A., Hund, A., 2018. Hyperspectral Canopy Sensing of Wheat *Septoria Tritici* Blotch Disease. *Front. Plant Sci.* 9, 1195. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01195>

Chapitre 2 : Sénescence et MWPCA

Le travail fait dans ce chapitre a fait l'objet d'une publication « Unsupervised analysis of NIRS spectra to assess complex plant traits: leaf senescence as a use case » dans le journal *Plant Methods* (<https://doi.org/10.1186/s13007-022-00927-6>).

1. Introduction

Des méthodes de phénotypage rapides et non destructives telles que la spectroscopie VIS-NIR sont hautement souhaitables pour documenter certains changements dans les caractéristiques au cours du temps. Des méthodes supervisées et non supervisées, qui respectivement nécessitent ou non une phase d'étalonnage, peuvent être utilisées. En effet, du fait que l'absorbance / réflectance du signal spectral dans les régions visible (VIS) et proche infrarouge (NIR) va être liée à différentes liaisons chimiques, le signal spectral VIS-NIR considéré dans sa globalité sera lié à l'état global de la matrice biologique à un temps donné. Dans ce cas, les modèles non supervisés, basés sur les informations spectrales brutes recueillies au cours du processus, seront pertinents pour documenter certains changements de la matrice au cours du temps et fournir des alertes (Awhangbo et al., 2020). Différentes méthodes non supervisées ont été proposées pour documenter ces changements, mais toutes suivent le même principe : aucun étalonnage n'est effectué sur l'ensemble des données. L'idée est de trouver des caractéristiques communes entre les spectres et de trouver des motifs cachés indiquant la présence ou l'absence de changement dans la matrice. La plupart des stratégies non supervisées sont basées sur l'analyse en composantes principales (ACP). Parmi elles, l'analyse en composantes principales à fenêtre mobile (MWPCA) a été développée pour identifier avec précision les petits changements dans la surveillance des processus (Schmitt et al., 2016).

Le processus aboutissant à la sénescence des feuilles, qui est le stade final du développement des feuilles, est un exemple de processus biologique complexe. Outre la dégradation de la chlorophylle qui est bien connue, de nombreux autres processus moléculaires et biochimiques contribuent au syndrome de sénescence (Camargo Rodriguez, 2021; Distelfeld et al., 2014). Lorsqu'une feuille entre en sénescence, de nombreux nutriments mobiles de la feuille impliqués dans différentes voies métaboliques, comme l'acquisition du carbone, l'assimilation de l'azote, sont dégradés et recyclés pour être réutilisés dans les parties supérieures toujours en croissance de la plante (feuilles plus jeunes ou organes reproducteurs en formation). Comme le contenu de nombreux composants biochimiques diminue de manière significative pendant la sénescence (Rouse et al., 1974), ce processus peut être documenté par de nombreux traits : pertes de surface verte des feuilles, déclin des capacités photosynthétiques (Lim et al., 2007) ou diminution du contenu en nutriments des feuilles tels que la chlorophylle, l'azote ou l'eau (Araus and Labrana, 1991). Quel que soit le caractère considéré, le processus de sénescence suit un schéma temporel similaire : après une phase de latence pendant laquelle la feuille maintient son activité physiologique à un niveau constant, le contenu des composants

biochimiques ou l'activité enzymatique chute de façon spectaculaire pour atteindre un second plateau avec des valeurs minimales (Figure 6).

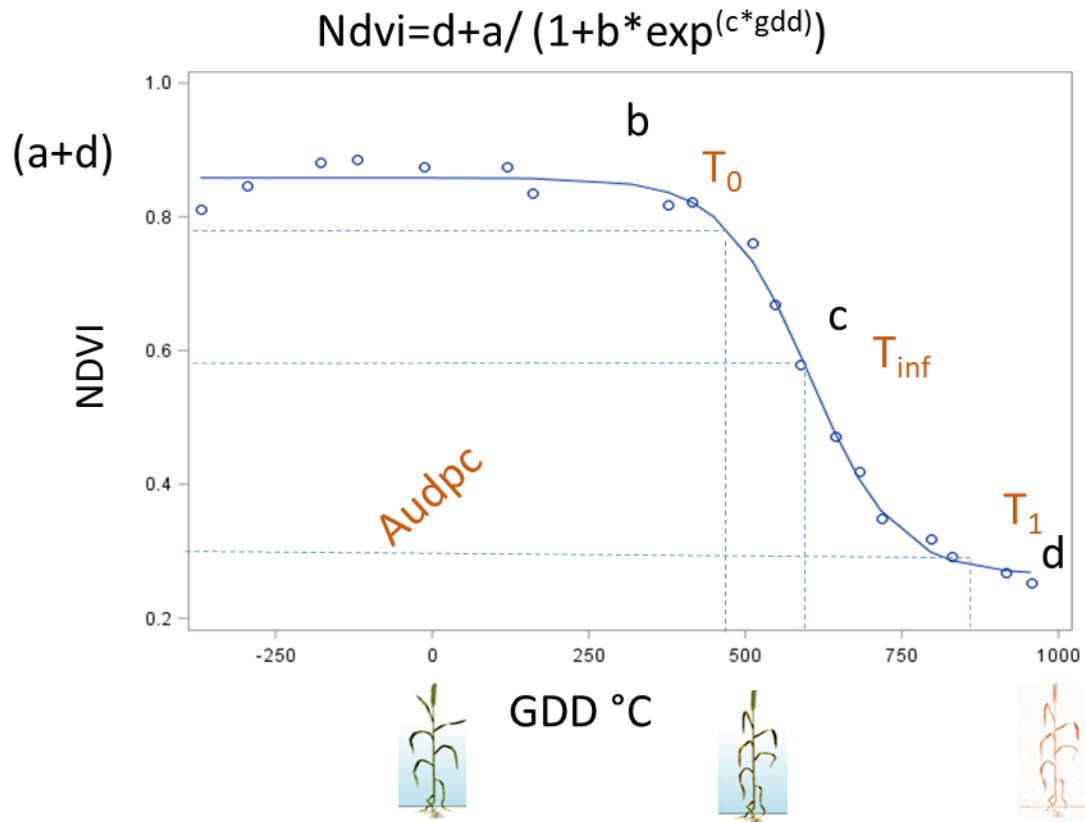


Figure 6 : Patron général de la cinétique temporelle observée pour un trait foliaire associé à la sénescence (exemple du NDVI) de la feuille drapeau de blé dur. L'axe temporel (en abscisse) est normalisé pour chaque plante : le temps T_0 correspond à la date de floraison de la plante et les températures moyennes quotidiennes (en °C) sont cumulées jusqu'à la sénescence complète de la feuille (GDD). Chaque point expérimental est indiqué par un cercle et le processus est modélisé par une courbe à 4 paramètres a, b, c, d. Les points remarquables et les paramètres générés par cet ajustement non linéaire correspondent aux valeurs du 1er et 2e plateau (respectivement (a + d) et d) la pente ainsi que l'aire sous la courbe (AUDPC). Les temps T_0 , T_{inf} et T_1 correspondent respectivement aux temps de fin du 1er plateau, au point d'inflexion, et au début du second plateau (Roumet com. Pers.).

Les moments du début et de la fin de la sénescence sont considérés comme des points clés ; ils sont notamment utilisés lors de la comparaison des propriétés de sénescence des génotypes (génotypes « stay green », (Anderegg et al., 2021)).

Sur la base de la réflectance spectrale, de nombreux modèles supervisés ont été largement utilisés pour inférer les valeurs de différents traits impliqués dans la sénescence et faciliter la collecte des données correspondantes (teneurs en eau, azote, chlorophylle...). Ces composantes ont des évolutions temporelles différentes qui dépendent à la fois de la quantité de ressources disponibles (nutriments minéraux et eau du sol en particulier) et du génotype de la plante considérée (Chapman et al., 2021). Ainsi une variabilité intra-spécifique a été identifiée pour l'initiation de la sénescence (T_0) et la vitesse de celle-ci (voir par exemple : Lopes et al., 2014; Montazeaud et al., 2016; Thomas and Howarth, 2000). Sur le plan agronomique, la variabilité associée à cette dynamique de sénescence a un impact non

négligeable. Le début de la sénescence (T_0) illustre le moment où les processus d'assimilation du carbone et d'azote ne sont plus suffisants pour compenser le catabolisme associé notamment à la remobilisation de l'azote. ; un retard dans ce début ou un taux de sénescence plus faible auront un impact direct sur le rendement du blé (Camargo et al., 2016; Chapman et al., 2021; Gelang, 2000; Sultana et al., 2021).

L'idée que la signature spectrale puisse être utilisée directement pour caractériser la présence et l'état de la végétation a été proposée suite au développement des premiers capteurs ayant une faible résolution spectrale (Christopher et al., 2014; Xie et al., 2016). La première utilisation d'un indice spectral, l'indice de végétation par différence normalisée (NDVI), a été décrite par Rouse et al. (1974) pour documenter l'état de la végétation dans la région centrale des États-Unis. Néanmoins, d'importantes limitations ont été signalées quant à l'utilisation du NDVI pour documenter le processus de sénescence des feuilles. Seules deux longueurs d'onde sont utilisées pour calculer l'indice NDVI ; elles ciblent le contenu en chlorophylle, qui s'est avéré ne pas être toujours pertinent pour représenter les changements physiologiques survenant au début et en fin de la sénescence (Gitelson and Merzlyak, 1994). Afin d'éviter certains effets de confusion et d'évaluer correctement la sénescence des feuilles, l'utilisation d'un plus grand nombre de bandes, rendue possible par le développement d'appareils à meilleure résolution spectrale couplés à des modèles supervisés en remplacement des ratios de longueurs d'ondes, a été proposée (Anderegg et al., 2020b) avec comme mesure de référence l'évaluation visuelle de la sénescence pendant la période de remplissage des grains. L'utilisation de l'approche supervisée peut être discutée. Premièrement, l'analyse de référence était basée sur des informations visuelles ; cette mesure n'étant ni objective ni précise, le bruit de fond généré va affecter la précision du modèle ; deuxièmement, le domaine de validité de cet étalonnage est incertain du fait des protocoles mis en place et des possibles effets opérateurs, ce qui limite son utilisation à de nouveaux ensembles de données. Une autre approche consiste à utiliser un modèle non supervisé tel que le MWPCA, où l'on postule que certains changements survenant dans un ensemble de données spectrales sont une signature du processus de sénescence.

Afin d'établir les limites de l'approche non supervisée, nous avons comparé l'évolution temporelle de la sénescence des feuilles de blé en utilisant des modèles supervisés et non supervisés construits à partir de données en réflectance. Une large gamme de cours de sénescence a été générée grâce à l'échantillonnage du génotype et à la disponibilité de la nutrition minérale.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Conditions expérimentales

L'essai a été conduit sur du blé dur (*Triticum turgidum durum*) en serre à l'unité expérimentale DiasCope de l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAe, Mauguio, France, 43°37' N, 4° E) en 2011. Les plantes ont été semées le 5 Janvier 2011 dans des pastilles de tourbe Jiffy. Après vernalisation dans une chambre contrôlée (4°C pendant 5 semaines), elles ont été transférées dans une serre (15 Février 2011) et cultivées dans des pots de 1,2 L remplis

de vermiculite (une plante par pot). Afin de maximiser la plage de variabilité de la sénescence des feuilles, un total de 139 feuilles étandard issues d'autant de plantes différentes cultivées dans deux types de conditions de fertilisation azotée ont été observées quotidiennement de la floraison à la maturité. Dans le premier traitement azoté, chaque plante a été irriguée une fois par jour avec 5 mM KNO₃ jusqu'à l'anthèse et avec 1 mM KNO₃ de l'anthèse à la maturité du grain ; dans le second, les plantes ont été irriguées une fois par jour avec 1 mM KNO₃ jusqu'à l'anthèse et ensuite avec 5 mM KNO₃ pendant 550 degrés-jours de croissance (« Growing Degree Day ») –GDD– après l'épiaison. Les concentrations de potassium ont été ajustées pour les traitements avec 1 mM KNO₃ en ajoutant 4 mM KCl à la solution nutritive. L'irrigation a été arrêtée lorsque le grain avait atteint sa maturité physiologique. La température de la serre a été mesurée avec des capteurs indépendants et régulée par un système de refroidissement et l'ouverture et la fermeture des événements de la serre. Les murs de la serre ont été blanchis à la chaux afin de standardiser la quantité de lumière reçue par chaque plante. De plus amples informations sur les paramètres de l'expérience sont décrites dans Vilmus et al. (2014).

2.2. Acquisitions des spectres

Pour chaque plante, les observations ont été faites quotidiennement sur la dernière feuille (feuille étandard) de la floraison à la maturité physiologique (stades Z65 et Z85 de l'échelle de Zadoks) ; elles ont été numérotées de un (pour la première à la floraison) à n (la dernière à la maturité physiologique). Les observations ont été réalisées de manière non destructive avec un spectromètre portable LabSpec 2500 Vis/Nir, qui possède une gamme spectrale comprise entre 350 et 2500 nm avec une résolution spectrale de 3 nm entre 350 et 1000 nm à 10 nm entre 1000 et 2500 nm (Analytical Spectral Devices, Inc., Boulder, CO, USA) en utilisant le LeafClip et un panneau à fond blanc, ce qui nous a permis d'obtenir des spectres de transfectance (Ecarnot et al., 2013). Chaque jour, deux mesures ont été effectuées en divisant la feuille du drapeau en trois parties égales sur sa longueur, la première mesure étant effectuée au tiers proximal et la seconde au tiers distal.

Sur la base de ces données spectrales, deux analyses différentes ont été effectuées : premièrement, une stratégie supervisée classique a été utilisée : des étalonnages ont été effectués pour documenter les propriétés biochimiques de la feuille étandard pendant le processus de sénescence (teneurs en eau azote et chlorophylle); deuxièmement, des informations spectrales complètes (données spectrales brutes ou prétraitées) ont été utilisées dans une stratégie non supervisée pour documenter l'évolution des caractéristiques spectrales globales de la feuille au cours de ce processus.

2.3. Stratégie supervisée : Développement d'étalonnages NIR et modélisation cinétique temporelle

Dans un premier temps, des étalonnages quantitatifs à partir de spectres entiers ont été effectués pour évaluer trois paramètres biochimiques foliaires impliqués dans la sénescence des feuilles à savoir l'azote, la chlorophylle et la teneur en eau. Pour réaliser ces étalonnages, un groupe restreint mais représentatif d'échantillons a été sélectionné sur la base de la variabilité spectrale pour construire les

modèles. Tous les étalonnages ont été effectués sur des feuilles collectées à différents stades de sénescence, représentatives de la diversité génétique utilisée dans l'expérience. Pour acquérir les mesures de référence, il a fallu évaluer la concentration en azote, en chlorophylle et en eau présente dans ces feuilles récoltées. Pour cela, trois protocoles spécifiques à chacune de ces analyses ont été mis en place. En ce qui concerne la concentration en azote, le protocole est décrit dans Ecartot et al. (2013). Pour mesurer la concentration en chlorophylle, la démarche à suivre est la suivante : moins d'une heure après avoir mesuré les spectres, environ 20 mg de feuilles a été coupé au niveau de la zone de prise de spectre. Après broyage de ces 20 mg, la poudre produite a été diluée dans de l'éthanol et la densité optique a été mesurée pour les longueurs d'onde 645 et 650 à l'aide d'un spectrofluoromètre SAFAS Xenius. Cela a permis d'estimer la concentration en chlorophylles a et b. Par la suite, la concentration en chlorophylle à laquelle il est fait référence est la somme de la chlorophylle a et b en mg par g de matière fraîche. En ce qui concerne la concentration en eau dans les feuilles, les feuilles ont été pesées juste après la mesure des spectres, mesurant ainsi le poids des feuilles fraîches (« fresh leaf weight », FW). Elles ont ensuite été séchées pendant 48h à 60°C et pesées (« dry leaf weight », DW). La concentration en eau (LWC) est calculée selon l'équation (1) :

$$LWC = 100 * \frac{FW-DW}{FW} \text{ Equation 1}$$

Un protocole commun a été appliqué pour construire les trois étalonnages. Tout d'abord, les spectres ont été collectés sur des feuilles qui ont été analysées avec les méthodes de référence spécifiques pour chaque paramètre, comme décrit ci-dessus. Ensuite, la construction des modèles d'étalonnage a été effectuée en utilisant la régression par moindres carrés partiels (PLS-R) (Martens and Naes, 1989). Une validation croisée aléatoire et répétée k-fois a permis d'optimiser le nombre de variables latentes du modèle, et de calculer les statistiques d'ajustement du modèle (erreur standard de la validation croisée, coefficient de détermination) (Table 2). Les modèles ont été ensuite appliqués à l'ensemble des autres spectres mesurés.

Dans un deuxième temps, la régression logistique a été utilisée pour ajuster l'évolution temporelle de ces traits foliaires au cours de la phase floraison / maturité physiologique. Le temps a été exprimé en GDD cumulatif basé sur la température moyenne quotidienne. Pour chaque feuille, le modèle est estimé en utilisant l'équation (2) :

$$f(x) = d + \frac{a}{1+b*e^{c*x}} \text{ Equation 2}$$

où a, b, c et d sont des paramètres permettant l'ajustement de la courbe sigmoïde pour chaque individu et x étant la date donnée en GDD. Les résultats extraits du modèle sont les dates T_0 et T_1 , correspondant respectivement à la fin du premier plateau et à la fin de la chute de la courbe sigmoïde. Ici, ces deux points clés ont été considérés comme le début et la fin de la sénescence. Pour chaque feuille étendard, les valeurs des paramètres T_0 et T_1 ont été calculés pour chacun des trois types de composants biochimiques selon les formules suivantes :

$$T_0 = d + \frac{a(1-\gamma)}{1+e^b} \text{ et } T_1 = d + \frac{a\gamma}{1+e^b} \text{ Equation 3}$$

où a, b et d sont trois paramètres de la courbe sigmoïde (équation 2) et $\gamma = 0,01$.

La pertinence du modèle a été évaluée en calculant le paramètre d'Efficiency qui nous fournit un indicateur de la qualité d'ajustement de notre modélisation temporelle ; la valeur maximale étant égale à 1 (équation 3) :

$$Efficiency = 1 - \frac{\sum_1^i (y_i - f(x_i))^2}{\sum_1^i (y_i - \text{mean}(y))^2} \quad \text{Equation 4}$$

où i correspond au nombre de dates prises dans la série temporelle pour chaque individu et y est le résultat de f(x) (Equation 2). Ce modèle est décrit en détail dans Vilmus et al. (2014).

Table 2 : Pré-traitement et statistique de la calibration du modèle supervisé. . Les prétraitements utilisés sont la transformation SNV (Standard Normal Variate (Barnes et al., 1989)), la dérivation SG (Savitzky–Golay (Savitzky and Golay, 1964)) et la réduction de longueurs d'onde notamment dans la zone 350-400 nm (RED). Les paramètres SG se réfèrent respectivement au degré du polynôme, à la taille de la fenêtre et au degré de dérivation. La meilleure combinaison de paramètres a été recherchée en minimisant l'erreur standard de cross validation (SECV) et le nombre de variables latentes recrutées dans le modèle afin de limiter le sur paramétrage du modèle de prédiction. Le coefficient de détermination obtenu en cross validation du modèle retenu (R²CV) a lui aussi été calculé. DM et FM : respectivement matière fraîche et sèche foliaire.

	Nombre d'échantillons par calibration	Gamme	Pré-traitement	Nombre de variables latentes	SECV	R ² CV
Concentration en azote (% DM)	359	0.48–4.85	SNV + SG[2-9-1]	12	0.372	0.918
Concentration en chlorophylle (mg/g FM)	128	0.15-3.86	RED[450-1350] + SNV + SG[2-9-1]	5	0.249	0.927
Concentration en eau (%)	262	1.79 - 77.54	SNV + SG[2-3-1]	5	6.47	0.952

2.4. Stratégie supervisée : Moving Window Principal Component Analysis (MWPCA)

Une approche basée sur la MWPCA (Schmitt et al., 2016) a été proposée ici pour détecter les changements qui pourraient conduire le processus à un dysfonctionnement, et générer ainsi une alarme. Cette analyse se fait feuille par feuille ; une déviation anormale des spectres par rapport à ceux collectés aux dates précédentes est considérée comme un changement majeur des caractéristiques de la feuille ciblée. Pour commencer, une analyse en composantes principales (ACP) a été faite à partir des données spectrales collectées peu après floraison afin de représenter l'état initial de chaque feuille. À partir de ce modèle, les matrices de covariance et des loadings (P) ont été calculées. Dans un second temps, les observations de la date qui succédait à cette période d'apprentissage ont été projetées en variables supplémentaires dans cette ACP de référence ; une métrique T² a été utilisée pour quantifier les

modifications spectrales à t+1. Chaque nouvelle observation x_i est centrée, en utilisant les paramètres des données d'entraînement.

Le modèle ACP initial a été étalonné pour chaque feuille, en considérant une matrice de données spectrales $X (n \times p)$ avec n le nombre d'observations et p le nombre de variables spectrales (équation 5):

$$X_{(n \times p)} = T_{(n \times a)} \bullet P_{(a \times p)}^T + E_{(n \times p)} \quad \text{Equation 5}$$

T est la matrice des scores avec a ($a = 1, 2 \dots$), le nombre de composantes principales retenues, P^T est la transposée de la matrice des loadings qui explique la relation entre les variables spectrales et les composantes principales et E est la matrice résiduelle. Avant de mettre en œuvre l'ACP, les variables sont centrées. La variable de sortie de l'ACP est la statistique T^2 de Hotelling, soit la distance de Mahalanobis au carré des spectres x_i dans le sous-espace du modèle ACP (Schmitt et al., 2016) ; elle est calculée à partir de l'équation 6 :

$$T^2 = x_i P \Lambda_a^{-1} P^T x_i^T \quad \text{Equation 6}$$

où Λ est la matrice de covariance de la colonne des scores a et x_i est la i ème observation prédite par le modèle ACP. Pour identifier un changement dans la série temporelle, on fait l'hypothèse que le T^2 de Hotelling suit une loi normale. Sur la base de cette hypothèse, un changement significatif est supposé être un T^2 hors de la distribution normale. Les changements significatifs ne seront pas exclus de la fenêtre suivante, car ce "nouvel état" du processus affectera les observations suivantes et pourrait même aboutir à un nouvel état d'équilibre normal.

L'algorithme adopté de MWPCA est présenté en détail dans la figure 7.

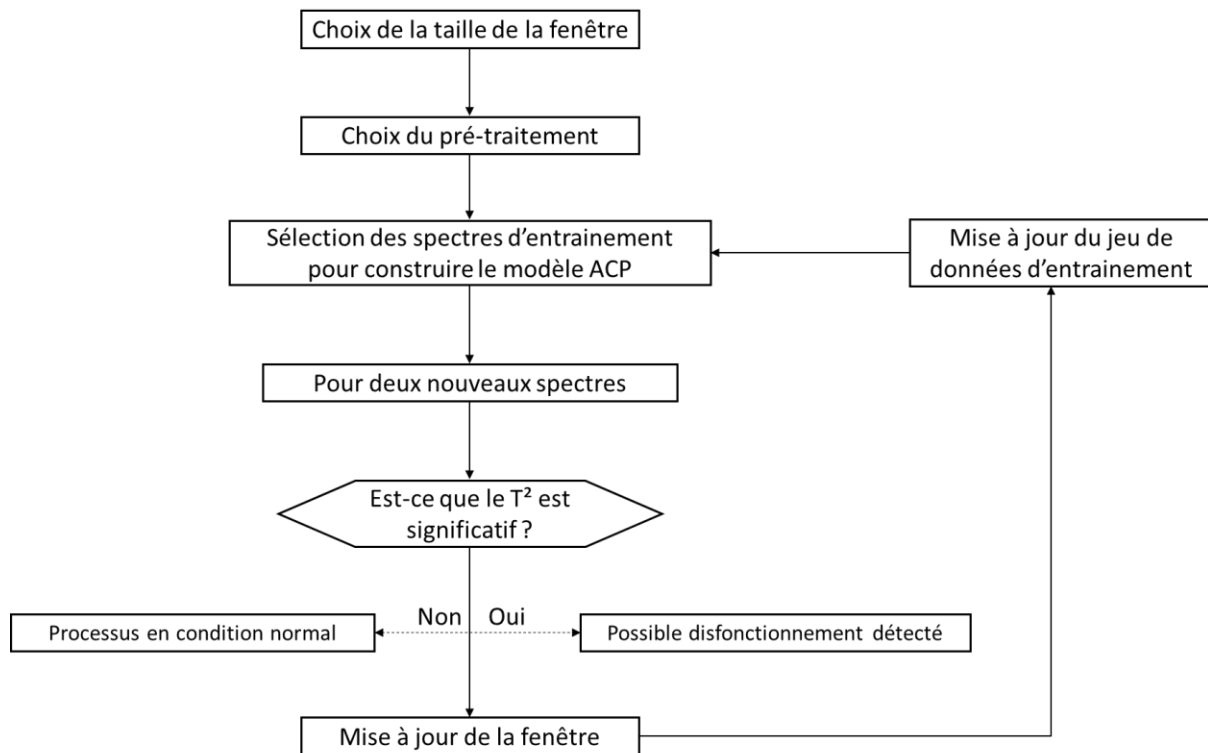


Figure 7 : Algorithme de l'ACP à fenêtre mobile (MWPCA) (adapté de Awhangbo et al. (2020))

Dans la MWPCA, l'algorithme initial stipule qu'une fenêtre de données de longueur fixe doit être déplacée en temps réel pour mettre à jour le modèle ACP dès qu'un nouvel échantillon est disponible. À chaque nouvelle observation, cette fenêtre exclut l'observation la plus ancienne et inclut la plus récente. L'un des défis de la mise en œuvre de la MWPCA consiste à sélectionner la longueur de la fenêtre (également appelée taille de la fenêtre).

Dans notre analyse, l'état initial de la feuille a été représenté par des données spectrales collectées sur des plages temporelles différentes. Dans notre analyse, le nombre de données utilisées dans la caractérisation de cet état initial correspond à des collectes spectrales faites sur des périodes consécutives de 3 à 8 dates différentes. Dans notre analyse, nous appellerons ce paramètre la taille de la fenêtre. Le nombre de composantes a également été mis à jour pour correspondre au nombre maximal de composantes possible en fonction de la taille de la fenêtre. Sachant que deux spectres de chaque plante ont été pris chaque jour, le nombre maximum de composantes correspond à deux fois la taille de la fenêtre moins un.

Sur la base du prétraitement, trois analyses non supervisées ont été effectuées. La première était basée sur les données spectrales brutes et appelée "aucun prétraitement", tandis que les deux autres ont utilisé les deux prétraitements les plus courants : la méthode Standard Normal Variate (SNV (Barnes et al., 1989)) et une combinaison de SNV et du filtre Savitzky-Golay (SAVGOL (Savitzky and Golay, 1964)) que l'on retrouve également dans la construction du modèle d'étalonnage faite par Ecartot et al. (2013). Le filtre SAVGOL a été utilisé avec une fenêtre de 15 et une dérivée du premier degré avec un polynôme du second degré. Ainsi, au total, nous avons fait varier trois paramètres dans l'analyse MWPCA : la taille de la fenêtre (données d'entraînement collectées sur une plage de 3 à 8 dates correspondant au plateau initial), le nombre de composantes (qui varié en fonction de la taille de la fenêtre) et le prétraitement des spectres (aucun, SNV, SNV-SAVGOL).

Dans ce travail, les spectres collectés aux dates successives de la floraison à la maturité physiologique ont représenté les données variables. Comme dit précédemment, pour définir le changement dans les séries temporelles, nous avons fait l'hypothèse que le T^2 de Hotelling suivait une loi normale. Les valeurs de T^2 plus élevées (2,5 % des données) ont été considérées comme hors de la distribution normale, et représentative d'un nouvel état d'équilibre dans le processus de sénescence des feuilles. Les changements significatifs ne seront pas exclus de la fenêtre suivante contrairement à l'algorithme initial, car ce "nouvel état" du processus affectera les observations suivantes et pourrait même aboutir à un nouvel état d'équilibre. Pour comparer les résultats de la MWPCA à ceux de la stratégie ciblée, les numéros de jours pour lesquels les spectres ont généré des valeurs significatives de T^2 , appelés pic de T^2 , ont été convertis en GDD cumulés. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel R (R Development Core Team, 2012).

3. Résultats

3.1. Données spectrales et processus de sénescence des feuilles

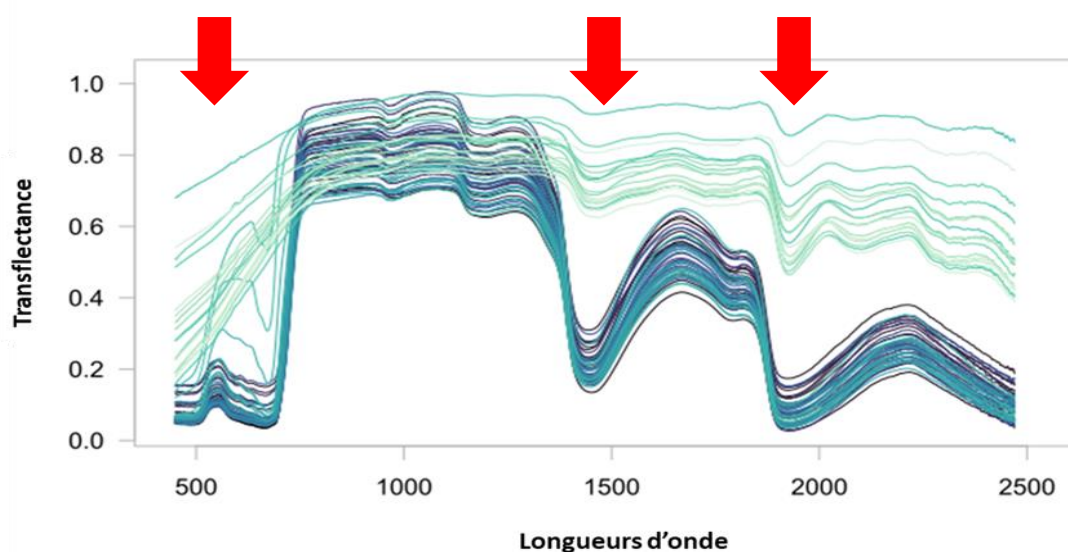


Figure 8 : Spectres bruts (de 400 à 2500 nm) d'une feuille individuelle au cours de la sénescence ; les courbes bleues les plus foncées correspondent à la première date de l'expérience (floraison) tandis que les courbes bleues les plus claires indiquent le dernier jour de l'expérience (fin de la sénescence de la feuille). Les flèches rouges indiquent les principales plages spectrales où des modifications de signal interviennent au cours de la

Des spectres de transfectance typiques de feuilles fraîches pendant la période post-floraison ont été reportés sur la Figure 8. L'effet de la sénescence est principalement perceptible dans la région visible (autour de 690 nm), où la dégradation continue de la chlorophylle génère un remplissage du creux d'absorption, jusqu'à sa disparition pour les feuilles sénescentes. Le processus de sénescence agit également dans la région proche infrarouge (SWIR) (1000-2500 nm), notamment dans les 2 régions situées autour de 1450 et 1950 nm correspondant à l'absorption de l'eau (liaison OH). Dans ces deux régions, l'absorption due aux molécules d'eau est intense et génère des creux dans les spectres de transfectance ; cet effet s'estompe peu à peu avec la diminution en eau des tissus foliaires sénescents. La région spectrale de 750-1000 nm, dans laquelle il n'y a presque pas d'absorption, conserve les mêmes valeurs moyennes tout au long de la sénescence des feuilles. Outre l'influence des composés biochimiques (Gausman, 1974), la structure physique de la feuille détermine la valeur moyenne des spectres. Les feuilles à forte densité ont des mésophylles compacts qui entraînent une faible diffusion, et donc une transfectance moyenne plus faible, ce qui explique la forte variance des moyennes des spectres de notre ensemble de données.

3.2. Modèles supervisés de prédiction du contenu foliaire en azote, chlorophylle et eau.

Le même schéma, une séquence plateau/chute/plateau, a été observé (Figure 9) pour la cinétique temporelle des trois composants biochimiques foliaires ciblés. Les ajustements logistiques ont été très

pertinents pour rendre compte de ces séquences temporelles puisque les paramètres d'ajustement étaient proches de 1 ($> 0,95$). Sur la base de ces courbes, deux points clés, T_0 et T_1 ont été calculés pour l'azote, la chlorophylle et la teneur en eau des feuilles (voir équation 3). Leurs valeurs moyennes, ainsi que leur variabilité pour les 139 feuilles étandard, sont reportées dans le table 3.

Table 3 : Moyennes et écarts types de T_0 et T_1 dérivés de la modélisation de l'azote, de l'eau et de la teneur en chlorophylle des feuilles pendant le processus de sénescence (GDD accumulé après l'anthèse, $n=139$).

T_0 de la concentration en eau	T_0 de la concentration en azote	T_0 de la concentration en chlorophylle	T_1 de la concentration en eau	T_1 de la concentration en azote	T_1 de la concentration en chlorophylle
659 ± 100	530 ± 118	505 ± 124	907 ± 129	916 ± 151	872 ± 134

La teneur en chlorophylle est la première à diminuer ($T_0 = 505 \text{ }^\circ\text{C}$), suivie par les teneurs en azote et en eau ($T_0 = 530$ et $659 \text{ }^\circ\text{C}$ respectivement). Le schéma général est légèrement différent si l'on considère la fin de la sénescence (T_1) où les écarts entre les trois éléments sont beaucoup plus faibles ($\sim 40 \text{ }^\circ\text{C}$) ; la teneur en chlorophylle termine sa variation en premier ($T_1 = 872 \text{ }^\circ\text{C}$), suivie par l'eau puis l'azote ($T_1 = 907$ et $916 \text{ }^\circ\text{C}$ respectivement). L'écart-type montre que toutes les distributions se chevauchent, d'où la nécessité de traiter chaque individu séparément (tableau 3).

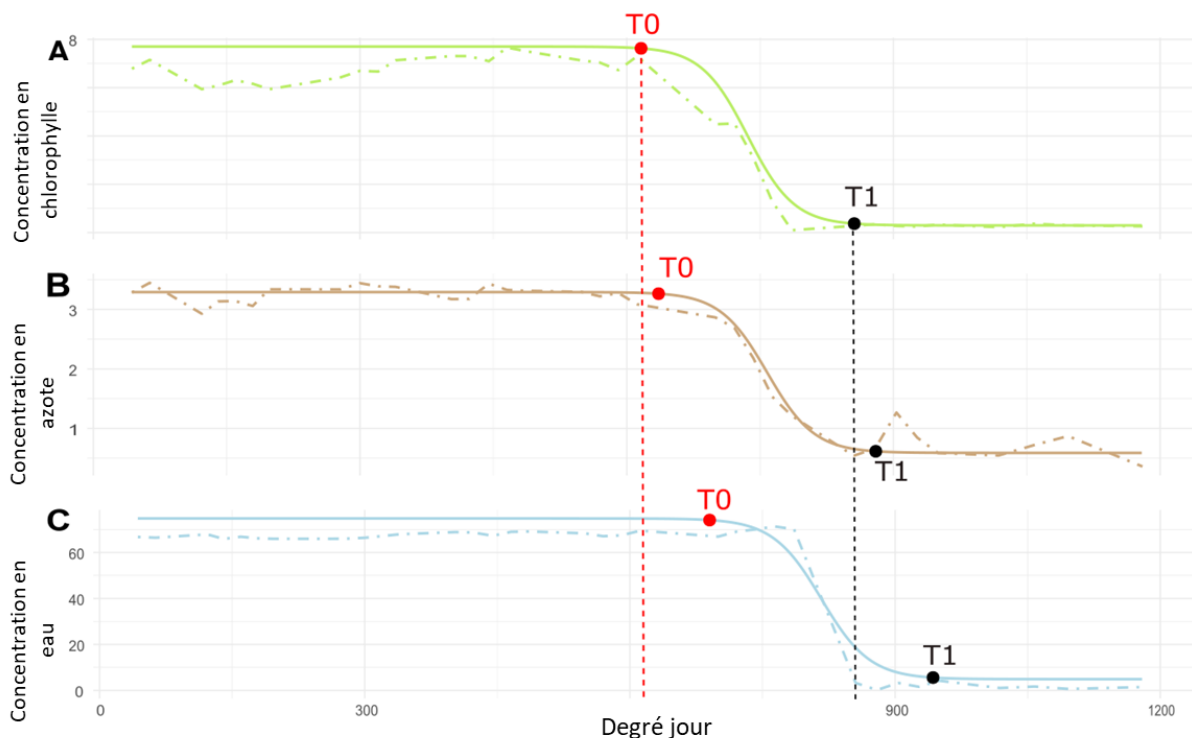


Figure 9 : Evolution temporelle de la teneur en chlorophylle (A), de la teneur en azote (B) et de la teneur en eau (C) d'une feuille individuelle de la floraison à la maturité. Les lignes en pointillés joignent les différents points issus des prédictions Nirs de chaque composé biochimique ; les lignes pleines résultent de la courbe logistique modélisée pour chaque trait foliaire. Les points rouges et noirs correspondent respectivement aux T_0 et T_1 de chaque composé.

3.3. Approche non supervisée (MWPCA) : Modifications spectrales au cours du processus de sénescence

Sur la base des changements significatifs des informations spectrales, des pics des valeurs de T^2 ont été détectés pour la plupart des individus. Les valeurs de fréquence les plus faibles (< 90%) ont été obtenues en couplant les données spectrales brutes avec une fenêtre d'apprentissage de petite taille (< 5 jours), alors que des proportions proches de 100 % (> 94 %) ont été observées pour toutes les autres combinaisons entre taille de fenêtre et prétraitement des spectres (Table 4).

Table 4 : Pourcentage d'individus avec au moins une valeur significative de T^2 sur les 139 individus

Pré-traitement	Taille de la fenêtre d'apprentissage (nombre de jours d'acquisition de spectres)					
	3	4	5	6	7	8
SNV+Savgol	97,12	96,40	97,12	97,84	96,40	94,96
SNV	97,84	97,12	99,28	97,84	99,28	98,56
Spectres bruts	89,93	89,93	97,84	93,53	97,12	97,84

En moyenne, le nombre de valeurs significatives de T^2 (pics de T^2) détectés par individu variait entre 3 et 4 selon la taille de la fenêtre d'apprentissage et le traitement des spectres (Figure 10). Ce nombre de pics de T^2 était plus faible avec les spectres bruts (environ 3,22 en moyenne) et augmentait en fonction du processus de prétraitement (3,57 et 3,71 pour les prétraitements SNV et SNV + Savgol respectivement). Avec les informations des spectres bruts, ce nombre de pics T^2 observés restait très stable quelle que soit la taille de la fenêtre ; par contre pour les 2 autres catégories de prétraitement des spectres il diminuait avec l'augmentation de la taille de la fenêtre ($3,36 < T^2 < 3,71$ et $3,30 < T^2 < 4,00$ pour les prétraitements SNV et SNV+Savgol respectivement pour des tailles de fenêtres variant entre 3 et 8).

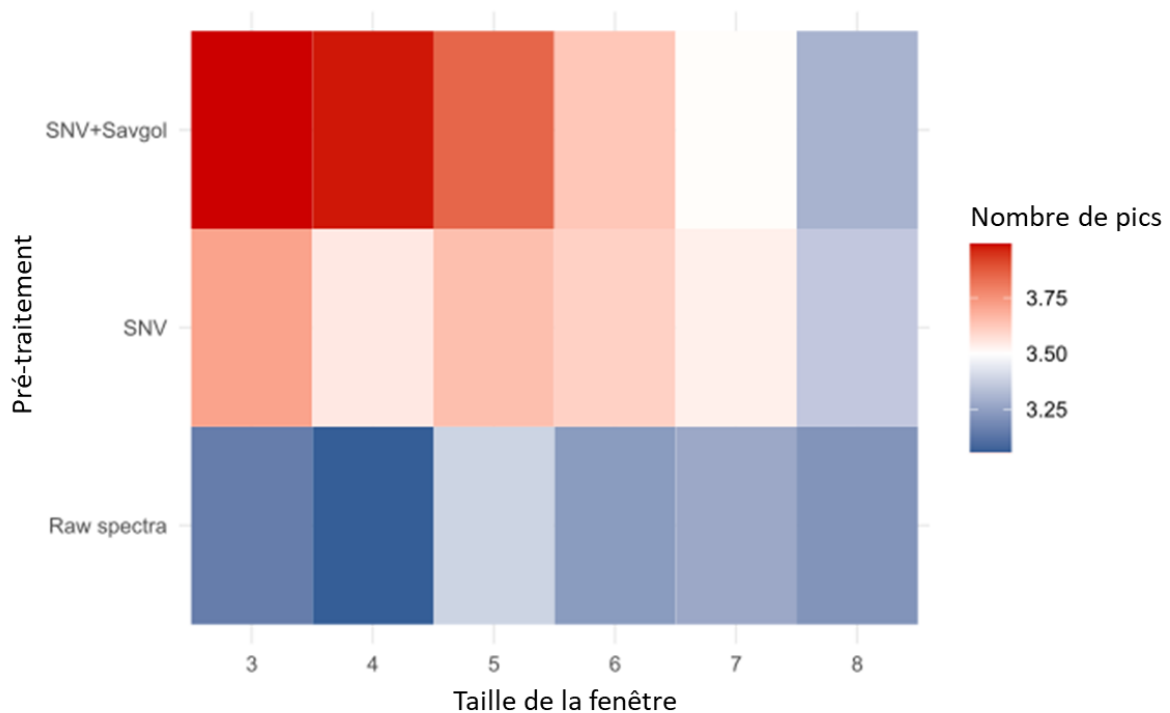


Figure 10 : Nombre de pics de T^2 trouvés dans la MWPCA en fonction de la taille de la fenêtre (i.e. taille de la matrice de référence exprimée en nombre de spectres quotidiens inclus) et du prétraitement des spectres.

L'ensemble de ces pics de T^2 , se situaient dans l'intervalle de temps entre le début et la fin de la sénescence. Nous avons comparé les dates des pics T^2 de la MWPCA avec les valeurs T_0 et T_1 issues de la modélisation supervisée, qui sont les signatures du début et de la fin du processus de sénescence des feuilles.

Tout d'abord, nous avons relié le pic le plus précoce fourni par MWPCA ($T_{0,MWPCA}$) avec la valeur T_0 la plus précoce observée parmi les trois valeurs T_0 disponibles (eau, chlorophylle ou azote) ($T_{0,superv}$) (Figure 11). La différence de valeur moyenne ainsi que la corrélation entre ces 2 variables $T_{0,superv}$ et $T_{0,MWPCA}$ ont été considérées.

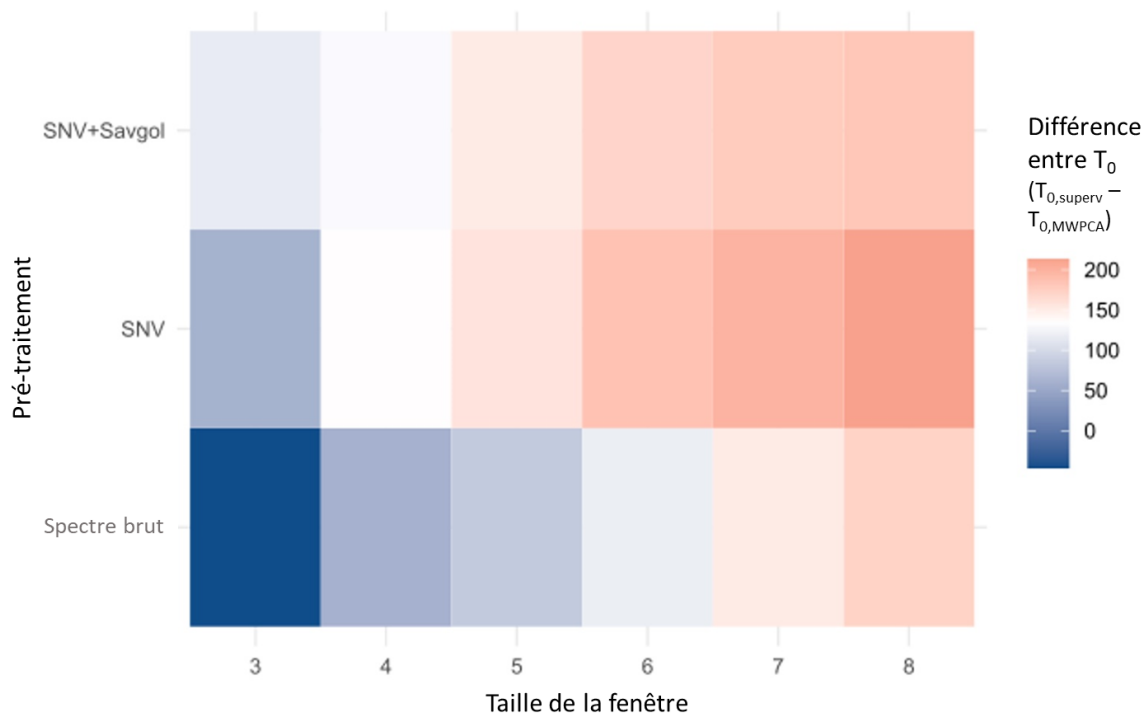


Figure 11 : Différence exprimée en GDD entre les valeurs obtenues pour $T_{0,superv}$ et la $T_{0,MWPCA}$ en fonction de la taille de la fenêtre et du prétraitement.

Quels que soient le prétraitement des spectres et la taille de la fenêtre considérés, le premier pic fourni par MWPCA était plus tardif que $T_{0,superv}$, ce qui signifie que le MWPCA signale une modification du spectre globale postérieure à celle de l'évolution du contenu biochimique associé à la senescence (Figure 11). L'étendue des différences dépendait à la fois du prétraitement et de la taille de la fenêtre : les écarts les plus faibles étant obtenus avec les spectres bruts et la fenêtre de taille la plus faible (entre -47 et 85 GDD pour une taille de fenêtre comprise entre 3 et 5). Quel que soit le prétraitement des spectres, ces différences augmentent avec la taille de la fenêtre d'apprentissage (jusqu'à 171 GDD pour SNV avec une taille de fenêtre de 8).

Les corrélations entre $T_{0,MWPCA}$ et $T_{0,superv}$ varient entre 0.09 et 0.56. Les valeurs minimales et maximales ont été obtenues lorsque les différences entre les moyennes des 2 indicateurs étaient minimales (spectres bruts ou SNV couplés à une petite taille de fenêtre d'apprentissage, Figure 12, $r = 0.09$) et avec le prétraitement SNV+SAVGOL, fenêtre = 7 ($r = 0.56$). Pour chaque prétraitement spectral, les valeurs minimales de corrélation ont été obtenues avec la taille de fenêtre la plus petite. Ensuite ces valeurs augmentent rapidement pour atteindre des valeurs comprises entre 0.4 et 0.6 à l'exception des données obtenues pour une taille de fenêtre de 6 avec les spectres bruts et le prétraitement SNV. Globalement les valeurs des corrélations obtenues avec le prétraitement SNV+SAVGOL étaient plus stables pour les différentes tailles de fenêtre que celles obtenues avec les 2 autres prétraitements.

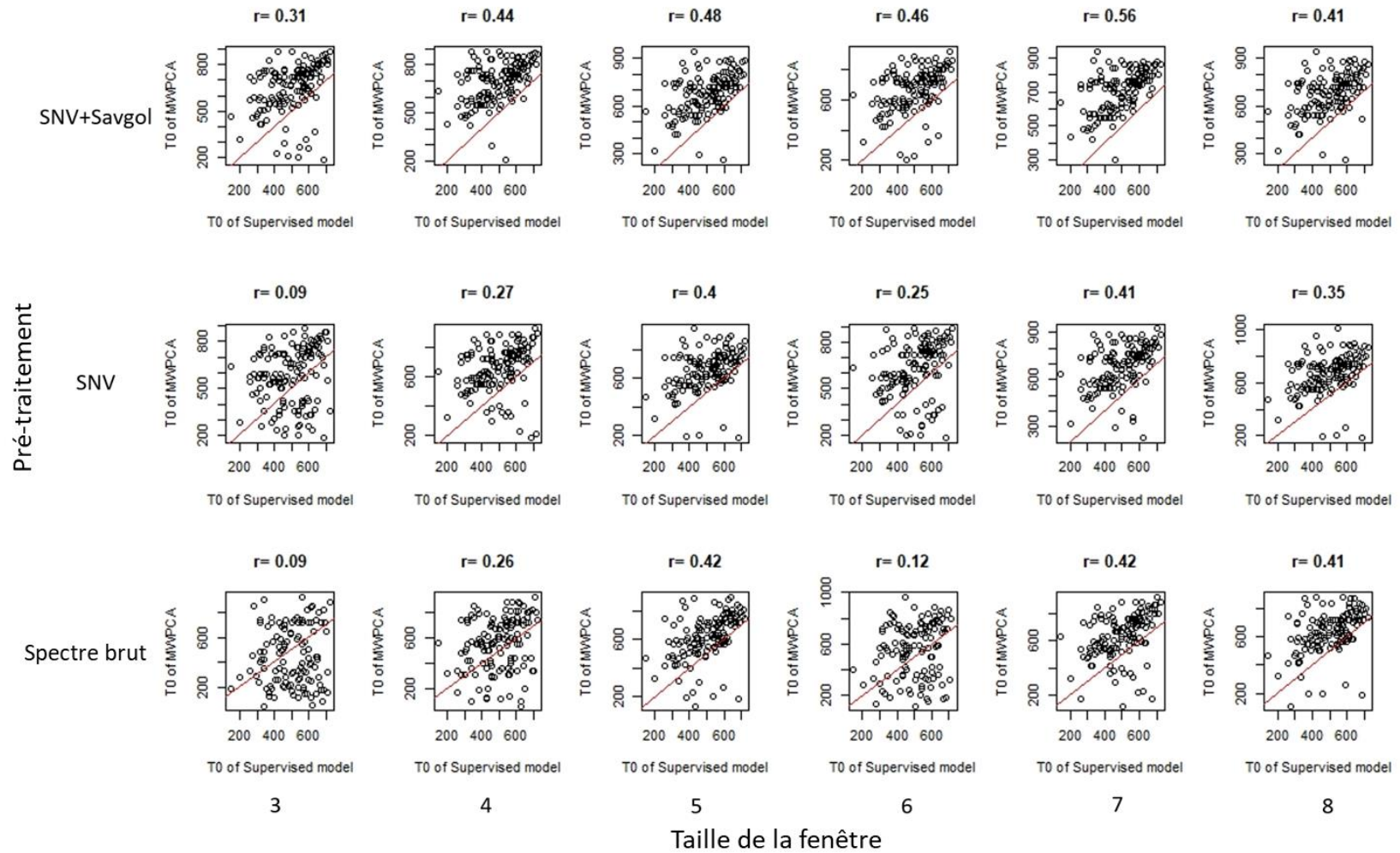


Figure 12 : Relation entre $T_{0,superv}$ et $T_{0,MWPCA}$. La ligne rouge correspond à la ligne de régression 1:1 et le nombre au-dessus de chaque distribution à la corrélation entre le $T_{0,superv}$ et le $T_{0,MWPCA}$.

Les comparaisons entre $T_{1,MWPCA}$ et $T_{1,super}$ ont conduit à des observations sensiblement différentes (Figures 13 et 14).

Contrairement au cas précédent, l'approche supervisée a généré des valeurs de T_1 moyennes plus précoces que celles issues du modèle supervisé (de 110 à 50 GDD). L'étendue de ces différences était affectée par le prétraitement des spectres: maximales avec les spectres bruts (~114 GDD), ces différences étaient réduites avec les spectres SNV (~50 GDD). Indépendamment du prétraitement, l'augmentation de la taille de la fenêtre réduisait l'ampleur de ces écarts entre les deux indicateurs $T_{1,MWPCA}$ et $T_{1,super}$.

Ensuite, les valeurs des corrélations entre les valeurs de T_1 obtenues avec les deux approches supervisées et non supervisées étaient en moyenne beaucoup plus élevées que dans le cas précédent ($0.59 < r < 0.86$). En termes de tendance, les patrons de variation de ces corrélations étaient communs pour ceux observés pour le paramètre de début de senescence. D'une part, l'utilisation de spectres bruts nécessitait une taille de fenêtre plus élevée pour générer des valeurs de corrélation similaires aux spectres SNV ou SNV-SAVGOL et, d'autre part, un prétraitement des spectres SAVGOL générait des corrélations élevées ($0.80 \leq r \leq 0.85$), indépendantes de la taille de fenêtre considérée.

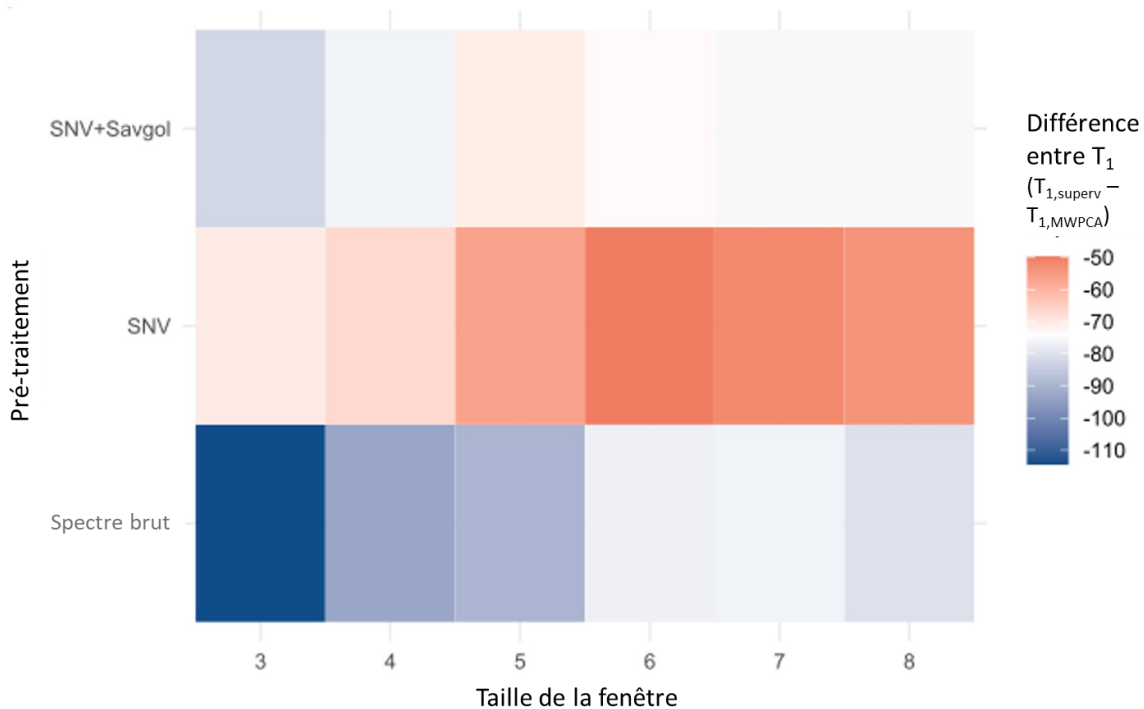


Figure 13 : Différences exprimées en GDD entre les dates de fin de senescence issues des approches supervisée ($T_{1,super}$) et non supervisée ($T_{1,MWPCA}$) en fonction de la taille de la fenêtre et du prétraitement.

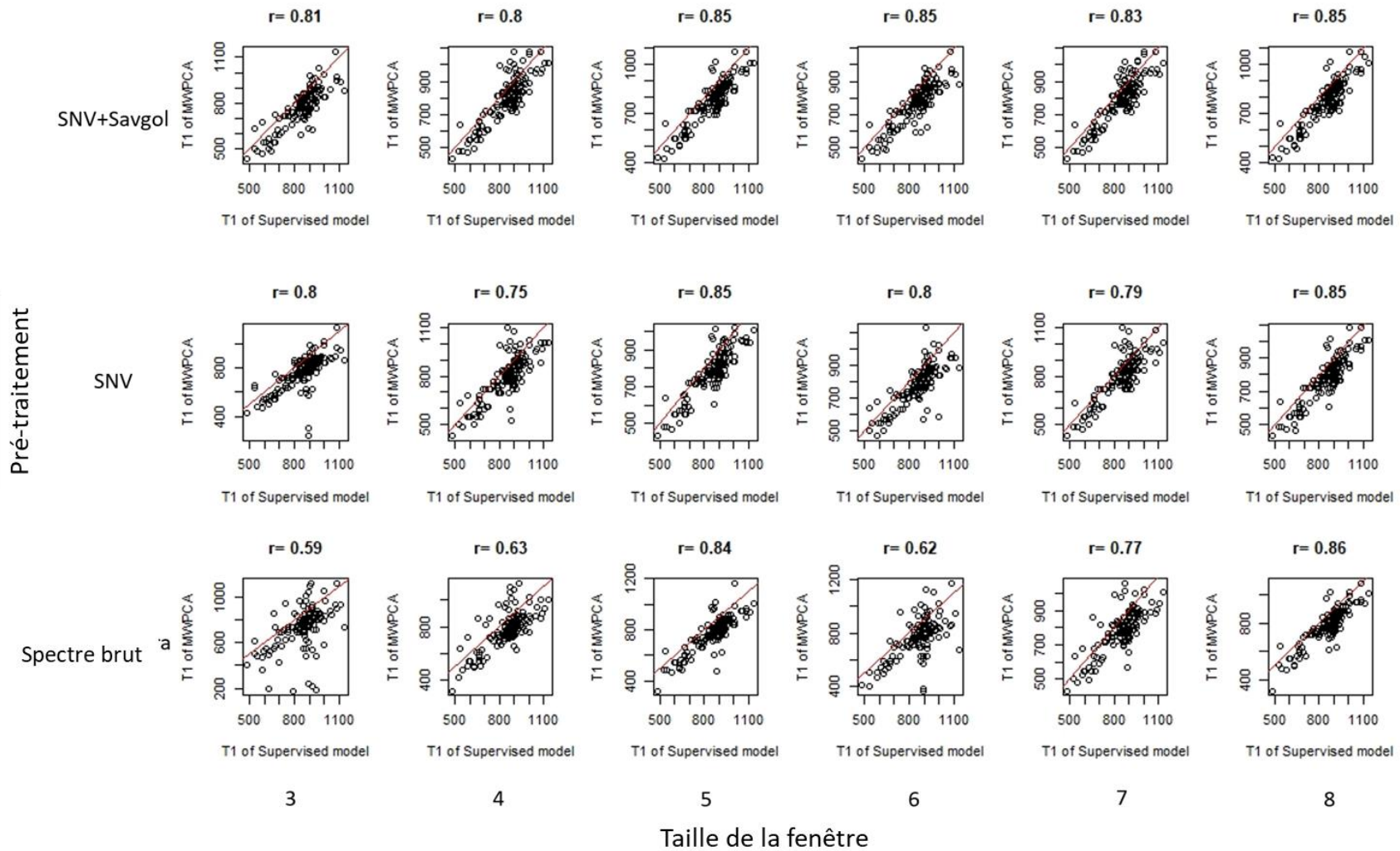


Figure 14 : Relations entre les dates de fin de senescence issues des approches supervisée ($T_{1,superv}$) et non supervisée ($T_{1,MWPCA}$). La ligne rouge correspond à la ligne de régression 1:1 et le nombre au-dessus de chaque distribution à la corrélation entre le $T_{1,superv}$ et le $T_{1,MWPCA}$.

4. Discussion

Sur la base de feuilles fraîches, les étalonnages obtenus dans le cadre de l'approche supervisée pour évaluer la teneur en eau, en azote ou en chlorophylle sont cohérents avec ceux obtenus dans la littérature (Martens and Naes, 1989; Vilmus et al., 2014; Wang et al., 2021) ; ils fournissent des prédictions précises pour les trois variables biochimiques foliaires. Des mesures quotidiennes sur la même feuille étendard ont été utilisées pour modéliser la cinétique temporelle des trois traits au cours du processus de sénescence. La dynamique temporelle était similaire pour chaque paramètre ; ils pouvaient tous être décrits par une courbe sigmoïde suivant un modèle " plateau/chute/plateau " à l'aide de quatre paramètres ce qui traduit le caractère non symétrique de cette courbe par rapport au point d'inflexion. Le modèle de cette dynamique temporelle est cohérent avec celui observé pour la sénescence des feuilles (Anderegg et al., 2020b; Bogard et al., 2011).

La fertilisation azotée couplée à la diversité génétique a permis de générer une plage de variabilité importante pour la dynamique temporelle de chaque composante. Sur la base de ces courbes issues de l'approche supervisée, deux dates clés, nommées T_0 et T_1 , traduisant respectivement le début et la fin des processus de résorption ou de dessiccation, ont été ciblées. En moyenne, les écarts maximaux entre les valeurs moyennes T_0 des trois composants biochimiques étaient importants (154 GDD) alors que ceux obtenus pour les valeurs T_1 étaient plus contenus (44 GDD).

Selon le prétraitement des spectres utilisé, de trois à quatre pics T^2 caractérisant des changements de spectres foliaires ont été détectés par l'approche non supervisée (MWPCA). La plupart de ces changements se sont produits dans un intervalle de temps compris entre le début de $T_{0, \text{superv}}$ (le plus souvent lié à la teneur en chlorophylle) et la fin de $T_{1, \text{superv}}$. Les dates de ces modifications globales d'information spectrale détectées par la MWPCA ne correspondent que partiellement à celles des paramètres T_0 et T_1 issues des approches supervisées. Le premier pic de la MWPCA était plus tardif que le T_0 le plus précoce de la stratégie supervisée (~100 GDD). En outre, la corrélation entre les deux ensembles de données est restée relativement faible ($r < 0,6$), suggérant que cette approche MWPCA basée sur une approche de spectres globaux n'est que partiellement pertinente pour signaler le début de la sénescence.

Par contre, cette approche MWPCA a donné d'excellents résultats lorsqu'elle a été utilisée pour détecter la fin de la sénescence : le dernier pic de T^2 était fortement corrélé avec la valeur T_1 obtenue à l'aide d'une stratégie supervisée (jusqu'à $r = 0,86$) et les dates de ces deux estimations était similaire (différence moyenne de l'ordre ~50 GDD). Le dernier pic de la MWPCA correspond à la fin du processus, représenté par T_1 . La durée de la sénescence, c'est-à-dire le temps entre T_0 et T_1 , explique en grande partie les variations dans la capacité de la MWPCA à prédire correctement le point T_0 . Une durée plus courte, c'est-à-dire une vitesse de sénescence plus élevée, induit des changements rapides dans les composants biochimiques des feuilles modifiant plus en profondeur la signature spectrale. Ces changements rapides sont mieux observés par la MWPCA, comme le montre la forte corrélation (jusqu'à

$r = 0,80$, figure 13) entre la durée de sénescence et les écarts entre $T_{0,MWPCA}$ et T_0 . Ces données suggèrent qu'une stratégie non supervisée basée sur la MWPCA telle qu'utilisée ici sera incapable d'identifier certains changements dans les données spectrales si les propriétés de la matrice évoluent trop lentement. Ces observations sont cohérentes avec d'autres études sur d'autres processus (Haimi et al., 2016; Kruger and Xie, 2012; Lehmann et al., 2015).

Le couplage de l'absence de prétraitement des spectres et d'une petite taille de fenêtre d'apprentissage a dégradé les résultats précédents. Avec ces ensembles de données spectrales brutes, une fenêtre de 5 jours minimum s'est avérée nécessaire pour obtenir des résultats de bonne qualité. Nous avons supposé qu'elle pouvait être liée à l'importance de la variabilité de l'amplitude de la réflectance globale et de la ligne de base (Haimi et al., 2016). Il a été rapporté que le prétraitement SNV réduit la variabilité d'un ensemble de données spectrales généré par l'hétérogénéité de la composition physique des échantillons résultant en des effets multiplicatifs et additifs (Hellmann et al., 2015; Lehmann et al., 2015). Les différences de conditions micro-environnementales d'un jour à l'autre ont pu conduire à une hétérogénéité dans la composition physique des feuilles (Chatterton et al., 1972). De plus, la position de la feuille dans le LeafClip a pu être déplacée lors de l'acquisition du spectre, de sorte que des effets additifs et multiplicatifs ont pu apparaître. Étant donné que le processus de sénescence est davantage lié à la composition biochimique qu'à la composition physique, le prétraitement SNV est une correction appropriée pour utiliser MWPCA. La réduction de l'hétérogénéité spectrale quotidienne non désirée permet d'obtenir des résultats moins dépendants de la taille de la fenêtre. La taille minimale de la fenêtre a été réduite à trois jours au lieu de cinq précédemment et le prétraitement SAVGOL nous a permis d'obtenir des résultats similaires quelle que soit la taille de la fenêtre.

Si l'on considère la distance moyenne entre les points clés (T_0 , T_1) calculée à partir des méthodes supervisées et MWPCA, le meilleur prétraitement est le SNV, avec une taille de fenêtre de 6 à 8. Si le critère est le coefficient de corrélation, le prétraitement et la taille des fenêtres doivent être modifiés en fonction de T_0 ou T_1 . Le prétraitement SNV avec une fenêtre de 5 jours minimum semble être le meilleur compromis.

La connaissance préalable du processus biologique impliqué dans la sénescence est importante pour le choix de certains paramètres de l'analyse MWPCA et l'interprétation des résultats. Par exemple, une information importante à connaître est que tous les individus ont un plateau (pour la première partie de leur courbe sigmoïde) lié à au moins huit mesures. Cette information peut être utilisée pour définir, *a priori*, une gamme de tailles de fenêtre pour l'apprentissage. Ceci a été possible car nous disposions de connaissances préalables grâce au modèle supervisé. Cette information était importante pour réaliser le paramétrage de la MWPCA (notamment la gamme de taille de fenêtre retenue) et discuter de la pertinence des résultats obtenus car elle signifiait que l'apprentissage de la MWPCA. Cette connaissance est classique dans ce type d'approche.

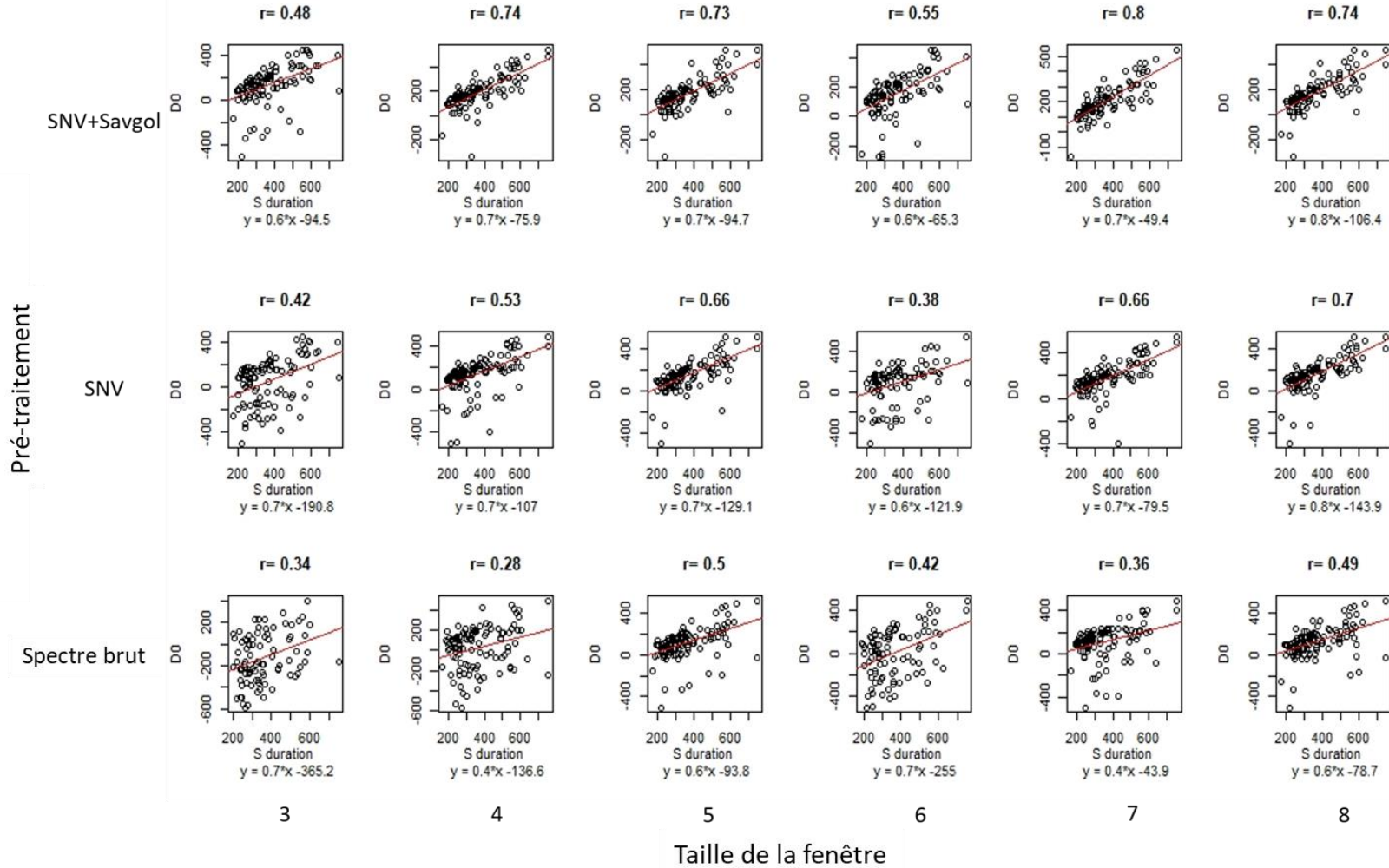


Figure 13 : Corrélations entre la différence entre le $T_{0,MWPCA}$ et le $T_{0,superv}$ (D0) exprimée en degré Jour (°C) et la durée de la sénescence (Sduration) en GDD en fonction de la taille de la fenêtre et du prétraitement. La ligne rouge correspond à la ligne de régression entre les deux paramètres. Le chiffre au-dessus de chaque distribution correspond à la corrélation entre D0 et Sduration.

5. Conclusions

Notre objectif était de gérer un phénotype complexe grâce à un modèle non-supervisé appliqué à des spectres entiers. La sénescence des feuilles a été considérée ici comme un cas d'utilisation. Globalement, notre étude démontre que l'information contenue dans les spectres pouvait être utilisée lors de l'application d'une méthode non supervisée, dans ce cas de la MWPCA, pour caractériser un phénomène biologique intégratif impliquant différents paramètres biochimiques et physiques comme la durée de vie des feuilles. Bien sûr, d'autres travaux sont nécessaires, d'abord pour clarifier si les difficultés à prédire certains points clés de la sénescence tels que T0 sont dues à la méthode utilisée (c'est-à-dire MWPCA) ou intrinsèques à la stratégie non supervisée et, ensuite, pour valider cette méthode en tant que méthode de dépistage sur le terrain ou dans des environnements contrôlés. Pour ce dernier point, la réduction de la complexité des spectres doit être envisagée. En ce qui concerne l'absorption de la lumière dans les régions visibles (pigments), NIR et SWIR (eau, azote), nous avons observé que la réduction des spectres aux régions visibles ou SWIR (400-1000 nm et 1000-2500nm, respectivement) n'avait pas changé les résultats obtenus avec la gamme spectrale complète (données non montrées). Ces résultats suggèrent qu'il est possible de dégrader notre signal tout en limitant le risque de documenter le processus de sénescence sur la seule base des changements de couleur des feuilles.

En conclusion, notre travail suggère que la prise en compte de l'ensemble du spectre, tel que celui d'un trait phénotypique, basé sur une approche holistique, pour documenter un processus biologique complexe peut être pertinent pour aborder à la fois les questions appliquées dans le contexte agricole, et les questions de recherche de pointe en biologie végétale.

6. Références

- Abdulah, S., Alamri, F., Nag, P., Sun, Y., Ltaief, H., Keyes, D.E., Genton, M.G., 2022. The Second Competition on Spatial Statistics for Large Datasets.
- Aboukhaddour, R., Fetch, T., McCallum, B.D., Harding, M.W., Beres, B.L., Graf, R.J., 2020. Wheat diseases on the prairies: A Canadian story. *Plant Pathol* 69, 418–432. <https://doi.org/10.1111/ppa.13147>
- Alappat, B., Alappat, J., 2020. Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. *Molecules* 25, 5500. <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>
- Anderegg, J., Aasen, H., Perich, G., Roth, L., Walter, A., Hund, A., 2021. Temporal trends in canopy temperature and greenness are potential indicators of late-season drought avoidance and functional stay-green in wheat. *Field Crops Research* 274, 108311. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108311>
- Anderegg, J., Hund, A., Karisto, P., Mikaberidze, A., 2019. In-Field Detection and Quantification of Septoria Tritici Blotch in Diverse Wheat Germplasm Using Spectral–Temporal Features. *Front. Plant Sci.* 10, 1355. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01355>
- Anderegg, J., Yu, K., Aasen, H., Walter, A., Liebisch, F., Hund, A., 2020a. Spectral Vegetation Indices to Track Senescence Dynamics in Diverse Wheat Germplasm. *Front. Plant Sci.* 10, 1749. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01749>
- Anderegg, J., Yu, K., Aasen, H., Walter, A., Liebisch, F., Hund, A., 2020b. Spectral Vegetation Indices to Track Senescence Dynamics in Diverse Wheat Germplasm. *Front. Plant Sci.* 10, 1749. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01749>
- Araus, J.L., Kefauver, S.C., Zaman-Allah, M., Olsen, M.S., Cairns, J.E., 2018. Translating High-Throughput Phenotyping into Genetic Gain. *Trends in Plant Science* 23, 451–466. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.02.001>
- Araus, J.L., Labrana, X., 1991. Leaf photosynthesis and chloroplast senescence patterns in wheat flag leaves during grain filling. *Photosynthetica (Praha)* 25, 33–37.
- Arens, N., Backhaus, A., Döll, S., Fischer, S., Seiffert, U., Mock, H.-P., 2016. Non-invasive Presymptomatic Detection of *Cercospora beticola* Infection and Identification of Early Metabolic Responses in Sugar Beet. *Front. Plant Sci.* 07. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01377>
- Arvidsson, S., Pérez-Rodríguez, P., Mueller-Roeber, B., 2011. A growth phenotyping pipeline for *Arabidopsis thaliana* integrating image analysis and rosette area modeling for robust

- quantification of genotype effects. *New Phytologist* 191, 895–907.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03756.x>
- Awhangbo, L., Bendoula, R., Roger, J.M., Béline, F., 2020. Fault detection with moving window PCA using NIRS spectra for monitoring the anaerobic digestion process. *Water Science and Technology* 81, 367–382. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.117>
- Azawi, H., Saleh, M.S., 2021. Review of the Kriging Technique Applications to Groundwater Quality. *jcoeng* 27, 23–32. <https://doi.org/10.31026/j.eng.2021.12.03>
- Ballini, E., Tavaud, M., Ducasse, A., Sanchez, D., Paux, E., Kitt, J., Charmet, G., Audigeos, D., Roumet, P., David, J., Morel, J.-B., 2020. Genome wide association mapping for resistance to multiple fungal pathogens in a panel issued from a broad composite cross-population of tetraploid wheat *Triticum turgidum*. *Euphytica* 216, 92. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02631-9>
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S., Lister, S.J., 1989. Standard Normal Variate Transformation and De-Trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra. *Appl Spectrosc* 43, 772–777. <https://doi.org/10.1366/0003702894202201>
- Bebronne, R., Carlier, A., Meurs, R., Leemans, V., Vermeulen, P., Dumont, B., Mercatoris, B., 2020. In-field proximal sensing of septoria tritici blotch, stripe rust and brown rust in winter wheat by means of reflectance and textural features from multispectral imagery. *Biosystems Engineering* 197, 257–269. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.06.011>
- Behmann, J., Bohnenkamp, D., Paulus, S., Mahlein, A.-K., 2018. Spatial Referencing of Hyperspectral Images for Tracing of Plant Disease Symptoms. *J. Imaging* 4, 143. <https://doi.org/10.3390/jimaging4120143>
- Bertrand, D., Dufour, E., 2006. *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Lavoisier.
- Blackman, E., 1971. The Morphology and Development of Cross Veins in the Leaves of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany* 35, 653–665. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084510>
- Bogard, M., Jourdan, M., Allard, V., Martre, P., Perretant, M.R., Ravel, C., Heumez, E., Orford, S., Snape, J., Griffiths, S., Gaju, O., Foulkes, J., Le Gouis, J., 2011. Anthesis date mainly explained correlations between post-anthesis leaf senescence, grain yield, and grain protein concentration in a winter wheat population segregating for flowering time QTLs. *Journal of Experimental Botany* 62, 3621–3636. <https://doi.org/10.1093/jxb/err061>

- Bohnenkamp, D., 2020. Hyperspectral in-field sensing of foliar diseases of wheat 158.
- Bohnenkamp, D., Behmann, J., Paulus, S., Steiner, U., Mahlein, A.-K., 2021a. A Hyperspectral Library of Foliar Diseases of Wheat. *Phytopathology*® 111, 1583–1593. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-19-0335-R>
- Bohnenkamp, D., Behmann, J., Paulus, S., Steiner, U., Mahlein, A.-K., 2021b. A Hyperspectral Library of Foliar Diseases of Wheat. *Phytopathology*® 111, 1583–1593. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-19-0335-R>
- Börjesson, T., Stenberg, B., Schnürer, J., 2007. Near-infrared spectroscopy for estimation of ergosterol content in barley: A comparison between reflectance and transmittance techniques. *Cereal chemistry* 84, 231–236.
- Brown, J.K.M., Chartrain, L., Lasserre-Zuber, P., Saintenac, C., 2015. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genetics and Biology* 79, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.017>
- Camargo, A.V., Mott, R., Gardner, K.A., Mackay, I.J., Corke, F., Doonan, J.H., Kim, J.T., Bentley, A.R., 2016. Determining Phenological Patterns Associated with the Onset of Senescence in a Wheat MAGIC Mapping Population. *Front. Plant Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01540>
- Camargo Rodriguez, A.V., 2021. Integrative Modelling of Gene Expression and Digital Phenotypes to Describe Senescence in Wheat. *Genes* 12, 909. <https://doi.org/10.3390/genes12060909>
- Chapman, E.A., Orford, S., Lage, J., Griffiths, S., 2021. Capturing and Selecting Senescence Variation in Wheat. *Front. Plant Sci.* 12, 638738. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.638738>
- Chatterton, N.J., Lee, D.R., Hungerford, W.E., 1972. Diurnal Change in Specific Leaf Weight of *Medicago sativa* L. and *Zea mays* L. ¹. *Crop Sci.* 12, 576–578. <https://doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183X001200050008x>
- Christopher, J.T., Veyradier, M., Borrell, A.K., Harvey, G., Fletcher, S., Chenu, K., 2014. Phenotyping novel stay-green traits to capture genetic variation in senescence dynamics. *Functional Plant Biol.* 41, 1035. <https://doi.org/10.1071/FP14052>
- Cobb, J.N., DeClerck, G., Greenberg, A., Clark, R., McCouch, S., 2013. Next-generation phenotyping: requirements and strategies for enhancing our understanding of genotype–phenotype relationships and its relevance to crop improvement. *Theor Appl Genet* 126, 867–887. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2066-0>

- Costa, C., Schurr, U., Loreto, F., Menesatti, P., Carpentier, S., 2019. Plant Phenotyping Research Trends, a Science Mapping Approach. *Front. Plant Sci.* 9, 1933. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01933>
- Crandall, S.G., Gold, K.M., Jiménez-Gasco, M. del M., Filgueiras, C.C., Willett, D.S., 2020. A multi-omics approach to solving problems in plant disease ecology. *PLoS ONE* 15, e0237975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237975>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., Tavaud-Pirra, M., 2014. Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Mol Breeding* 34, 1531–1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Deery, D.M., Jones, H.G., 2021. Field Phenomics: Will It Enable Crop Improvement? *Plant Phenomics* 2021, 1–16. <https://doi.org/10.34133/2021/9871989>
- Delalieux, S., Somers, B., Verstraeten, W.W., van Aardt, J.A.N., Keulemans, W., Coppin, P., 2009. Hyperspectral indices to diagnose leaf biotic stress of apple plants, considering leaf phenology. *International Journal of Remote Sensing* 30, 1887–1912. <https://doi.org/10.1080/01431160802541556>
- Devadas, R., Lamb, D.W., Backhouse, D., Simpfendorfer, S., 2015. Sequential application of hyperspectral indices for delineation of stripe rust infection and nitrogen deficiency in wheat. *Precision Agric* 16, 477–491. <https://doi.org/10.1007/s11119-015-9390-0>
- Distelfeld, A., Avni, R., Fischer, A.M., 2014. Senescence, nutrient remobilization, and yield in wheat and barley. *Journal of Experimental Botany* 65, 3783–3798. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert477>
- Dowell, F., Ram, M., Seitz, L., 1999. Predicting scab, vomitoxin, and ergosterol in single wheat kernels using near-infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry* 76, 573–576.
- Duba, A., Goriewa-Duba, K., Wachowska, U., 2018. A Review of the Interactions between Wheat and Wheat Pathogens: *Zymoseptoria tritici*, *Fusarium* spp. and *Parastagonospora nodorum*. *IJMS* 19, 1138. <https://doi.org/10.3390/ijms19041138>
- Ecarnot, M., Compan, F., Roumet, P., 2013. Assessing leaf nitrogen content and leaf mass per unit area of wheat in the field throughout plant cycle with a portable spectrometer. *Field Crops Research* 140, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.10.013>
- Falana, O.B., Durodola, O.I., 2022. Multimodal Remote Sensing and Machine Learning for Precision Agriculture: A Review. *JERR* 30–34. <https://doi.org/10.9734/jerr/2022/v23i8740>

- Fantozzi, E., Kilaru, S., Gurr, S.J., Steinberg, G., 2021. Asynchronous development of *Zymoseptoria tritici* infection in wheat. *Fungal Genetics and Biology* 146, 103504. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103504>
- Femenias, A., Gatius, F., Ramos, A.J., Sanchis, V., Marín, S., 2021. Near-infrared hyperspectral imaging for deoxynivalenol and ergosterol estimation in wheat samples. *Food Chemistry* 341, 128206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128206>
- Fiorani, F., Schurr, U., 2013. Future Scenarios for Plant Phenotyping. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 267–291. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120137>
- Flavel, R.J., Guppy, C.N., Tighe, M., Watt, M., McNeill, A., Young, I.M., 2012. Non-destructive quantification of cereal roots in soil using high-resolution X-ray tomography. *Journal of Experimental Botany* 63, 2503–2511. <https://doi.org/10.1093/jxb/err421>
- Fones, H., Gurr, S., 2015. The impact of *Septoria tritici* Blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genetics and Biology* 79, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.004>
- Francesconi, S., 2022. High-throughput and point-of-care detection of wheat fungal diseases: Potentialities of molecular and phenomics techniques toward in-field applicability. *Front. Agron.* 4, 980083. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.980083>
- Furbank, R.T., Tester, M., 2011. Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science* 16, 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.09.005>
- Gausman, D.H., 1974. Leaf Reflectance of Near-Infrared. *Photogramm Eng* 40, 183–91.
- Gelang, J., 2000. Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone. *Physiol. Plant.* 10.
- Ghaffary, S.M.T., Chawade, A., Singh, P.K., 2018. Practical breeding strategies to improve resistance to *Septoria tritici* blotch of wheat. *Euphytica* 214, 122. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2205-4>
- Gitelson, A., Merzlyak, M.N., 1994. Spectral Reflectance Changes Associated with Autumn Senescence of *Aesculus hippocastanum* L. and *Acer platanoides* L. Leaves. Spectral Features and Relation to Chlorophyll Estimation. *J. Plant Physiol* 143, 286–292.
- Golzarian, M.R., Frick, R.A., Rajendran, K., Berger, B., Roy, S., Tester, M., Lun, D.S., 2011. Accurate inference of shoot biomass from high-throughput images of cereal plants. *Plant Methods* 7, 2. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-7-2>

- Gustafson, P., Raskina, O., Ma, X., Nevo, E., 2009. Wheat Evolution, Domestication, and Improvement, in: Carver, B.F. (Ed.), *Wheat Science and Trade*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 3–30. <https://doi.org/10.1002/9780813818832.ch1>
- Haimi, H., Mulas, M., Corona, F., Marsili-Libelli, S., Lindell, P., Heinonen, M., Vahala, R., 2016. Adaptive data-derived anomaly detection in the activated sludge process of a large-scale wastewater treatment plant. *Engineering Applications of Artificial Intelligence* 52, 65–80. <https://doi.org/10.1016/j.engappai.2016.02.003>
- Hauelsen, J., Möller, M., Eschenbrenner, C.J., Grandaubert, J., Seybold, H., Adamiak, H., Stukenbrock, E.H., 2019. Highly flexible infection programs in a specialized wheat pathogen. *Ecol Evol* 9, 275–294. <https://doi.org/10.1002/ece3.4724>
- Hellmann, C., Große-Stoltenberg, A., Lauströ, V., Oldeland, J., Werner, C., 2015. Retrieving nitrogen isotopic signatures from fresh leaf reflectance spectra: disentangling $\delta^{15}\text{N}$ from biochemical and structural leaf properties. *Front. Plant Sci.* 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00307>
- Hillnhütter, C., Mahlein, A.-K., Sikora, R.A., Oerke, E.-C., 2012. Use of imaging spectroscopy to discriminate symptoms caused by *Heterodera schachtii* and *Rhizoctonia solani* on sugar beet. *Precision Agric* 13, 17–32. <https://doi.org/10.1007/s11119-011-9237-2>
- Jannink, J.-L., Lorenz, A.J., Iwata, H., 2010. Genomic selection in plant breeding: from theory to practice. *Briefings in Functional Genomics* 9, 166–177. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elq001>
- Joe Qin, S., 2003. Statistical process monitoring: basics and beyond. *J. Chemometrics* 17, 480–502. <https://doi.org/10.1002/cem.800>
- Jørgensen, L.N., Oliver, R.P., Heick, T.M., 2018. Occurrence and avoidance of fungicide resistance in cereal diseases, in: *Integrated Disease Management of Wheat and Barley*. Burleigh Dodds Science Publishing, pp. 255–280.
- Keon, J., Antoniw, J., Carzaniga, R., Deller, S., Ward, J.L., Baker, J.M., Beale, M.H., Hammond-Kosack, K., Rudd, J.J., 2007. Transcriptional Adaptation of *Mycosphaerella graminicola* to Programmed Cell Death (PCD) of Its Susceptible Wheat Host. *MPMI* 20, 178–193. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-2-0178>
- Kirby, E., 2002. Botany of the wheat plant. Bread wheat improvement and production. *FAO Plant production and protection series* 30–52.
- Kourti, T., MacGregor, J.F., 1995. Process analysis, monitoring and diagnosis, using multivariate projection methods. *Chemometrics and intelligent laboratory systems* 28, 3–21.

- Kumar, D.R., Singh, R.K., Panda, D.A., Singh, S.K., 2021. Nano Urea: An Efficient Tool for Precision Agriculture and Sustainability 2, 3.
- Kumar, P., Huang, C., Cai, J., Miklavcic, S.J., 2014. Root phenotyping by root tip detection and classification through statistical learning. *Plant Soil* 380, 193–209. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2071-3>
- Kuska, M.T., Behmann, J., Großkinsky, D.K., Roitsch, T., Mahlein, A.-K., 2018. Screening of Barley Resistance Against Powdery Mildew by Simultaneous High-Throughput Enzyme Activity Signature Profiling and Multispectral Imaging. *Front. Plant Sci.* 9, 1074. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01074>
- Lehmann, J., Große-Stoltenberg, A., Römer, M., Oldeland, J., 2015. Field Spectroscopy in the VNIR-SWIR Region to Discriminate between Mediterranean Native Plants and Exotic-Invasive Shrubs Based on Leaf Tannin Content. *Remote Sensing* 7, 1225–1241. <https://doi.org/10.3390/rs70201225>
- Lev-Yadun, S., Gould, K.S., 2008. Role of Anthocyanins in Plant Defence, in: Winefield, C., Davies, K., Gould, K. (Eds.), *Anthocyanins*. Springer New York, New York, NY, pp. 22–28. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3_2
- Li, L., Zhang, Q., Huang, D., 2014. A Review of Imaging Techniques for Plant Phenotyping. *Sensors* 14, 20078–20111. <https://doi.org/10.3390/s141120078>
- Lim, P.O., Kim, H.J., Gil Nam, H., 2007. Leaf Senescence. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 115–136. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105316>
- Lopes, M.S., Saglam, D., Ozdogan, M., Reynolds, M., 2014. Traits associated with winter wheat grain yield in Central and West Asia: Drought and heat adaptation in winter wheat. *J. Integr. Plant Biol.* 56, 673–683. <https://doi.org/10.1111/jipb.12172>
- López, M.M., Bertolini, E., Olmos, A., Caruso, P., Gorris, M.T., Llop, P., Penyalver, R., Cambra, M., 2003. Innovative tools for detection of plant pathogenic viruses and bacteria. *Int Microbiol* 6, 233–243. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0143-y>
- Lovell, D.J., Hunter, T., Powers, S.J., Parker, S.R., Van den Bosch, F., 2004. Effect of temperature on latent period of septoria leaf blotch on winter wheat under outdoor conditions. *Plant Pathology* 53, 170–181. <https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.00983.x>
- Lowe, A., Harrison, N., French, A.P., 2017. Hyperspectral image analysis techniques for the detection and classification of the early onset of plant disease and stress. *Plant Methods* 13, 80. <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0233-z>

- Lu, B., Dao, P., Liu, J., He, Y., Shang, J., 2020. Recent Advances of Hyperspectral Imaging Technology and Applications in Agriculture. *Remote Sensing* 12, 2659. <https://doi.org/10.3390/rs12162659>
- Ma, D., Yuan, Y., Wang, Q., 2018. Hyperspectral Anomaly Detection via Discriminative Feature Learning with Multiple-Dictionary Sparse Representation. *Remote Sensing* 10, 745. <https://doi.org/10.3390/rs10050745>
- Mahlein, A.-K., 2016. Plant Disease Detection by Imaging Sensors – Parallels and Specific Demands for Precision Agriculture and Plant Phenotyping. *Plant Disease* 100, 241–251. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0340-FE>
- Mahlein, A.-K., Kuska, M.T., Thomas, S., Wahabzada, M., Behmann, J., Rascher, U., Kersting, K., 2019. Quantitative and qualitative phenotyping of disease resistance of crops by hyperspectral sensors: seamless interlocking of phytopathology, sensors, and machine learning is needed! *Current Opinion in Plant Biology* 50, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.06.007>
- Mahlein, A.-K., Steiner, U., Dehne, H.-W., Oerke, E.-C., 2010. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. *Precision Agric* 11, 413–431. <https://doi.org/10.1007/s11119-010-9180-7>
- Makdessi, N.A., Jean, P.-A., Ecarnot, M., Gorretta, N., Rabatel, G., Roumet, P., 2017. How plant structure impacts the biochemical leaf traits assessment from in-field hyperspectral images: A simulation study based on light propagation modeling in 3D virtual wheat scenes. *Field Crops Research* 205, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.001>
- Manning, K.S., Cooper, T.A., 2017. The roles of RNA processing in translating genotype to phenotype. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18, 102–114. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.139>
- Martens, H., Naes, T., 1989. *Multivariate Calibration*, Wiley. ed. New-York.
- Martinelli, F., Scalenghe, R., Davino, S., Panno, S., Scuderi, G., Ruisi, P., Villa, P., Stroppiana, D., Boschetti, M., Goulart, L.R., Davis, C.E., Dandekar, A.M., 2015. Advanced methods of plant disease detection. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 1–25. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0246-1>
- McCartney, C.A., Somers, D.J., Fedak, G., Cao, W., 2004. Haplotype diversity at fusarium head blight resistance QTLs in wheat. *Theor Appl Genet* 109, 261–271. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1640-x>
- Menzel, M.I., Tittmann, S., Bühler, J., Preis, S., Wolters, N., Jahnke, S., Walter, A., Chlubek, A., Leon, A., Hermes, N., Offenhäuser, A., Gilmer, F., Blümmler, P., Schurr, U., Krause,

- H.-J., 2009. Non-invasive determination of plant biomass with microwave resonators. *Plant, Cell & Environment* 32, 368–379. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01931.x>
- Mitra, D., 2021. Emerging Plant Diseases: Research Status and Challenges, in: Singh, K.P., Jahagirdar, S., Sarma, B.K. (Eds.), *Emerging Trends in Plant Pathology*. Springer Singapore, Singapore, pp. 1–17. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6275-4_1
- Monforte, A.J., Diaz, A., Caño-Delgado, A., van der Knaap, E., 2013. The genetic basis of fruit morphology in horticultural crops: lessons from tomato and melon. *Journal of Experimental Botany* 65, 4625–4637. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru017>
- Montazeaud, G., Karatoğma, H., Öztürk, I., Roumet, P., Ecartot, M., Crossa, J., Özer, E., Özdemir, F., Lopes, M.S., 2016. Predicting wheat maturity and stay-green parameters by modeling spectral reflectance measurements and their contribution to grain yield under rainfed conditions. *Field Crops Research* 196, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.06.021>
- Morel, J., Jay, S., Féret, J.-B., Bakache, A., Bendoula, R., Carreel, F., Gorretta, N., 2018. Exploring the potential of PROCOSINE and close-range hyperspectral imaging to study the effects of fungal diseases on leaf physiology. *Sci Rep* 8, 15933. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34429-0>
- Mur, L.A.J., Kenton, P., Lloyd, A.J., Ougham, H., Prats, E., 2008. The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? *J. Exp. Bot.* 59, 501–520. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm239>
- Næs, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T., 2002. *A user-friendly guide to multivariate calibration and classification*. NIR Chichester.
- Nagasubramanian, K., Jones, S., Singh, A.K., Sarkar, S., Singh, A., Ganapathysubramanian, B., 2019. Plant disease identification using explainable 3D deep learning on hyperspectral images. *Plant Methods* 15, 98. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0479-8>
- Odilbekov, F., Armoniené, R., Henriksson, T., Chawade, A., 2018. Proximal Phenotyping and Machine Learning Methods to Identify Septoria Tritici Blotch Disease Symptoms in Wheat. *Front. Plant Sci.* 9, 685. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00685>
- Oerke, E.-C., 2006. Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* 144, 31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Osman, S.O.M., Saad, A.S.I., Tadano, S., Takeda, Y., Yamasaki, Y., Tahir, I.S.A., Tsujimoto, H., Akashi, K., 2022. Probing Differential Metabolome Responses among Wheat

- Genotypes to Heat Stress Using Fourier Transform Infrared-Based Chemical Fingerprinting. *Agriculture* 12, 753. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060753>
- Pichon, L., Bopp, O., Tisseyre, B., 2021. Pichon, L., Bopp, O., & Tisseyre, B. Characterising the within-field variability of vine water status with simple visual, in: *Precision Agriculture'21*. pp. 17–27.
- Pimentel, D., Zuniga, R., Morrison, D., 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* 52, 273–288. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2004.10.002>
- R Development Core Team, 2012. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Radočaj, D., Jurišić, M., Gašparović, M., 2022. The Role of Remote Sensing Data and Methods in a Modern Approach to Fertilization in Precision Agriculture. *Remote Sensing* 14, 778. <https://doi.org/10.3390/rs14030778>
- Reynolds, M., Chapman, S., Crespo-Herrera, L., Molero, G., Mondal, S., Pequeno, D.N.L., Pinto, F., Pinera-Chavez, F.J., Poland, J., Rivera-Amado, C., Saint Pierre, C., Sukumaran, S., 2020. Breeder friendly phenotyping. *Plant Science* 295, 110396. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110396>
- Rincent, R., Charpentier, J.-P., Faivre-Rampant, P., Paux, E., Le Gouis, J., Bastien, C., Segura, V., 2018. Phenomic Selection Is a Low-Cost and High-Throughput Method Based on Indirect Predictions: Proof of Concept on Wheat and Poplar. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 8, 3961–3972. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200760>
- Robert, C., Garin, G., Abichou, M., Houlès, V., Pradal, C., Fournier, C., 2018. Plant architecture and foliar senescence impact the race between wheat growth and *Zymoseptoria tritici* epidemics. *Annals of Botany* 121, 975–989. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx192>
- Roitsch, T., Cabrera-Bosquet, L., Fournier, A., Ghamkhar, K., Jiménez-Berni, J., Pinto, F., Ober, E.S., 2019. Review: New sensors and data-driven approaches—A path to next generation phenomics. *Plant Science* 282, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.011>
- Rouse Jr, J.W., Haas, R.H., Deering, D.W., Schell, J.A., Harlan, J.C., 1974. Monitoring the Vernal Advancement and Retrogradation (Green Wave Effect) of Natural Vegetation. No. E75-10354.
- Sánchez-Vallet, A., Mesters, J.R., Thomma, B.P.H.J., 2015. The battle for chitin recognition in plant-microbe interactions. *FEMS Microbiology Reviews* 39, 171–183. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu003>

- Sankaran, S., Mishra, A., Ehsani, R., Davis, C., 2010. A review of advanced techniques for detecting plant diseases. *Computers and Electronics in Agriculture* 72, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.02.007>
- Savary, S., Stetkiewicz, S., Brun, F., Willocquet, L., 2015. Modelling and mapping potential epidemics of wheat diseases—examples on leaf rust and *Septoria tritici* blotch using EPIWHEAT. *Eur J Plant Pathol* 142, 771–790. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0650-7>
- Savitzky, Abraham., Golay, M.J.E., 1964. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Anal. Chem.* 36, 1627–1639. <https://doi.org/10.1021/ac60214a047>
- Schmitt, E., Rato, T., De Ketelaere, B., Reis, M., Hubert, M., 2016. Parameter selection guidelines for adaptive PCA-based control charts: Parameter selection guidelines for adaptive PCA-based control charts. *J. Chemometrics* 30, 163–176. <https://doi.org/10.1002/cem.2783>
- Sharma, A., Jain, A., Gupta, P., Chowdary, V., 2021. Machine Learning Applications for Precision Agriculture: A Comprehensive Review. *IEEE Access* 9, 4843–4873. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3048415>
- Shetty, N., Gislum, R., 2011. Quantification of fructan concentration in grasses using NIR spectroscopy and PLSR. *Field Crops Research* 120, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.08.008>
- Shetty, N.P., Jensen, J.D., Knudsen, A., Finnie, C., Geshi, N., Blennow, A., Collinge, D.B., Jorgensen, H.J.L., 2009. Effects of -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat. *Journal of Experimental Botany* 60, 4287–4300. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp269>
- Simón, M.R., Börner, A., Struik, P.C., 2021. Editorial: Fungal Wheat Diseases: Etiology, Breeding, and Integrated Management. *Front. Plant Sci.* 12, 671060. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.671060>
- Singh, R.P., Singh, P.K., Rutkoski, J., Hodson, D.P., He, X., Jørgensen, L.N., Hovmøller, M.S., Huerta-Espino, J., 2016. Disease Impact on Wheat Yield Potential and Prospects of Genetic Control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 54, 303–322. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095835>
- Sishodia, R.P., Ray, R.L., Singh, S.K., 2020. Applications of Remote Sensing in Precision Agriculture: A Review. *Remote Sensing* 12, 3136. <https://doi.org/10.3390/rs12193136>

- Somers, D.J., Isaac, P., Edwards, K., 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109, 1105–1114. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1740-7>
- Sultana, N., Islam, S., Juhasz, A., Ma, W., 2021. Wheat leaf senescence and its regulatory gene network. *The Crop Journal* 9, 703–717. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.01.004>
- Taiti, C., Costa, C., Menesatti, P., Comparini, D., Bazihizina, N., Azzarello, E., Masi, E., Mancuso, S., 2015. Class-modeling approach to PTR-TOFMS data: a peppers case study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95, 1757–1763.
- Thomas, H., Howarth, C.J., 2000. Five ways to stay green. *Journal of Experimental Botany* 51, 329–337. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.suppl_1.329
- Tosi, S., Sfeir, C., Carnesecchi, E., Chauzat, M.-P., others, 2022. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. *Science of The Total Environment* 156857.
- Vicente, R., Pérez, P., Martínez-Carrasco, R., Usadel, B., Kostadinova, S., Morcuende, R., 2015. Quantitative RT–PCR platform to measure transcript levels of C and N metabolism-related genes in durum wheat: transcript profiles in elevated [CO₂] and high temperature at different levels of N supply. *Plant and Cell Physiology* 56, 1556–1573.
- Vilmus, I., Ecartot, M., Verzelen, N., Roumet, P., 2014. Monitoring Nitrogen Leaf Resorption Kinetics by Near-Infrared Spectroscopy during Grain Filling in Durum Wheat in Different Nitrogen Availability Conditions. *Crop Science* 54, 284–296. <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.02.0099>
- Vimus, I., 2013. Analyse des déterminants génétiques contrôlant la résorption d’azote chez le blé dur, relations avec les paramètres quantitatifs et qualitatifs de la récolte.
- Wahabzada, M., Mahlein, A.-K., Bauckhage, C., Steiner, U., Oerke, E.-C., Kersting, K., 2015. Metro Maps of Plant Disease Dynamics—Automated Mining of Differences Using Hyperspectral Images. *PLoS ONE* 10, e0116902. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116902>
- Walter, A., Silk, W.K., Schurr, U., others, 2009. Environmental effects on spatial and temporal patterns of leaf and root growth. *Annual review of plant biology* 60, 279–304.
- Wang, S., Guan, K., Wang, Z., Ainsworth, E.A., Zheng, T., Townsend, P.A., Li, K., Moller, C., Wu, G., Jiang, C., 2021. Unique contributions of chlorophyll and nitrogen to predict crop photosynthetic capacity from leaf spectroscopy. *Journal of Experimental Botany* 72, 341–354. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa432>

- Watt, M., Fiorani, F., Usadel, B., Rascher, U., Muller, O., Schurr, U., 2020. Phenotyping: New Windows into the Plant for Breeders. *Annu. Rev. Plant Biol.* 71, 689–712. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-041124>
- Willocquet, L., Savary, S., Yuen, J., 2017. Multiscale phenotyping and decision strategies in breeding for resistance. *Trends in Plant Science* 22, 420–432.
- Wold, H., 1966. Estimation of principal components and related models by iterative least squares. *Multivariate analysis* 391–420.
- Xie, Q., Mayes, S., Sparkes, D.L., 2016. Early anthesis and delayed but fast leaf senescence contribute to individual grain dry matter and water accumulation in wheat. *Field Crops Research* 187, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.12.009>
- Yang, F., Li, W., Jørgensen, H.J.L., 2013. Transcriptional Reprogramming of Wheat and the Hemibiotrophic Pathogen *Septoria tritici* during Two Phases of the Compatible Interaction. *PLoS ONE* 8, e81606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081606>
- Yang, W., Feng, H., Zhang, X., Zhang, J., Doonan, J.H., Batchelor, W.D., Xiong, L., Yan, J., 2020. Crop Phenomics and High-Throughput Phenotyping: Past Decades, Current Challenges, and Future Perspectives. *Molecular Plant* 13, 187–214. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.01.008>
- Yu, K., Andereg, J., Mikaberidze, A., Karisto, P., Mascher, F., McDonald, B.A., Walter, A., Hund, A., 2018. Hyperspectral Canopy Sensing of Wheat *Septoria Tritici* Blotch Disease. *Front. Plant Sci.* 9, 1195. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01195>

Chapitre 3 : Infection par la septoriose

1. Introduction

Le blé est une des céréales la plus produite ainsi que la plus consommée dans le monde, avec le maïs et le riz, ce qui en fait une plante d'importance majeure sur un plan économique (Gustafson et al., 2009). Les maladies du blé (Pimentel et al., 2005; Singh et al., 2016) se traduisent par des symptômes apparaissant sur différentes parties des plantes, causant des dommages aux tissus et un impact agronomique et économique important (López et al., 2003). Dans le cas spécifique du blé, environ 10% des pertes de rendement estimées sont dues à des pathogènes fongiques (Aboukhaddour et al., 2020; Oerke, 2006; Simón et al., 2021). La lutte contre ces maladies a principalement utilisé le levier chimique mais ces dernières années des résistances sont apparues (Jørgensen et al., 2018) et les effets de ces molécules sur l'environnement incite fortement à en modérer l'usage (Tosi et al., 2022). Une des manières de limiter les doses de fongicides est de pouvoir mieux positionner les traitements *via* des outils d'aide à la décision (Savary et al., 2015). Cependant pour être efficace ces outils nécessitent souvent un suivi précis de l'évolution de la maladie sur le terrain et notamment une détection précoce. Ainsi, il est clair qu'une détection précoce des maladies, basée sur la compréhension des interactions hôte-pathogène, peut aider à diminuer ces pertes, à prévenir la propagation des maladies et à améliorer le rendement agricole total (Mitra, 2021; Sankaran et al., 2010). Dans ce chapitre, nous essayons de réaliser cette détection dans le cadre de l'interaction entre le blé dur (*Triticum turgidum subsp. durum*) et la septoriose (*Mycosphaerella graminicola* (asexual stage *Zymoseptoria tritici*, synonym *Septoria tritici*).

Septoria tritici blotch (la septoriose) est une maladie du blé causée par un champignon ascomycète, fortement nuisible, pouvant causer des pertes financières significatives (Fones and Gurr, 2015). Cette maladie est caractérisée par l'apparition de nécroses et de pycnides (structures reproductrices du champignon) au niveau des feuilles, causant une perte de rendement. Il s'agit d'un champignon hémibiotrophe, c'est-à-dire que son cycle de vie comporte une phase biotrophe et une phase nécrotrophe (Figure 14). En effet, entre l'infection et la production de spores, un changement de métabolisme du champignon se produit (Sánchez-Vallet et al., 2015).

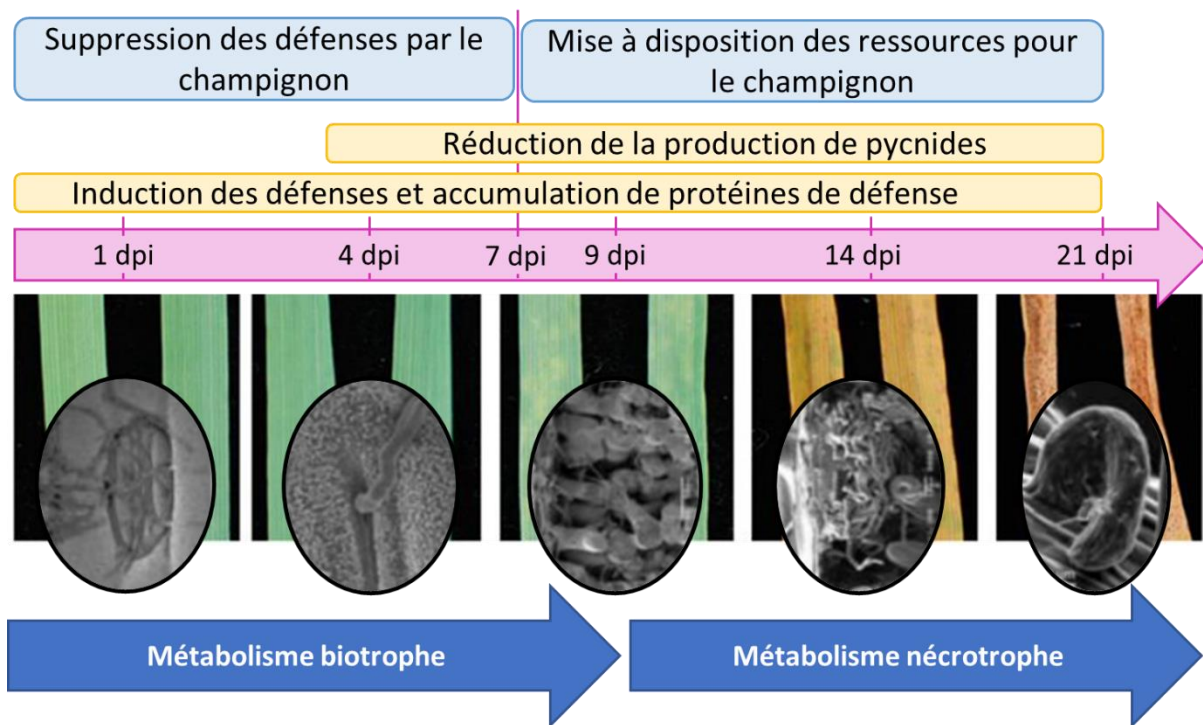


Figure 14 : Cycle de vie de la septoriose (*Mycosphaerella graminicola* (asexual stage *Zymoseptoria tritici*, synonym *Septoria tritici*) d'après Brennan et al., 2019 et Rudd et al., 2015.

En premier lieu, la spore de *Z. tritici* se dépose à la surface de la feuille de blé et pénètre dans la feuille par les stomates. Cette étape se fait dans certaines conditions d'humidité et de température (Lovell et al., 2004). Le champignon entre dans une phase biotrophe, il colonise la cavité stomatique de la feuille et s'insère dans l'espace intercellulaire de la plante (Figure 15).

Aucun symptôme n'est visible à ce stade de l'infection car *Z. tritici* semble capable d'inhiber les défenses de la plante. À la fin de la phase biotrophe (environ 9 à 10 jours, Figure 16), le champignon débute la production de structure de reproduction (pré-pycnides) et passe à un métabolisme nécrotrophe (Duba et al., 2018; Haueisen et al., 2019; Keon et al., 2007; Yang et al., 2013). La phase nécrotrophe (environ 12 à 20 jours) correspond à l'apparition des symptômes, et notamment à la fin du cycle, des pycnides (Keon et al., 2007). Durant cette phase, il semblerait que *Z. tritici* utilise des protéines pour induire des mécanismes de défense de l'hôte (Mur et al., 2008). Dans ce cas, la plante va provoquer la mort cellulaire des cellules infectées et de celles se trouvant aux alentours de la zone infectée permettant ainsi la libération des nutriments cellulaires de la plante dans l'espace intercellulaire. Cette action permet alors l'augmentation de la biomasse fongique et la formation de pycnides à des fins reproductrices (Duba et al., 2018).

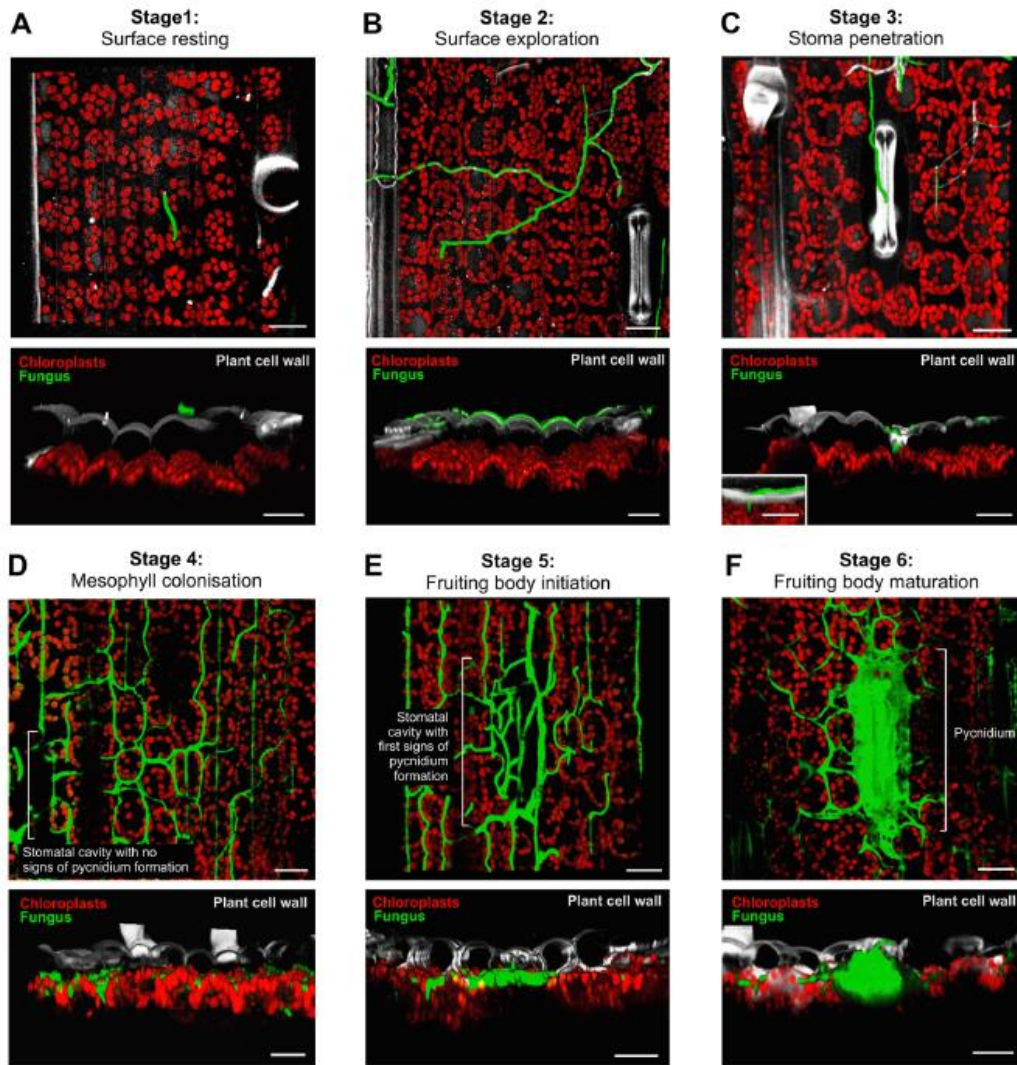


Figure 15 : Stades d'infection de *Z. tritici* dans le blé d'après Fantozzi et al, 2021. L'épiderme de la plante (gris) et les chloroplastes (rouge) sont détectés par leur auto-fluorescence. Les cellules fongiques expriment l'eGFP cytoplasmique (vert). L'image supérieure montre une vue de dessus et l'image inférieure une vue latérale d'images confociales. Les barres d'échelle représentent 20 µm. (A) Stade 1, "Repos en surface". Une spore de type "levure" se pose sur la surface de la feuille, où elle peut survivre pendant plusieurs jours. Durant cette période, elle peut passer au stade 2 et envahir la plante. (B) Stade 2, "Exploration de la surface". Les spores peuvent changer et former un hypha infectieux, qui se développe de manière dirigée. Ces hyphes explorent la surface et finissent par pénétrer dans la feuille via le stomate (C) Stade 3, "Pénétration du stomate". Les hyphes pénètrent dans l'hôte par les ouvertures stomatiques. (D) Stade 4, "colonisation du mésophylle". Le champignon se développe dans l'espace apoplastique entre les cellules intactes du mésophylle. Pendant cette phase "biotrophique", aucun symptôme d'infection n'est visible. (E) Stade 5, "Initiation du corps fructifère". Les hyphes se développent dans la cavité des stomates vierges et commencent à remplir cet espace de matériel fongique. Cette étape du développement marque le début de la phase necrotrophe, reconnue par les premiers signes de chlorose foliaire. (F) Stade 6, "maturation du corps fructifère". Les hyphes ont rempli la cavité substomatale et le corps fructifère (pycnide) commence à produire des spores.

Sur une feuille chaque spore arrivant sur la feuille va mettre en place ce cycle indépendamment avec une dynamique temporelle hétérogène ce qui explique la grande hétérogénéité spatiale des symptômes de septoriose (Fantozzi et al., 2021). De plus sur le terrain chaque isolat de septoriose peut présenter une dynamique différente (Haueisen et al., 2019) (Figure 16). La biologie particulière de ce

hémibiotrophe rend donc son phénotypage particulièrement difficile alors qu'une détection précoce avant l'apparition des symptômes (12 jours) serait bénéfique.

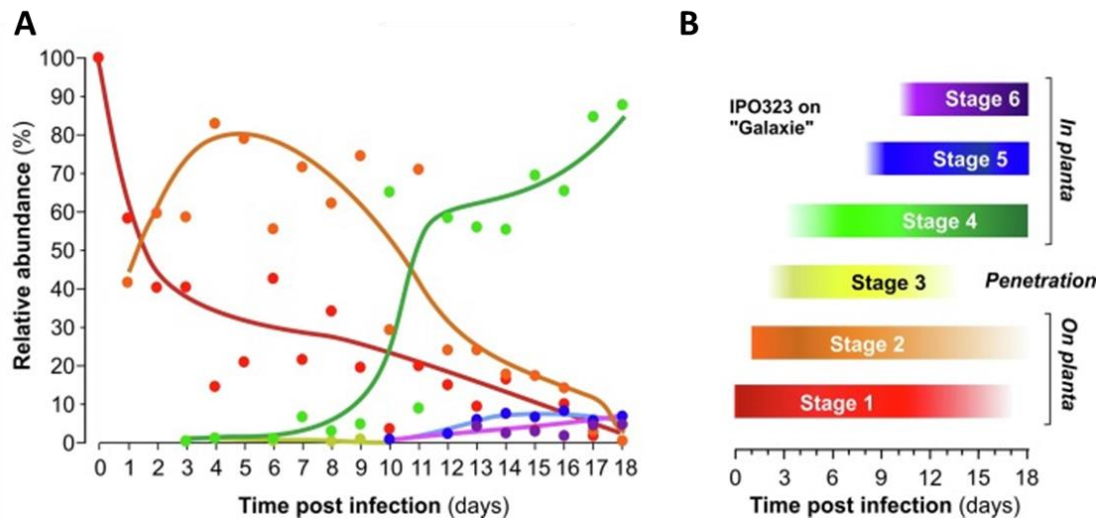


Figure 16 : Abondance relative des 6 stades de développement de la souche IPO323_G de *Z. tritici* sur et dans les feuilles de blé infectées jusqu'à 18 jours après infection (« days post infection » dpi) d'après Fantozzi et al., 2021. (A) Graphique montrant l'abondance relative des structures fongiques à différents jours après l'infection. (B) Représentation graphique simplifiée des données quantitatives de la figure A.

Des marqueurs de nombreux gènes pouvant être impliqués dans une résistance quantitative à certains stades de développement de *Z. tritici* ont été identifiés (Ballini et al., 2020; Brown et al., 2015; Ghaffary et al., 2018; McCartney et al., 2004; Somers et al., 2004). Ces marqueurs ont été mis en évidence chez plusieurs populations selon deux types de résistance différents : (1) une résistance au développement et à la croissance du champignon *in planta* qui se traduit par une réduction des nécroses; (2) une résistance à la multiplication du champignon et donc sa capacité à se reproduire qui se traduit par une réduction de la formation des pycnides (Ballini et al., 2020). Les génotypes de blé dur utilisés dans ce projet sont deux génotypes issus de la population EPO (David et al., 2014) et ayant deux phénotypes différents liés à la septoriose (Ballini et al., 2020) : la lignée EPO_068 est sensible et l'autre EPO_067 est aussi sensible en terme de formation des nécroses mais elle limite la formation des pycnides. Ces deux lignées présenteront donc une dynamique de mise en place de la maladie similaire dans les premières phases de l'infection, mais des différences de résistance (probablement lié à la présence du QTL de résistance situé sur le chromosome 3A) dans la dernière phase (après 12 jours) permettent à EPO_067 de limiter la capacité de reproduction de l'agent pathogène. Un suivi temporel de la dynamique de la réponse de la plante permettrait de mieux comprendre la réponse de la plante lors de la phase biotrophe mais également de caractériser la phase nécrotrophe qui reste peu étudiée car plus difficile à investiguer. L'enjeu d'un tel phénotypage serait de mieux identifier les phases clés de la mise en place de la résistance, qui pourrait ne pas avoir lieu au même moment pour toutes les plantes en fonction des traitements, des variétés, des souches de septoriose.

Du fait de l'importance économique de cette maladie et des autres maladies du blé plusieurs projets ont été mis en place pour détecter de manière précoce ces maladies (Francesconi, 2022) et des bibliothèques hyperspectrales pour ces principales maladies ont été créées (Bohnenkamp et al., 2021b). L'analyse hyperspectrale peut montrer un intérêt pour la détection de la septoriose à l'échelle foliaire (Behmann et al., 2018; Bohnenkamp et al., 2021b; Odilbekov et al., 2018) ou à l'échelle de la canopée (Anderegg et al., 2019; Bebronne et al., 2020; Bohnenkamp, 2020; Odilbekov et al., 2018; Yu et al., 2018). Certains ont utilisés des indices spectraux de végétation (SVI) plus ou moins spécifiques, combinaisons de SVI dans le but de différencier les maladies (Mahlein et al., 2010), distinguer les maladies de la carence en azote dans le blé (Devadas et al., 2015). D'autres travaux ont démontré que la séquence des changements temporels dans les signatures de réflectance hyperspectrale au niveau des feuilles peut être spécifique à chaque maladie (Wahabzada et al., 2015).

Actuellement, l'acquisition de spectre NIRS est souvent réalisée à des moments précis, notamment lorsque les symptômes sont déjà développés (Anderegg et al., 2020b; Odilbekov et al., 2018; Yu et al., 2018). Ces recherches ont fourni des informations précieuses mais souvent très spécifiques au contexte, c'est-à-dire spécifiques au génotype, au stade de croissance et/ou au site et à l'environnement étudiés (Anderegg et al., 2019). Par conséquent, les caractéristiques spectrales identifiées et les seuils ou courbes d'étalonnage correspondants ne sont pas suffisamment robustes (c'est-à-dire universellement applicables) pour être utilisés dans la sélection de la résistance ou pour tester des produits de stimulation susceptibles de faire varier la réponse de la plante. En grande partie à cause de ces difficultés, le phénotypage à haut débit de la résistance aux maladies dans des conditions de terrain à l'aide de la réflectance hyperspectrale est encore difficilement utilisables (Francesconi, 2022). Dans de rares cas, la temporalité des données hyperspectrales a été utilisée et est apparue comme un atout pour le suivi des maladies (Behmann et al., 2018).

Indépendamment de la détection des symptômes de maladie, les capacités de détection précoce par IHS ou par imagerie multispectrale de modifications métaboliques ont d'ores et déjà été démontrées pour distinguer le niveau de résistance de plusieurs phénotypes sur diverses cultures : composés phénoliques dans le cas du couple betterave sucrière / cercosporiose (Arens et al., 2016) ; activité invertase suite à l'infection de l'orge par l'oidium (Kuska et al., 2018). Dans ce dernier cas, les résultats montrent que les mesures spectrales peuvent être utilisées comme indicateur du niveau de résistance du génotype testé. L'objectif ici est d'aller au-delà de l'utilisation de l'IHS pour la détection des symptômes liés à la maladie en détectant aussi des composants de la réponse de la plante avant l'apparition de ces symptômes. Ce type de suivi étant habituellement fait en utilisant des marqueurs moléculaires et donc destructif, la combinaison d'une approche IHS et d'une approche moléculaire pourrait être bénéfique pour ces caractérisations précoces (Mahlein et al., 2019). Cependant ces phénomènes physiologiques peuvent être modifiés lorsque la plante subit des stress multiples et rend ainsi ce type d'indicateur instable et difficile à appliquer en dehors de conditions très contrôlées. L'intérêt d'une approche hyperspectrale serait de renforcer le suivi moléculaire et rendant ces échantillonnages destructifs plus

pertinents et de caractériser la réponse physiologique de la plante au cours de l'infection à la manière de ce qui a pu être proposé pour analyser la réponse du blé à la chaleur (Osman et al., 2022).

Etant donné la nature très spatialisée de la maladie, l'imagerie hyperspectrale nous a semblé être une réponse intéressante pour permettre une détection précoce de l'infection de la septoriose sur le blé dur. De plus, les imageurs hyperspectraux nous permettent de travailler dans la gamme VNIR mais aussi celle du SWIR. Cela signifie donc que notre approche doit coupler spatialité, spectralité et temporalité. Les questions que l'on se pose sont alors de savoir (1) s'il est possible de détecter la maladie à l'aide de notre modèle mathématique, la MWPCA ; (2) s'il est possible d'utiliser l'information spatiale issue de cette technologie pour quantifier la réaction de la plante à l'inoculation et notamment les nécroses, inhérentes à cette maladie. Ces deux questions correspondent aux deux grands questionnements de ce chapitre et ont conditionnés notre approche.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel biologique

Deux génotypes de blé dur (*Triticum turgidum durum*) issus de lignées fixées provenant de la population EPO (Evolutionary Pre-breeding population David et al., 2014) ont été sélectionnés pour cette étude. Le premier génotype nommé EPO_068 présente une sensibilité importante au champignon *Zymoseptoria tritici* souche P1a, le deuxième génotype EPO_067 limite le développement de l'épidémie en réduisant la formation de pycnide (Ballini et al., 2020). Dans les deux cas les génotypes laissent la mise en place des nécroses. Pour chaque génotype, 192 graines ont été sélectionnées par pesées afin d'assurer une homogénéisation de chaque population. Les graines ont été ensuite semées par lot de 8 dans des pots de 10x10x10cm et disposées par 4 sur deux côtés opposés du pot (Figure 17). Seulement 6 plantes par pot ont été conservées pour l'expérience, cela signifie que si 8 plantes ont germé, deux d'entre elles ont été retirées dans le pot pour n'obtenir que 6 plantes dans un pot avec 3 de chaque côté. Au final, nous disposions de 48 pots, 24 pour le génotype EPO_068, 24 pour le génotype EPO_067. Une fois les graines semées dans du terreau Neuhaus S avec de la poudzolane (5L/70L) complémenté avec un engrais retard Flocoat (70L/90g de sol), les pots ont été ensuite placés dans une chambre de culture à 23°C dont la photopériode correspondait à un temps d'éclairage de 12h par jour. Les plantes étaient arrosées automatiquement par un dispositif de table à marée. Le taux de germination étant de 72%, nous disposions en fin d'expérience de 137 plantes pour le génotype EPO_068 et de 139 plantes pour le génotype EPO_067. Malgré la plantation d'une graine supplémentaire par côté de pot, certains côtés n'ont eu que 2 plantes, cela expliquant le nombre de plantes total.

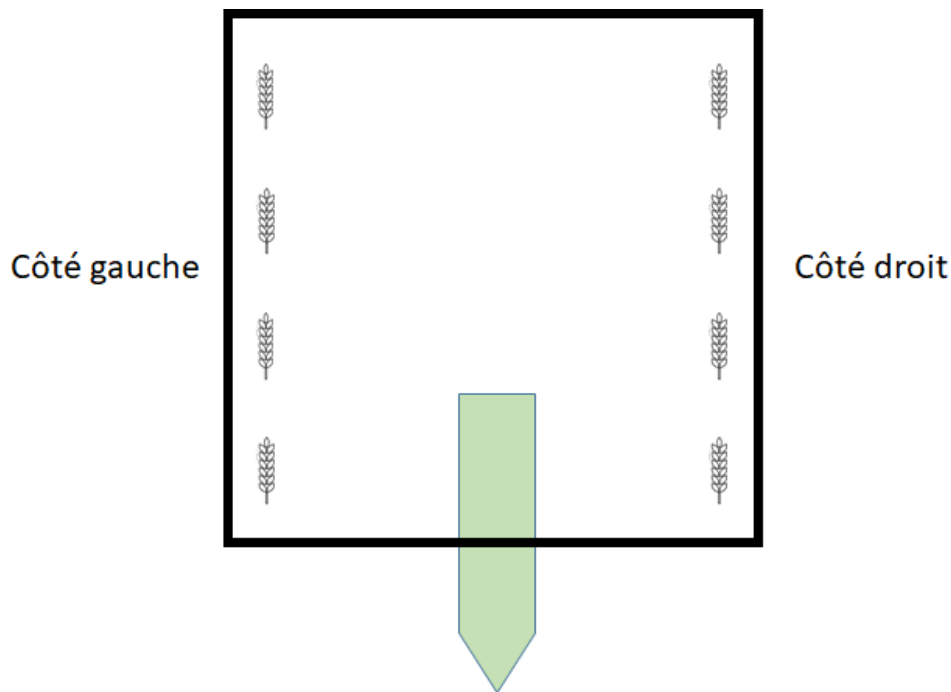
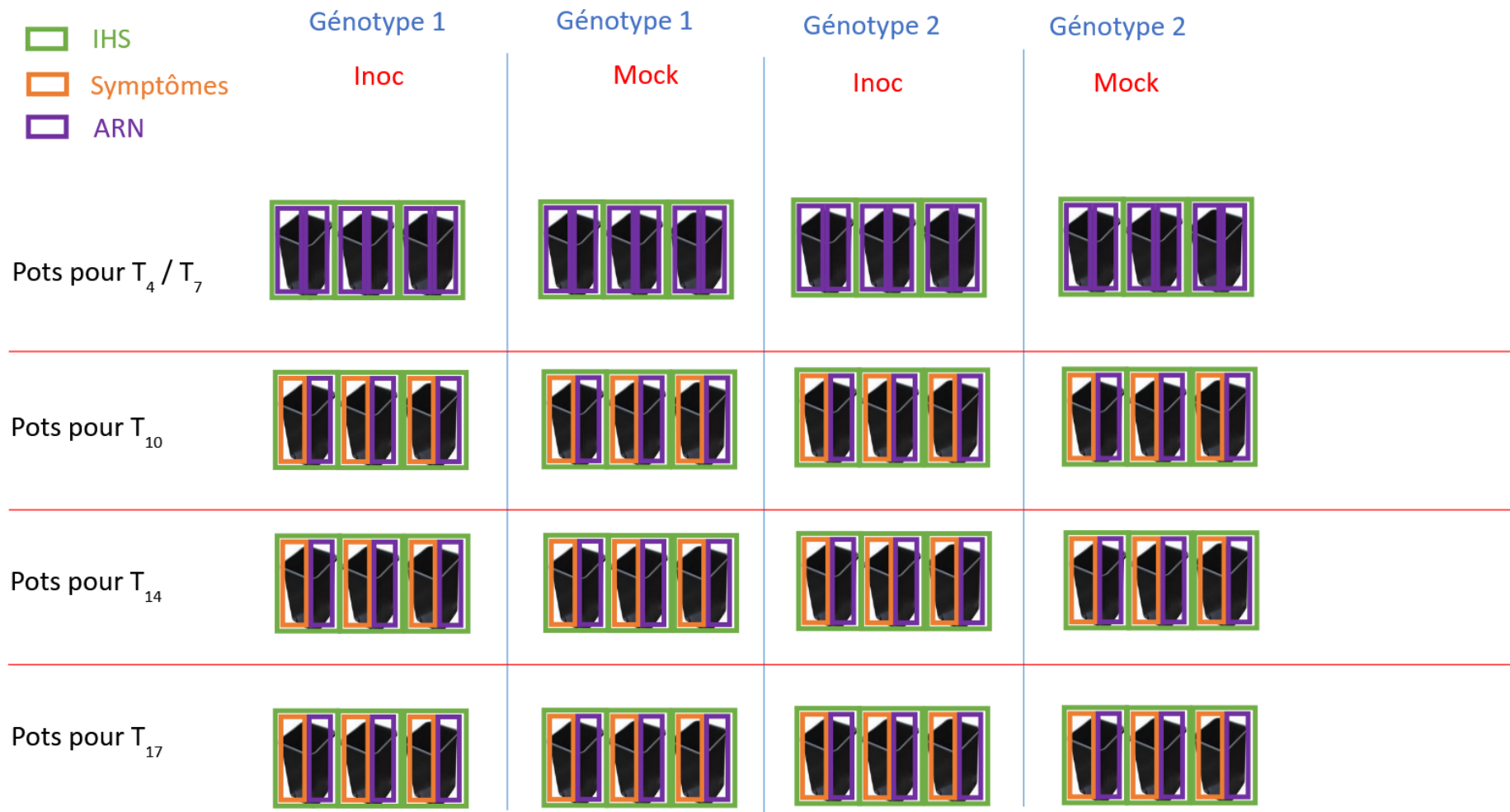


Figure 17 : Organisation de la plantation au sein des pots. La bande verte correspond au placement de l'étiquette indiquant le nom du pot.

Afin de réaliser le suivi dynamique des différents génotypes de blé avec des plantes infectées et non infectées à partir de mesures spectrales et moléculaires (prélèvement d'ARN), un plan d'expérience a été élaboré (Figure 18). Toutes les mesures faites au cours de l'expérience sont effectuées sur la première feuille ligulée de chaque plante. Trois types de mesures ont été fait : des mesures hyperspectrales donc non-destructives (notées IHS sur la figure 18), des mesures ARN donc destructives (notées ARN sur la figure 3.2) et une lecture des symptômes à la fin de l'expérience (notés symptômes sur la figure 18). Au sein de chaque génotype, les feuilles, aussi nommées individus, ont été divisées en deux groupes, les individus symptômes (servant à la lecture des symptômes) et les individus destinés au prélèvement ARN. Pour chaque pot, deux acquisitions de mesures hyperspectrales ont été réalisées à l'aide de deux caméras hyperspectrales, couvrant des zones différentes du spectre (cf paragraphe 2.4), sur la première feuille ligulée de chaque plante avant inoculation par *Z. tritici*, soit 14 jours après le semis des graines de blé. Pour chaque génotype, la moitié des plantes (soit 72 plantes par génotype) ont été ensuite inoculées avec la souche P1a de septoriose (Ballini et al., 2020) sur une zone d'environ 8 cm (préalablement marquée avec un feutre) de la première feuille ligulée. Les plantes non-inoculées ont été recouvertes à l'aide d'un pinceau avec une solution identique à celle utilisée pour l'inoculation des autres plantes (de l'eau et un agent collant, le Tween 20) sans l'agent pathogène. Les individus inoculés sont notés « Inocs » tandis que les individus non-inoculés sont notés « Mocks » (Figure 18).



Les rectangles orange et vert indiquent la prise de 3 des 6 plantes du pot.

Figure 18 : Plan d'expérience. LA prise correspond à la prise de spectre quotidienne.

Après l'inoculation, des sachets transparents ont été posés sur toutes les plantes pendant 3 jours pour les exposer à de fortes conditions d'humidité afin de favoriser l'infection par la septoriose. Les feuilles destinées à l'analyse des symptômes ont été prélevées à la fin de l'expérience, c'est-à-dire 20 jours après inoculation, et mises sur du papier collant pour pouvoir réaliser un scan à 600 dpi. Ce scan a permis une lecture des symptômes par un expert, spécifiques à chaque individu, cette lecture indiquant le pourcentage de nécroses et de pycnides présents sur la feuille. De la même façon, le pourcentage de sénescence sur les feuilles « Mocks » a été également évalué en fin d'expérience. En effet, la température de la chambre climatique a créé un recouvrement entre le développement du champignon et la sénescence de la feuille, ce qui a induit l'apparition de deux types de dégradation sur les feuilles : des nécroses dues à la maladie et des symptômes associés à la sénescence de la plante telle que le jaunissement des feuilles. Visuellement la sénescence naturelle et la nécrose de la maladie peuvent être distinguées par un œil expert de manière satisfaisante.

2.2. Identification des individus

Les 48 pots ont été identifiés de 01 à 48 en fonction de la date de prise ARN des plantes du pot. Pour les pots de 01 à 12, les feuilles situées du côté droit ont été prélevées à 4 jours après inoculation (4 dpi pour « day post-inoculation ») tandis que les plantes du côté gauche ont été prélevées à 7 dpi. Pour la suite de l'expérimentation sur les pots restants (ie pots de 13 à 48), tous les individus du côté droit des pots ont été échantillonnés pour les prélèvements ARN (cf paragraphe 2.3) tandis que les individus du côté gauche étaient conservés pour réaliser les observations des symptômes. Cela signifie que les pots notés 13_G à 48_G sont tous des demi-pots « symptômes » sur lesquels les acquisitions spectrales ont été réalisées du début à la fin de l'expérimentation. Pour compléter la notation, les individus ont été nommés de 1 à 3 en partant de la gauche du côté concerné (Figure 17). Par exemple, l'individu inoculé (« Inoc » sur la figure 18) situé dans le premier pot pour 14 dpi (T₁₄ sur la figure 18) du côté symptômes (orange sur la figure 18) et au milieu de la moitié du pot pour le génotype 1 (Figure 18) s'appellera 25_G_2.

2.3. Prélèvements ARN

Les prélèvements d'ARN ont été réalisés sur 3 plantes situées sur un même côté du pot, avec 3 pots par condition (plantes inoculées ou non et pour les deux génotypes), soit 12 côtés de pot par date (Figure 19). Ils ont été réalisés à 5 dates (toujours à la même heure : 10h30) : 4 dpi, 7 dpi, 10 dpi, 14 dpi et 17 dpi. Pour cela, la zone d'environ 8 cm inoculée sur la première feuille ligulée de chaque plante a été coupée en morceaux d'environ 0,5 cm et placée dans des tubes Eppendorf de 2 ml puis immédiatement plongée dans l'azote liquide. Ces prélèvements ont deux objectifs, le premier est de réaliser un suivi physiologique de la feuille de blé et le deuxième et de faire un suivi de la biomasse fongique en analysant l'ARN du champignon. Toutes les analyses ARN ont été réalisées par Flora Tavernier,

stagiaire de master 2, selon le protocole joint en Annexe 2. Elle a ainsi pu caractériser l'expression de 10 gènes du blé (quatre gènes de défense et six gènes candidats du QTL de résistance) ainsi que d'un gène de la septoriose (gène de ménage) qui permet une quantification moléculaire du champignon *in planta*.

2.4. Acquisition des images hyperspectrales

Les feuilles ont été placées sur un support réalisé à l'aide d'une imprimante 3D à partir d'acide polylactique noir. La face adaxiale de la feuille était orientée vers les imageurs hyperspectraux (Figure 21). Les feuilles étaient maintenues à plat par des pièces créées selon le même processus que le support des feuilles et comportant une partie en mousse afin de ne pas les abîmer. Le support étant de couleur noire, le fond sur lequel ont été prises les images était noir également (Figure 19).

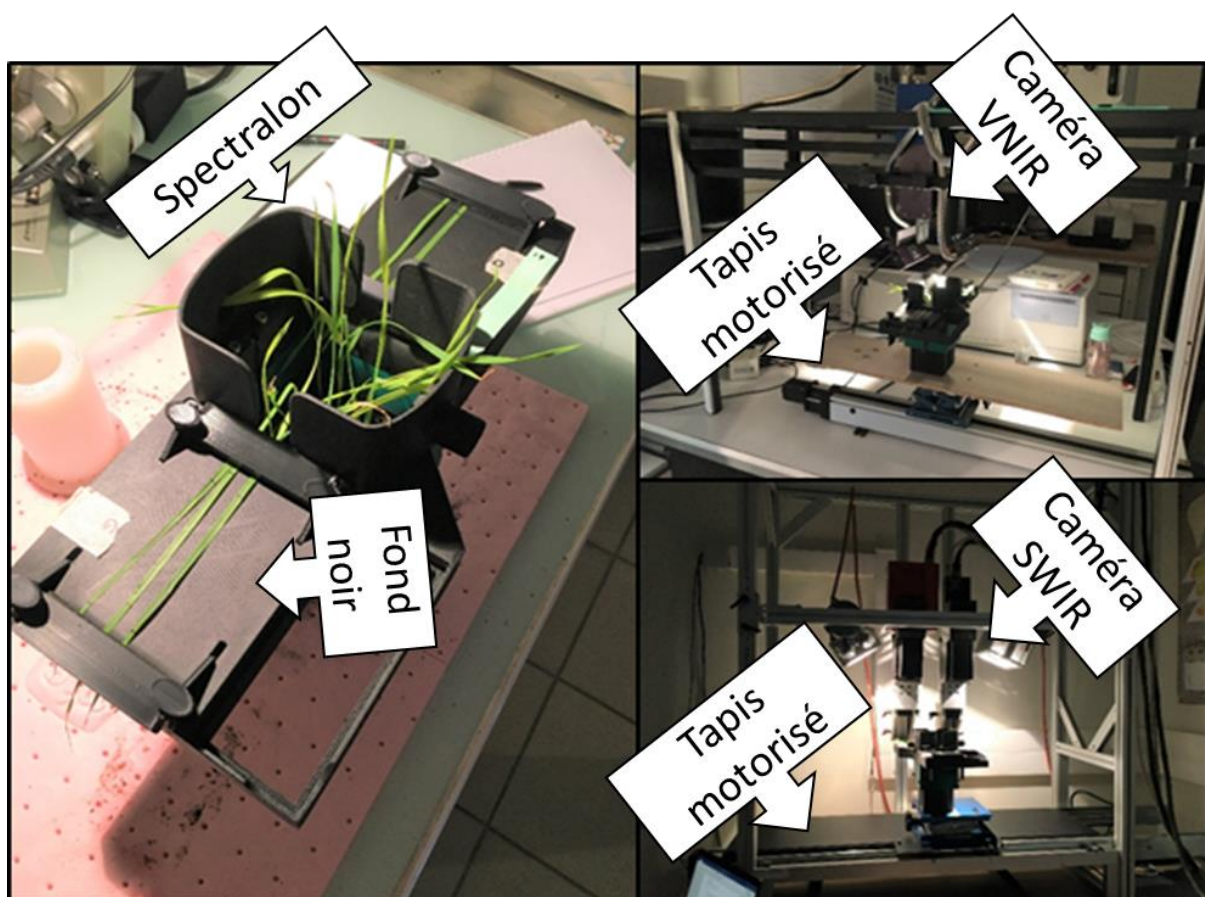


Figure 19 : Photo de l'assemblage permettant la prise des images hyperspectrales

Deux caméras hyperspectrales ont été utilisées pour réaliser les images, l'une travaillant sur une gamme spectrale allant de 400 à 1000 nm (HySpex VNIR-1800), l'autre dans une gamme spectrale allant de 1000 à 2500 nm (HySpex SWIR-384). Le spectre de la source de lumière pour les deux caméras a été mesuré à chaque image avec une plaque Spectralon® à 99% de réflectance. Les caméras hyperspectrales ont permis d'imager séparément les feuilles de chacune des plantes (Figure 21) avec des pages de

longueurs d'onde se situant entre 411 et 993 nm pour la VNIR (216 bandes), et entre 964 et 2494 nm pour la SWIR (256 bandes) après ajustement des paramètres des caméras. Les 2 caméras sont des systèmes « pushbroom », c'est-à-dire que le capteur enregistre une ligne de, respectivement, 1024 (VNIR) et 320 (SWIR) pixels, correspondant à environ 10 cm de la scène. Un tapis motorisé déplace l'objet à imager pour survoler la scène ligne par ligne et recréer la deuxième dimension spatiale de l'image. Un pixel pour une image VNIR correspond à un carré d'environ 0,1 mm² de la scène (environ 0,3 mm² pour la caméra SWIR). Le temps d'intégration de la caméra VNIR était fixé à 12000 µsec par ligne et de 6500 µsec pour la caméra SWIR. L'acquisition des images hyperspectrales s'est faite tous les jours pendant toute la durée de l'expérience pour les plantes dites « symptômes » c'est-à-dire 18 acquisitions correspondant à 20 jours d'expérience post inoculation et 2 jours avant inoculation (Figure 22). Pour les plantes avec prélèvement ARN, le nombre d'acquisitions correspond au nombre de jours après inoculation (dpi) moins 1 jour. Par exemple, pour les feuilles prélevées à 4 dpi, on compte un jour d'acquisition après avoir retiré les plantes sous les sachets transparents et 2 jours avant inoculation. Il est important de noter que pour les jours 1, 2 et 3 dpi il n'y a pas eu de prises d'images, les plantes se trouvant en sachet (Figure 20). Des problèmes techniques ont également rendu impossible l'acquisition des images hyperspectrales à 9 dpi.

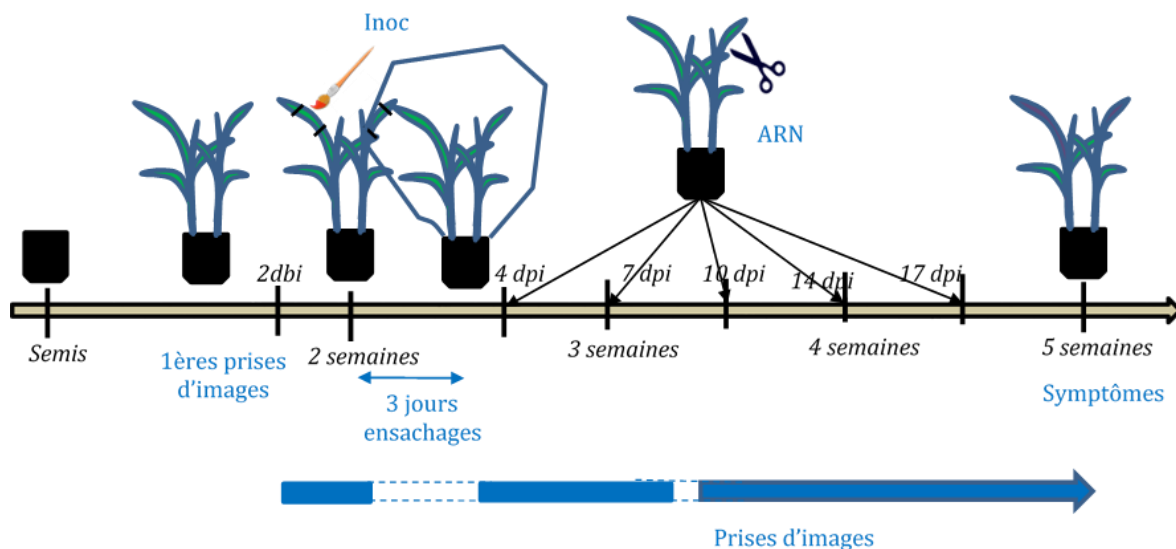


Figure 20 : Calendrier de l'expérience.

Une sénescence précoce ayant apparue au cours de l'expérience, il est apparu nécessaire de faire une première acquisition d'image à haute résolution. Des images hyperspectrales VNIR ont été acquises à très haute résolution spatiale, c'est-à-dire 2048 pixels par ligne, soit un pixel d'environ 0,05 mm de côté afin de permettre une lecture des symptômes dès 14 dpi. Afin de faciliter la visualisation des symptômes à la fin d'expérimentation, le même type d'image VNIR ont été acquises en fin d'expérience (J20). Ces images à haute résolution seront comparées pour quantifier l'évolution des symptômes liée aux nécroses des feuilles inoculées et ainsi permettre une reclassification des feuilles si nécessaire. Dans ce chapitre,

l'évolution temporelle spectrale a été étudiée uniquement à partir des données correspondant aux images VNIR (400-1000nm).

2.5. Extraction des feuilles

Afin de corriger les images hyperspectrales et d'en extraire les zones d'intérêt, l'algorithme décrit en figure 23 a été utilisé. Cette extraction permet de ne conserver que les pixels d'intérêt, ceux contenant une partie de la feuille. La figure 21 présente les étapes de l'algorithme qui a permis l'extraction de ces zones.

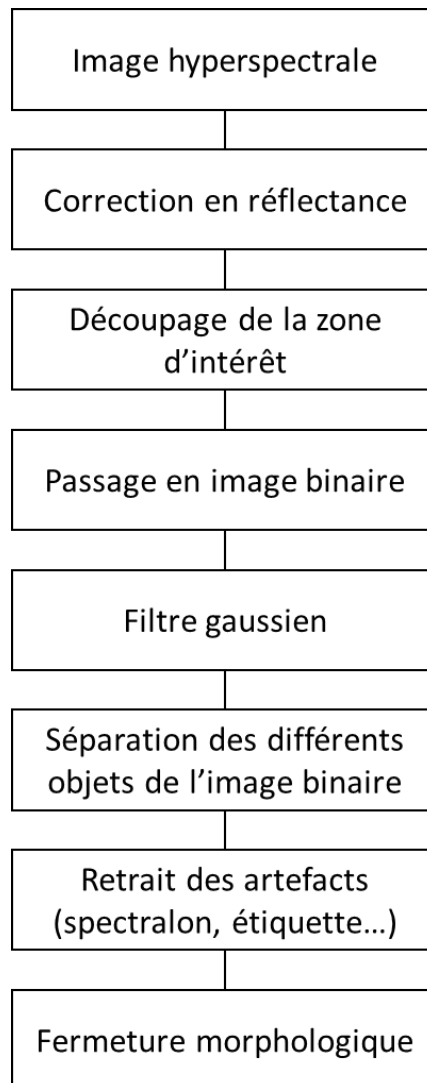


Figure 21 : Différentes étapes d'extraction des pixels d'intérêt

Pour commencer, les feuilles ont été corrigées en réflectance à l'aide du spectralon, présent dans chacune des images. Pour chaque image, la valeur de réflectance I a été mesurée, avec une substraction du signal sans lumière automatiquement retiré. Une référence blanche I_0 a été mesurée pour permettre une normalisation de nos données. La réflectance R_0 a ainsi été calculée :

$$R_0 = \frac{I}{I_0}$$

Les images ont ensuite été découpées manuellement pour correspondre à la zone d'infection de la feuille. Un filtre gaussien a été appliqué aux images pour faciliter le passage en image binaire. Au sein de chacune des images, différents objets artefactuels (spectralon, étiquette...) étaient présents ce qui a nécessité un retrait de ceux-ci pour pouvoir n'avoir, au final, que les feuilles. L'utilisation de filtre gaussien permet de retirer ces artefacts, composés de seulement une dizaine de pixels ce qui est très peu au regard des milliers de pixels feuilles. Nous avons ensuite utilisé des outils de morphologie mathématique pour pouvoir « fermer » les feuilles. En effet, certaines feuilles comportaient des pixels manquants, malgré l'utilisation de la morphologie mathématique. Il a donc fallu réaliser une dilatation / érosion dans l'image. Les objets, les feuilles, ont ensuite été enregistrés indépendamment les uns des autres. Le script a été développé sous le logiciel Matlab R2021a (The MathWorks Inc., Natick, MA, 2021) (toolbox image analysis).

2.6. Feuilles analysées

Après avoir fini l'expérience, l'analyse statistique s'est focalisée sur les individus symptômes ainsi que les individus prélevés en 17 dpi. Le choix de 17 dpi a été fait après lecture des symptômes. A cette date, les symptômes de la maladie étaient suffisamment présents, pour que les individus imagés à cette date soient intégrés à l'analyse statistique. Le déroulement temporel de l'expérience est présent sur la figure 22. Tous les individus composant les groupes symptômes et 17 dpi n'ont pas été intégrés à l'analyse et ce pour plusieurs raisons :

- Du fait d'erreurs expérimentales, certains individus « Mocks » ont été contaminés par le champignon. Dans ce cas, l'ensemble des individus du pot ont été supprimés de l'analyse (les individus douteux ainsi que les feuilles adjacentes). Au total, 9 feuilles, correspondant à 3 côtés de pot, ont été retirées pour le génotype EPO_67 et 21 feuilles pour le génotype EPO_68.
- Des erreurs d'identification de la feuille cible (la première feuille ligulée) au cours du temps ; cette erreur était souvent liée à la croissance des plantes qui rendait complexe l'identification de l'organe cible. Une vérification de l'ensemble des images acquises a été réalisée en fin d'expérience afin d'éliminer les images où une feuille autre que la feuille cible avait été imagée.
- D'autres problèmes ont ainsi pu être mis en évidence (Annexe 3) comme un mélange des feuilles au sein des images, des échanges de côté de pot...

L'ensemble de ces difficultés à entrainer un temps important pour ré-ordonner les images et ce temps n'a pas pu être mis en œuvre pour l'analyses des images SWIR qui seront analysées plus tard.

2.7. Analyse des données par MWPCA

Les spectres extraits sont analysés à l'aide de la MWPCA. L'algorithme utilisé dans ce chapitre est le même que celui utilisé dans le chapitre précédent. Certains ajustements de paramètres ont dû être réalisés pour prendre en compte les spécificités de l'expérimentation à savoir le nombre d'individus et

le nombre de variables disponibles. La taille de la fenêtre (fixée à 2) a été imposée par notre protocole expérimental qui ne nous permettait de disposer que de 2 acquisitions d'images avant inoculation.

La MWPCA étant réalisée sur l'ensemble des spectres extraits pour l'ensemble des pixels d'une feuille (soit entre 10 000 et 30 000 spectres par feuille en moyenne), le nombre de composantes n'est pas un facteur limitant de l'analyse. Le nombre de variables (216 bandes spectrales pour le VNIR) permettant la construction des composantes (le nombre de variable moins 1 ce qui fait 215) est toujours inférieur au nombre d'échantillons (le nombre de pixels par feuille) dans cette expérience. En effet, même si le nombre d'échantillons diminue au cours de l'expérience (la surface totale des feuilles diminuant sous l'effet de la sénescence), il reste cependant largement supérieur au nombre de variables.

Le choix a été fait de ne pas pré-traiter les spectres dans les analyses. La métrique utilisée pour analyser les résultats suite à l'application de la MWPCA sur les spectres extraits est le T^2 d'Hotelling (cf chapitre 2). Seule cette métrique a été utilisée dans le reste de l'analyse. Elle permet de calculer la distance entre les spectres et le barycentre de l'ACP dans laquelle ils sont projetés permettant de réduire l'information liée aux spectres pour l'analyse.

Quand on considère le spectre moyen par feuille, il peut exister deux sous-ensembles d'individus au sein de la MWPCA : les individus servant à la construction des ACP et les individus uniquement projetés sur l'ACP, le comportement des individus de construction servant de référence à ceux de projection. À l'issue de la MWPCA, on obtient, d'une part, la cinétique du T^2 pour les pixels des individus de construction et, d'autre part, celle des pixels des individus de projection. Il est à noter que la valeur projetée dans la MWPCA est toujours celle du pixel. Les moyennes se font uniquement sur les valeurs de T^2 , après construction du modèle. Dans cette étude, l'hypothèse faite est que les individus « Mocks » sont les individus ayant un comportement « de base », c'est-à-dire similaire à un individu-type. Ils serviront donc d'individus de construction dans la MWPCA.

Quand on s'intéresse à l'analyse pixel par pixel des feuilles, en dehors des changements précédemment évoqués, aucun changement de construction de la MWPCA n'a été effectué par rapport au chapitre 2. Les individus « Mocks » ou « Inocs » sont suivis individuellement grâce au modèle qui donne une cinétique de T^2 propre à chaque pixel d'un individu. Par la suite, une analyse variographique sera réalisée en utilisant la carte des T^2 d'une feuille (heatmap). Cette analyse est détaillée dans la partie 2.8. Cette analyse a pour objectif de vérifier la présence ou l'absence de structuration spatiale dans l'information donnée par le T^2 .

Un problème majeur de cet algorithme est la mémoire utilisée pour chaque itération de la MWPCA. Ce coût important de mémoire est dû au calcul de l'ACP, nécessitant de nombreux calculs matriciels. Ce problème n'est pas réglé si la volonté d'un utilisateur est d'utiliser tous les individus dans l'analyse dès les premiers jours. Cependant, pour une analyse des individus symptômes ainsi que des individus sélectionnés à 17 dpi, l'algorithme fonctionne avec une RAM de 64 Go uniquement. Les scripts ont été développés sous R en utilisant le package `rnirs` (en 1.9) et `gstat`.

Pour récapituler, l'analyse des données spectrales est effectuée en 2 grandes étapes : une première basée sur les données du pixel moyen foliaire et une seconde basée sur les données pixel à pixel de la feuille qui prend en compte la spatialisation de l'information contenue dans les images hyperspectrales.

2.8. Analyse géostatistique : variogramme et indice de Cambardella

Une revue bibliographique nous a conduits à nous intéresser à la géostatistique pour évaluer la structuration spatiale des valeurs de T^2 . Les géostatistiques sont généralement utilisées dans le domaine de l'observation de la terre (Abdulah et al., 2022; Azawi and Saleh, 2021) ou encore de l'agriculture de précision (Radočaj et al., 2022) et permettent d'étudier la corrélation spatiale des individus d'un jeu de données. En agriculture de précision, elles peuvent par exemple permettre de mettre en évidence la présence du stress hydrique dans des vignes (Pichon et al., 2021). Un des outils pour étudier cette corrélation ou structuration spatiale est le variogramme. La construction d'un variogramme et son analyse permet ainsi d'estimer le degré de dépendance spatiale d'un espace aléatoire (en général un champ) ou d'un processus stochastique. Une analyse variographique consiste à réaliser un modèle permettant de prédire la semi-variance des données réelles (Figure 22). Cette semi-variance peut être ainsi décomposée en une variance aléatoire et une variance structurée qui sont évaluées par l'estimation de paramètres tels que le « sill » (C_1) et le « nugget » (C_0).

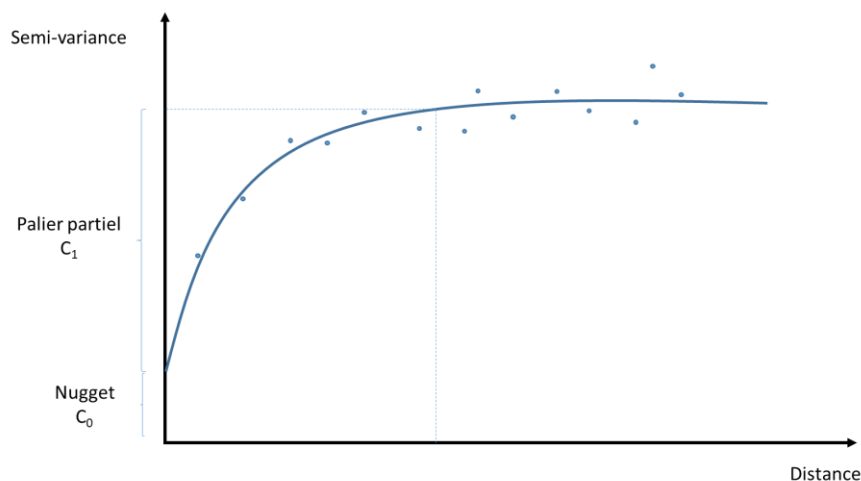


Figure 22 : Variogramme et paramètres C1 et C0

Afin de mesurer la structuration spatiale les valeurs des T^2 , nous avons fait le choix ici d'utiliser l'indice de Cambardella (C_i , Cambardella et al., 1994). Pour calculer cet indice, il est d'abord nécessaire de calculer la courbe d'évolution de la semi-variance en fonction de la distance (Figure 24). La méthode utilisée nécessite de fixer des paramètres d'initiation tels que le sill, le modèle utilisé, le range et le nugget (Figure 24). Nous avons choisi, avec l'avis d'un expert, de prendre un modèle sphérique, un sill de 0.05, un range de 50 et un nugget de 0.001. Le modèle converge ensuite vers les paramètres les plus adaptés pour notre jeu de données. Le fait de ne pas changer les paramètres selon le jeu de données pose

un problème quand le modèle n'arrive pas à converger. Dans ce cas, il est alors nécessaire de vérifier si la convergence est toujours impossible pour ces données en changeant les paramètres initiaux. Pour notre jeu de données, les non-convergences du modèle utilisé ne sont pas majoritaires.

L'indice de Cambardella (C_i , Cambardella et al., 1994) est obtenu selon l'équation suivante :

$$C_i = \frac{C_0}{C_1 + C_0}$$

La construction du variogramme et l'estimation des paramètres C_1 et C_2 ont été réalisées avec le logiciel R et le package gstat.

3. Résultats et Discussion

3.1. Analyse des symptômes

Les symptômes peuvent être analysés selon deux modalités : le pourcentage de feuilles nécrosées et le pourcentage de pycnides de *Z. tritici*. Le pourcentage de nécroses est un symptôme difficile à distinguer d'un autre phénomène concomitant avec la sénescence de la plante (Anderegg et al., 2019). Normalement, ces deux phénomènes présentent des couleurs très proche dans nos conditions, il est difficile de bien les différencier. La surface nécrosée que nous avons évaluée peut cependant être considérée comme un indicateur de l'avancée de la maladie si l'on compare les individus « Mocks » et « Inocs » et si on néglige l'impact potentiel de la maladie sur une accélération du phénomène de senescence naturel (Robert et al., 2018). A 20 dpi, les feuilles « Inocs » sont à 70% en moyenne de nécroses sur la surface de la première feuille ligulée contre 50% pour les « Mocks ». L'hypothèse faite est que les nécroses présentes sur les individus « Mocks » sont soit dû à de la sénescence naturelle soit à des contaminations croisées. Cependant ces contaminations croisées peuvent être vérifiées par la présence ou non de pycnides sur ces surfaces nécrosées. Les deux génotypes peuvent accueillir la formation de ces structures de reproduction. Ainsi, nous avons estimé que la nécrose présente chez les individus « Mocks » était dû à la sénescence, étant donné que les pycnides ne s'y sont pas développés, à l'inverse des zones nécrosées sur les individus « Inocs ». Cependant, 5 plantes « Mocks » présentaient des pycnides, ce qui suggère une contamination durant l'expérience. Ces plantes et l'ensemble des plants du pot ont été écartés de l'analyse spectrale. Dans d'autres expériences similaires, la sénescence n'était pas apparue sur les feuilles de manière aussi précoce. Une des raisons possibles de cette sénescence précoce est peut-être la température à laquelle les plantes ont été cultivées. En effet, d'après Ballini et al. (2020), le blé est habituellement cultivé en moyenne à 21°C, alors que dans notre expérience, la température moyenne était de 23°C. Le pourcentage de nécrose chez le génotype EPO_67 et EPO_68 est de 69.4% et 48.8% respectivement à 21 jours après inoculation.

Le deuxième indicateur de la maladie est le pourcentage de pycnides présents à la surface des feuilles. Cet indicateur permet de vérifier l'inoculation du champignon mais aussi de différencier les deux génotypes. En effet, le génotype EPO_67 est normalement un génotype résistant et donc présentant moins de pycnides que le génotype sensible EPO_68. Le pourcentage de pycnides chez ces deux

génotypes est de 29,28% et 42,40% respectivement (p -value <0.05 par t -test). Nous avons ainsi pu valider dans cette expérience le phénotype de ces deux lignées liés à un QTL de résistance précédemment publié (Ballini et al., 2020).

3.2. La MWPCA au niveau macroscopique

3.2.1. *Dynamique spectrale temporelle des feuilles non inoculées*

3.2.1.1. *Construction d'un espace de référence (étalonnage de la MWPCA)*

Comme mentionné dans la section matériel et méthode, la MWPCA ici utilisée demande la définition de deux groupes d'individus, les individus de construction et les individus de projection. Pour commencer, nous nous sommes intéressés aux individus « Mocks ». Pour le génotype EPO_67, 16 feuilles « Mocks » (22_G, 23_G, 24_G, 48_G, 34_G et 35_G) ont été retenues après expertise. Pour le second génotype (EPO_68), 11 feuilles « Mocks » (17_G, 41_G, 41_D et 42_D) ont été retenues. Ces individus sont utilisés pour la construction de la MWPCA, et vont ainsi permettre la construction d'un nouvel espace défini par les composantes, l'ACP. Les individus prélevés à 17 dpi n'ont pas été inclus dans l'analyse du génotype EPO_67 alors qu'ils sont présents dans celle du génotype EPO_68 (41_D et 42_D). Dans un premier temps, les valeurs des T^2 obtenus pour les individus « Mocks » seront présentés. Cette présentation se fera par génotype.

3.2.1.2. *Trajectoires temporelles de T^2 des individus « Mocks »*

Nous avons divisé notre groupe de feuilles « Mock » pour chaque génotype en deux : un sous-échantillon qui nous a permis de définir un espace de référence pour chaque date de notre expérimentation et un second constitué des individus test qui seront projetés à chaque date dans cet espace de référence. La division des groupes au sein des « Mocks » s'est faite par groupe de répétition (les numéros de pot les plus proches dans la notation des pots). Pour chacun de ces sous-échantillons, nous avons tracé les courbes de valeurs moyennes du T^2 à chacune des dates ainsi que l'écart type calculé à partir de la variabilité des T^2 observés au cours de la série expérimentale. L'écart type sera un indicateur de la reproductibilité de nos observations, permettant de vérifier l'hypothèse selon laquelle les individus « Mocks » peuvent être utilisés comme référence.

Pour le génotype EPO_67, la figure 23A présente les trajectoires de T^2 pour les « Mocks » de construction (en noir) et les « Mocks » de projection (en rouge). Les deux cinétiques se recouvrent quasi-complètement et ne sont donc pas significativement différentes. Les deux groupes apportent la même information globale dans la MWPCA.

Pour le génotype EPO_68, la figure 23B montre que les variations entre les cinétiques des deux groupes sont plus importantes que pour le génotype EPO_67. Les écarts-types présentés sur les courbes se recouvrent quasi-totalement eux-aussi et sont assez faibles. Ils ne sont pas significativement différents entre eux. La variation au sein des groupes même est donc assez faible elle aussi, pour les deux génotypes.

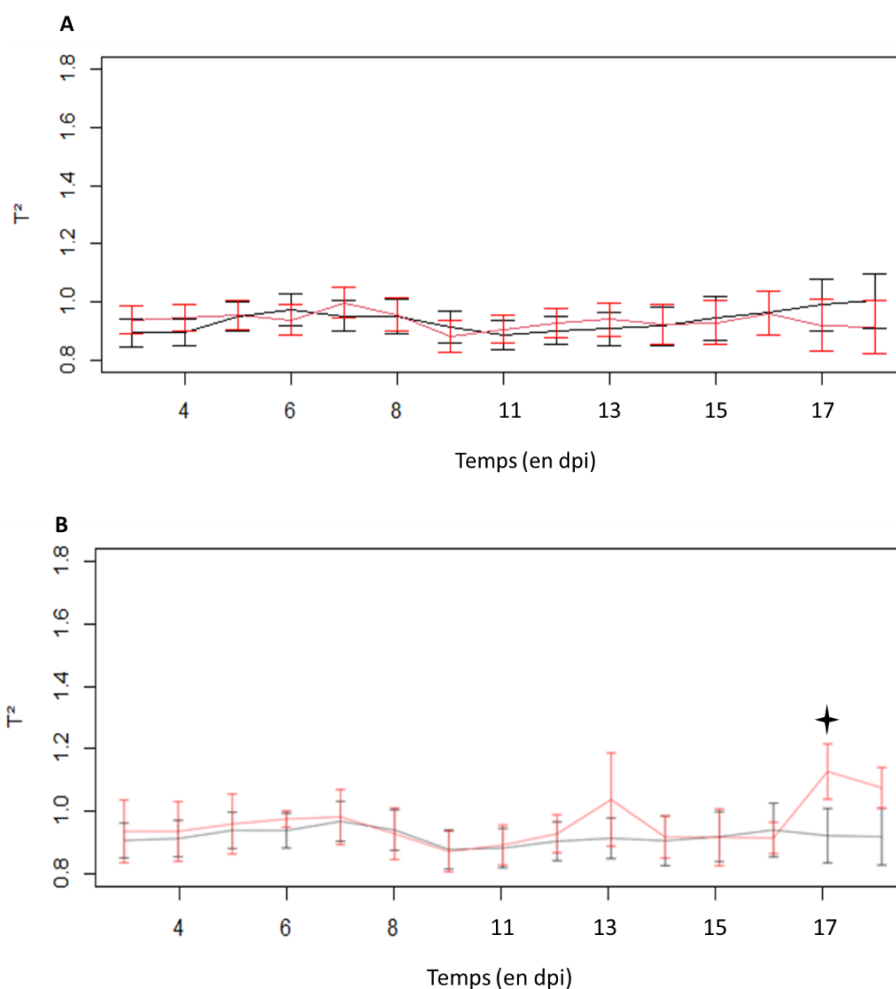


Figure 23 : Cinétique moyenne des T^2 pour les « Mocks » de construction (A) 22_G, 23_G et 24_G (en noir) et les « Mocks » de projection 48_G, 34_G et 35_G (en rouge) du génotype EPO_67 au cours de l'expérience (B) 17_G et 41_D (en noir) et les « Mocks » de projection 41_G et 42_D (en rouge) du génotype EPO_68 au cours de l'expérience. Les écarts-types correspondent aux barres verticales présent sur les courbes et correspondent à la valeur de la courbe plus ou moins l'écart-type. Les étoiles correspondent à des valeurs significatives de t-test (p -value < 0.05) entre les deux distributions « Inocs » et « Mocks ».

D'après les résultats présentés, les individus « Mocks » ont des trajectoires similaires quel que soit leur génotype. De plus, l'expérience est reproductible. En effet, tous les individus « Mocks » d'un génotype donné ont une trajectoire similaire, qu'ils soient utilisés en construction ou en projection dans la MWPCA. Toutefois, si l'on s'intéresse à chaque feuille individuellement, on peut noter de légères différences (Annexe 4). Ce résultat est assez surprenant, une partie des individus « Mocks » présentant une senescence précoce n'ont pas été détectés dans cette analyse.

3.2.2. Comparaison des dynamiques spectrales temporelles moyennes des feuilles « Mocks » et « Inocs »

Comme il est possible d'observer la trajectoire moyenne du T^2 pour les « Mocks », il est aussi possible de le faire pour les « Inocs ». Dans cette partie, toutes les feuilles « Mocks » d'une variété donnée servent de construction dans la MWPCA et tous les « Inocs » sont en projection. Pour le génotype

EPO_68, le groupe des « Inocs » est constitué de 24 feuilles (13_G, 14_G, 15_G, 25_G, 26_G, 27_G, 37_G, 38_G, 39_G) tandis que, pour le génotype EPO_67, il est constitué de 21 feuilles (19_G, 20_G, 21_G, 31_G, 32_G, 33_G, 43_G, 44_G, 45_G).

Pour le génotype EPO_67 (Figure 24A), la cinétique du T^2 est significativement différente entre « Mocks » et « Inocs » à partir de 11 dpi (première date où les valeurs sont significativement différentes). À partir de cette date, les deux cinétiques présentent un profil/dynamique différent(e), ce qui sous-entend que les « Inocs » ont un comportement différent de celui des « Mocks ». Il est à noter que la variabilité de la cinétique pour ce génotype est plus importante au sein des « Inocs » qu'au sein des « Mocks ». Pour le génotype EPO_68 (Figure 24B), la différenciation entre « Mocks » et « Inocs » est plus tardive. Elle ne se produit que vers 13 dpi. De plus, les valeurs maximales de T^2 sont plus faibles que pour le génotype EPO_67 (environ 1.5 pour EPO_67 contre 1.2 pour EPO_68). Les deux cinétiques sont cependant bien distinctes selon le statut de l'individu, avec toujours un peu plus de variabilité au sein des « Inocs » qu'au sein des « Mocks ». Les écarts-types, quant à eux, sont beaucoup plus importants que les écarts-types « Mocks » à partir de 9 dpi (au moins deux fois plus grands).

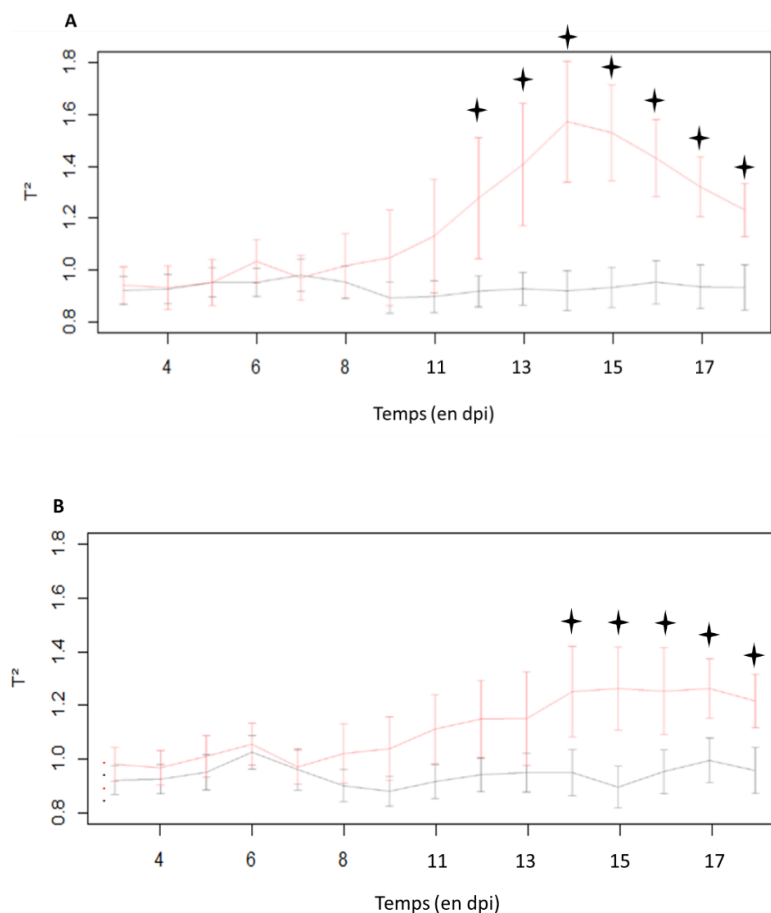


Figure 24 : Cinétique moyenne des T^2 pour les Mocks de construction (en noir) et les Inocs de projection (en rouge) (A) du génotype EPO_67 au cours de l'expérience (B) du génotype EPO_68 au cours de l'expérience. Les écarts-types correspondent aux barres verticales présentes sur les courbes et correspondent à la valeur de la courbe plus ou moins l'écart-type. Les étoiles correspondent à des valeurs significatives de t-test (p -value < 0.05) entre les deux distributions « Inocs » et « Mocks ».

Cette nette augmentation peut s'expliquer par la variation de cinétique au sein des « Inocs » (Annexe 4). En effet, à la différence des « Mocks », les « Inocs » ont des cinétiques de T^2 beaucoup plus variées, ce qui se traduit par des pics de T^2 pour différentes dates selon l'individu considéré. Entre les deux génotypes, une différence est visible sur cette cinétique des T^2 moyens. En effet, si le génotype EPO_67 a pour ces individus « Inocs » des valeurs de T^2 allant jusqu'à 1,5, les individus « Inocs » du génotype EPO_68 ont une amplitude de valeur moins grande, allant seulement jusqu'à environ 1,25. Une autre différence entre ces deux génotypes est aussi visible à travers la date du pic le plus important de T^2 . Pour le génotype EPO_67, cette valeur maximale est à 13 dpi tandis qu'elle est à 14 dpi pour le génotype EPO_68. La différenciation « Mock » vs « Inoc » est aussi plus tardive pour le génotype EPO_68 que pour le génotype EPO_67. Il semblerait que le phénomène soit distingué par la MWCA plus tôt chez le génotype EPO_67 que chez le génotype sensible EPO_68. EPO_067 présentait également à la fin de l'expérience une surface nécrosée sensiblement plus importante qu'EPO_068.

Comme vu dans les résultats, les individus « Inocs » ont une trajectoire différente de celle des « Mocks ». Cette trajectoire est aussi différente entre les deux génotypes auxquels nous nous sommes intéressés. Ces résultats signifient que la MWPCA permet bien de différencier « Mocks » et « Inocs » mais permet aussi d'avoir une information supplémentaire quant à la trajectoire moyenne de chaque génotype.

3.2.3. Conclusion

En conclusion, les cinétiques de T^2 moyen des individus « Mocks » semblent reproductibles ; les différents sous-groupes (construction, projection) apportent la même information quand ils sont insérés dans la MWPCA. Cela peut paraître surprenant d'observer une telle robustesse du signal lors des 23 jours de la vie de cette première feuille ligulée. Un autre point à noter est la constance des valeurs de T^2 observées et donc l'absence de valeur « pic » de T^2 , aucune des valeurs n'étant significativement différentes les unes des autres selon une loi normale. Cela signifie qu'aucun événement majeur n'a lieu au sein des feuilles « Mocks » durant notre expérience, ce qui devrait contraster en théorie avec les feuilles « Inocs ». Le fait que la sénescence n'apparaisse pas comme un processus ayant une influence sur les individus « Mocks » ne paraît pas contraire aux résultats du chapitre 2. Tout d'abord, on regarde ici une cinétique moyenne, donc de différents individus pouvant avoir des histoires de vie différentes au cours du temps. Le fait de s'intéresser à un ensemble d'informations a tendance à facilement cacher le signal de la sénescence chez les feuilles, raison pour laquelle nous nous étions intéressés à cette analyse uniquement feuille à feuille et non génotype par génotype dans le chapitre 2. De plus, pour les individus « Mocks », durant l'expérience, c'est le début de la sénescence qui est observé, toutes les feuilles d'un génotype donné n'étaient pas mortes en fin d'expérience, certaines restant parfaitement verte (notamment chez le génotype EPO_67). C'est pour cela qu'il n'est pas surprenant qu'aucun pic de T^2 correspondant à la sénescence ne soit visible dans notre analyse. Cette expérience valide donc que

des individus « Mocks » peuvent servir comme référence de l'analyse pendant plusieurs semaines sans conséquence majeure sur la MWPCA.

La comparaison des cinétiques moyennes des T^2 pour les feuilles « Mocks » et « Inocs » permettent de bien mettre en évidence une différenciation nette à partir du 11^{ème} jour pour le génotype EPO_67 et du 13^{ème} jour pour le génotype EPO_68. Même si les « Inocs » ont des histoires de vie très variées et donc des cinétiques de T^2 multiples, leurs cinétiques sont toujours plus proches entre elles que de celles des individus « Mocks » (Annexe 4). L'importance de la différence observée entre ces dynamiques foliaires de T^2 dans notre expérimentation suggère qu'il serait possible d'utiliser cette différenciation comme un critère pour vérifier le statut réel d'une feuille (« Inoc » versus « Mock »). Il est aussi possible de distinguer, d'après les courbes moyennes, les génotypes EPO_67 et EPO_68. En effet, la cinétique moyenne de T^2 des deux génotypes est différente. Cette différence peut s'expliquer par une réaction différente des deux génotypes à la maladie, l'un présentant au final plus de nécroses. Cependant, une autre différence entre ces deux individus se fait sur le nombre de pycnides apparaissant sur la feuille entre 14 et 17 dpi. L'alerte que nous donne la MWPCA se fait avant cette date pour les deux génotypes. Nous n'avons pas suivi l'évolution des symptômes au cours du temps et nous ne sommes pas en mesure de décrire si EPO_067 présentait une cinétique d'apparition plus précoce des nécroses. Pour valider cette hypothèse il pourrait être intéressant de compléter cette analyse en utilisant des modèles d'estimation de la dynamique de chlorophylle et d'azote sur les mêmes spectres ce qui nous permettrait de comparer les dynamiques temporelles. Par contre, on peut proposer une hypothèse que cette différence pourrait être liée au fait que l'individu EPO_067 met en place vers 13 dpi une résistance à la production de pycnides ou une sénescence plus précoce chez ce génotype.

Une analyse discriminante permettrait de calculer l'importance des longueurs d'onde différenciant les individus « Inocs » des individus « Mocks ». Cependant, le nombre de variables (les longueurs d'ondes) étant très largement supérieur au nombre d'échantillons (les trajectoires moyennes), les conditions d'utilisation d'une analyse discriminante ne sont pas respectées. Une solution, pour augmenter le nombre d'échantillons, serait de se n'intéresser non pas aux trajectoires moyennes mais à chaque pixel appartenant aux individus « Mocks » ou « Inocs ». D'autre part, les symptômes de septoriose apparaissant de manière très spatialisée il paraissant intéressant de compléter cette analyse par une prise en compte de la dimension spatiale.

3.3. Utilisation de l'information spatiale

3.3.1. Comparaison des T^2 collectés à l'échelle de chaque pixel des feuilles « Mocks » et « Inocs »

Dans cette partie, seuls deux individus du génotype EPO_67 sont discutés mais les résultats sont transposables au génotype EPO_68. Ces deux individus sont 34_G_1, un individu « Mock » et 26_G_2, un individu « Inoc ». Ces individus ont été choisis à titre illustratif.

En calculant les T^2 à l'échelle de chaque pixel, nous pouvons comparer les distributions de cette métrique des individus « Inocs » ou « Mocks », à chacune des dates où nous avons collecté les données. (Figure 25).

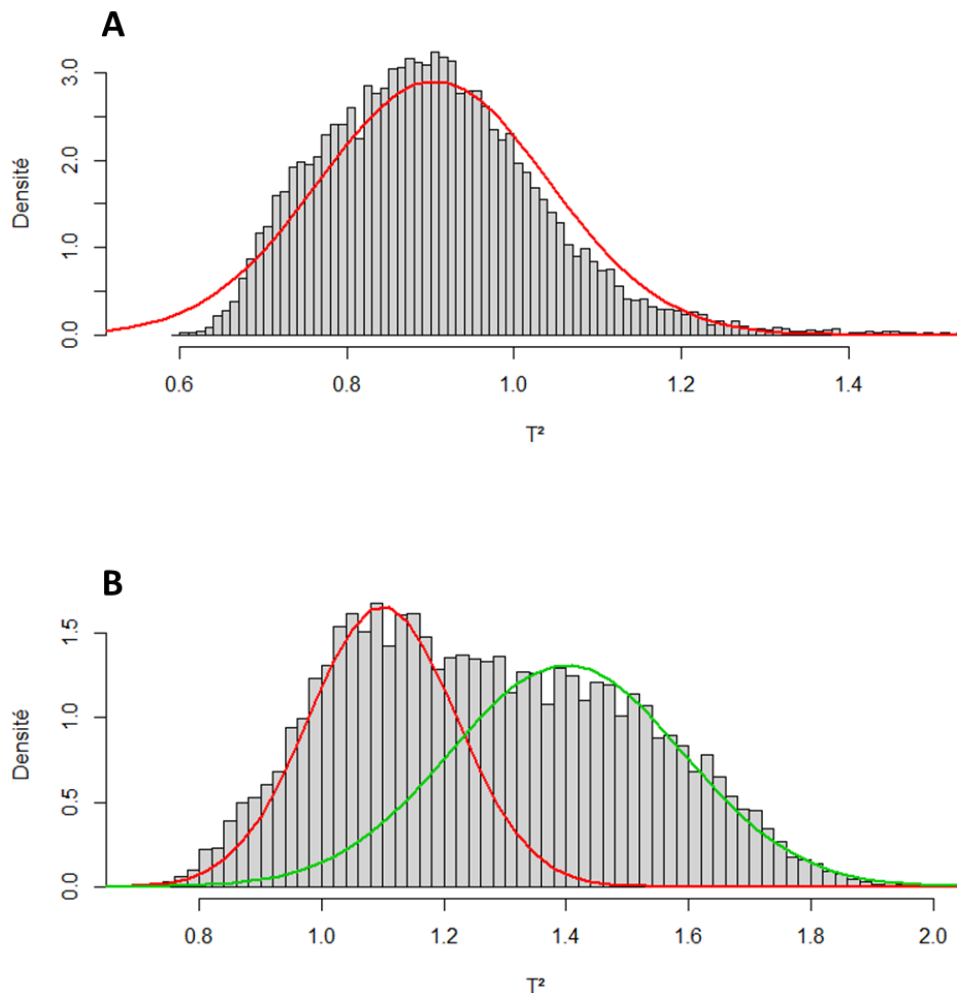


Figure 25 : Distribution des T^2 à 12 dpi. Les courbes rouges et vertes correspondent à des estimations des données par une loi normale (A) Feuille 34_G_1 (individu « Mock ») avec une moyenne ~ 0.9 et un écart-type ~ 0.14 pour la courbe de distribution rouge (B) la feuille 26_G_2 (individu « Inoc ») avec une moyenne ~ 1.1 et un écart-type ~ 0.12 pour la courbe rouge et une moyenne ~ 1.4 et un écart-type ~ 0.19 pour la courbe verte.

A 12 dpi, la distribution entre « Mocks » et « Inocs » est différente. Pour les « Mocks », la distribution du T^2 est unimodale, proche d'une gaussienne à queue lourde. Pour les « Inocs », la distribution du T^2 est bimodale, toujours avec une queue lourde. Cette distribution bimodale est donc constituée d'une première partie de valeurs dont les paramètres de distribution (moyenne et écart-type) évoluent peu au cours de la période de collecte de données. Les données, de cette première partie, sont très proches de celles obtenues pour les individus « Mocks ». La seconde partie des valeurs est constituée de pixels avec des valeurs de T^2 plus importantes. Inexistants jusqu'à 10 dpi, la proportion de ces pixels augmente

graduellement pour représenter jusqu'à 40 % des pixels à 12 dpi. L'apparition de deux distributions indique deux phénomènes différents. Dans cette expérience, les seuls phénomènes présents sont la sénescence naturelle des plantes et la maladie. La sénescence se retrouve chez les individus « Mocks » tous comme chez les individus « Inocs ». La deuxième distribution présente pour les individus « Inocs » est donc probablement due à la maladie. Cela signifie qu'une partie des pixels des individus « Inocs » portent la même information que ceux des individus « Mocks » tandis qu'une autre partie portent une signature spectrale spécifique aux individus « Inocs ».

Pour mieux représenter cette division entre pixels sains et pixels malades, on peut créer une heatmap de la feuille basée sur les données de T^2 (Figure 26). La carte se base sur la position de la feuille dans l'image d'origine et remplace les spectres de chaque pixel par la valeur de T^2 associée dans la MWPCA. Sur cette heatmap, il est alors visible que les T^2 issus de la deuxième distribution ($> 1,8$) correspondent aux zones sur lesquelles la maladie est visible. En effet, on peut voir sur l'image RGB de la feuille (Figure 26A) que la zone haute de la feuille est fortement impactée par la maladie tandis que la zone basse semble toujours plus ou moins verte donc intacte. Cette constatation est aussi visible sur la heatmap (Figure 26B), avec une majorité des T^2 forts sur la partie haute de la feuille.



Figure 26 : (A) Image RGB d'un individu (26_G_2) à 12 dpi, (B) Heatmap d'un individu (26_G_2) à deux niveaux de T^2 (pixels malades : foncé ; pixels non malades : clair) pris à 12 dpi

Les distributions des T^2 nous ont permis de confirmer une distinction non plus simplement entre les individus « Mocks » et les individus « Inocs » mais au sein d'une feuille entre les pixels « sains » et les pixels « malades ». Les pixels « sains » se rapprochant de ceux observés sur des individus « Mocks ». La heatmap nous permet de visualiser la spatialisation de la maladie avec des pixels encore « sains » et des pixels présentant déjà les marques de la maladie. Ainsi, on peut voir que chez les individus « Inocs », il existe des pixels à T^2 forts et des pixels à T^2 faibles, qui correspondent respectivement à des zones malades ou des zones saines. Nous pouvons donc conclure que la MWPCA permet de distinguer ces pixels. Peut-on dans ce cas caractériser au niveau spatio-temporel la dynamique de la mise en place de la maladie sur une feuille donnée ?

3.3.2. Représentation de l'évolution des feuilles à l'aide du T^2

Dans ce paragraphe, nous analyserons la dynamique temporelle des T^2 pour une feuille donnée suite à l'inoculation. En effet, nos résultats précédents suggèrent que la propagation de la maladie (nécrose) s'accompagne d'un nombre croissant de pixels ayant de fortes valeurs de T^2 . Nous allons vérifier si, en travaillant à l'échelle d'une feuille inoculée, nous sommes capables de caractériser l'apparition de pixels correspondant à des zones nécrosées sans nous appuyer sur une référence 'Mock'. Dans ce cas les résultats de T^2 utilisés sont issus de MWPCA plus « classiques », c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'individus de projection. D'autre part, le phénomène de sénescence pouvant venir perturber notre analyse nous avons choisi de travailler par zone. En effet, la sénescence apparaît généralement en bout de feuille et plus tardivement se propage à la base de la feuille. Ainsi, analyser séparément six portions prises horizontalement de cet individu pourrait permettre de distinguer la sénescence de la mise en place des nécroses qui peuvent apparaître de façon aléatoire sur toute la surface de la feuille. L'individu a donc été analysé en prenant d'abord la feuille entière puis les six zones séparément. Chaque zone choisie est analysée indépendamment pour la MWPCA et, ensuite, les T^2 sont projetés sur une heatmap pour pouvoir en faire une représentation visuelle.

La raison pour laquelle on ne peut pas regarder directement les valeurs réelles de T^2 est que le T^2 a une distribution gaussienne à queue lourde. Un certain nombre de valeurs sont extrêmes (Figure 25), surtout pour certaines dates (par exemple 17 dpi Annexe 5). En représentation, cela signifie que les couleurs de la heatmap vont être conditionnées par ces valeurs extrêmes, alors qu'elles ne représentent qu'un pourcentage très faible des données. C'est pour cela que l'option de conserver des groupes, au sein de la heatmap, a été choisie. Les groupes ne sont évidemment pas tous de la même taille mais dépendent de la distribution des valeurs de T^2 . Ces groupes nous permettent alors d'observer l'évolution de la maladie sur les feuilles en comparant les heatmap aux images obtenus à l'aide de la caméra hyperspectrale.

Pour les feuilles non-inoculées, peu d'informations ressortent (Figure 27). Les couleurs visibles sur la heatmap ne varient quasiment pas au cours de l'expérience. Les images RGB montrent des feuilles

ayant très peu de changement au cours du temps, c'est-à-dire sans nécroses apparentes. Ce résultat corrobore les analyses de la première partie qui montrait peu d'évolution des T² au sein des « Mocks ». L'individu « Mock » 34_G_1 ne présentait pas de sénescence en fin d'expérience (comme pour beaucoup d'individus « Mock » du génotype EPO_67).



Figure 27 : (A) 34_G_1 EPO_67 « Mock » Heatmap en zones (6 zones avec en haut la zone proximale (6) et en bas la zone distale (1)) (B) Images RGB de 34_G_1 en miroir par rapport aux heatmaps et en fausses couleurs issues de la caméra VNIR. Les groupes de valeurs de T^2 sont répartis ainsi : (i) de 0 à 0.75 ; (ii) de 0.75 à 1 ; (iii) de 1 à 1.25 ; (iv) de 1.25 à 2 ; (v) de 2 à 6 (groupes représentant la queue lourde de la distribution) ; (vi) de 6 à 15 (groupes représentant la queue lourde de la distribution)

Sur les heatmap de feuilles inoculées du génotype EPO_67, il est à noter que plusieurs zones de la feuille ressortent avec des valeurs fortes de T^2 (Figure 27). La première (dans l'ordre chronologique) est la marque faite sur les feuilles pour noter la zone d'infection. En effet, cette zone est délimitée à l'aide d'un marqueur noir donc visible en VNIR. Cette zone est non négligeable étant donné que pour des raisons de cadrage de l'image elle apparaît sur au moins 2 feuilles dans l'exemple (Figure 27A). La deuxième zone ayant de fortes valeurs de T^2 est la zone abîmée de la feuille. Au cours de l'expérience, les feuilles ont été beaucoup manipulées, ce qui a donné l'apparition de blessures sur la feuille. Ces blessures peuvent être impactantes pour l'analyse.

Enfin, la maladie est la dernière raison d'apparition des valeurs fortes de T^2 . Pour s'en assurer, on peut comparer les images RGB (Figure 27B) aux heatmap de feuilles. Vers 11 dpi et jusqu'à 13 dpi, des zones montrent clairement les zones de symptômes de la feuille.

Les heatmap « Mock » et « Inocs » permettent de bien observer la mise en place spatiale de la maladie sur la plante. On peut ainsi faire un suivi de l'impact de la maladie sur la feuille, en lien avec l'apparition des symptômes sur la feuille. Cependant cette observation reste visuelle et l'hétérogénéité observée sur la feuille « Inoc » n'est peut-être pas significative. Pour évaluer la structure spatiale, nous avons utilisé une analyse variographique.

3.3.3. Evaluation de la structure spatiale au sein des feuilles par analyse variographique

Cette analyse a été faite par zone au sein de chaque feuille. Le découpage par zone a été choisi pour permettre de diminuer le ratio pixels malades sur pixels sains, et d'ainsi comprendre les différences entre des zones complètement malades et d'autres un peu moins. Il est à noter que cette approche est moins coûteuse que de s'intéresser à chaque pixel individuellement et peut déjà permettre d'obtenir des conclusions intéressantes. Ces zones sont au nombre de 6 et sont constituées par un nombre similaire de pixels (131 pixels de longueur, la largeur étant dépendante du stade de développement de la feuille). La zone 1 est prise à la base de la feuille et chaque zone est prise en remontant jusqu'au bout de la feuille (zone 6).



Figure 28 : (A) 26_G_2 EPO_67 « Inoc » Heatmap en zones (6 zones avec en haut la zone proximale (6) et en bas la zone distale (1) (B) Images RGB de 26_G_2 en miroir par rapport aux heatmaps en fausse couleur issus de la caméra VNIR. Les groupes de valeurs de T^2 sont répartis ainsi : (i) de 0 à 0.75 ; (ii) de 0.75 à 1 ; (iii) de 1 à 1.25 ; (iv) de 1.25 à 2 ; (v) de 2 à 6 (groupes représentant la queue lourde de la distribution) ; (vi) de 6 à 15 (groupes représentant la queue lourde de la distribution)

L'analyse variographique a été faite pour un individu « Mock » et un individu « Inoc » du génotype EPO_67 (Figure 29). Pour l'individu « Mock », les courbes sur ces 6 zones sont relativement similaires et présentent peu d'évolution hormis en fin d'expérience où les valeurs de l'indice de Cambardella augmentent de façon sensible essentiellement pour les zones 3 à 4. Les valeurs d'indice pour ces différentes zones n'étant ni supérieures à 75% (pas structurée) ni inférieures à 25% (très structurée), il nous est difficile de conclure. Cependant, les valeurs moyennes de l'indice de Cambardella apparaissent de plus en plus significatives quand on compare la zone 1 (base de la feuille) et la zone 6 (bout de la feuille). Cette évolution semble être progressive au fur et à mesure qu'on se déplace entre la base et le bout de la feuille. La sénescence se mettant en place toujours à partir du bout de la feuille il serait intéressant de confirmer si ce phénomène est en train de débiter progressivement dans les différentes zones.

La figure 30 présente les résultats pour une feuille « Inoc » du génotype EPO_67. L'information à retirer de ces graphiques est que contrairement à l'individu « Mock » aucun schéma commun ne semble apparaître entre les différentes zones. On n'observe pas non plus réellement de diminution progressive de l'indice moyen entre les différentes zones comme chez l'individu « Mock ». Par contre, des valeurs significatives inférieures à 25% apparaissent, surtout en fin d'expérience, pouvant être dues à la maladie ou la sénescence de la plante. Des valeurs supérieures à 75% sont aussi visibles en début et milieu d'expérience pour les zones 4, 5 et 6. Globalement nous espérons que cette analyse permettrait de valider l'impression visuelle d'une structuration des zones entre pixels sains et malades cependant cet indice ne nous permet pas vraiment de confirmer cette structuration.

La structure spatiale entre « Mocks » et « Inocs » semble malgré tout être différente avec des schémas variés pour les « Inocs » et un schéma unique pour les « Mocks », montrant donc une influence de la maladie sur la structure spatiale. La différenciation entre les zones indique bien aussi une importance de la spatialité chez les « Inocs » mais aussi chez les « Mocks ».

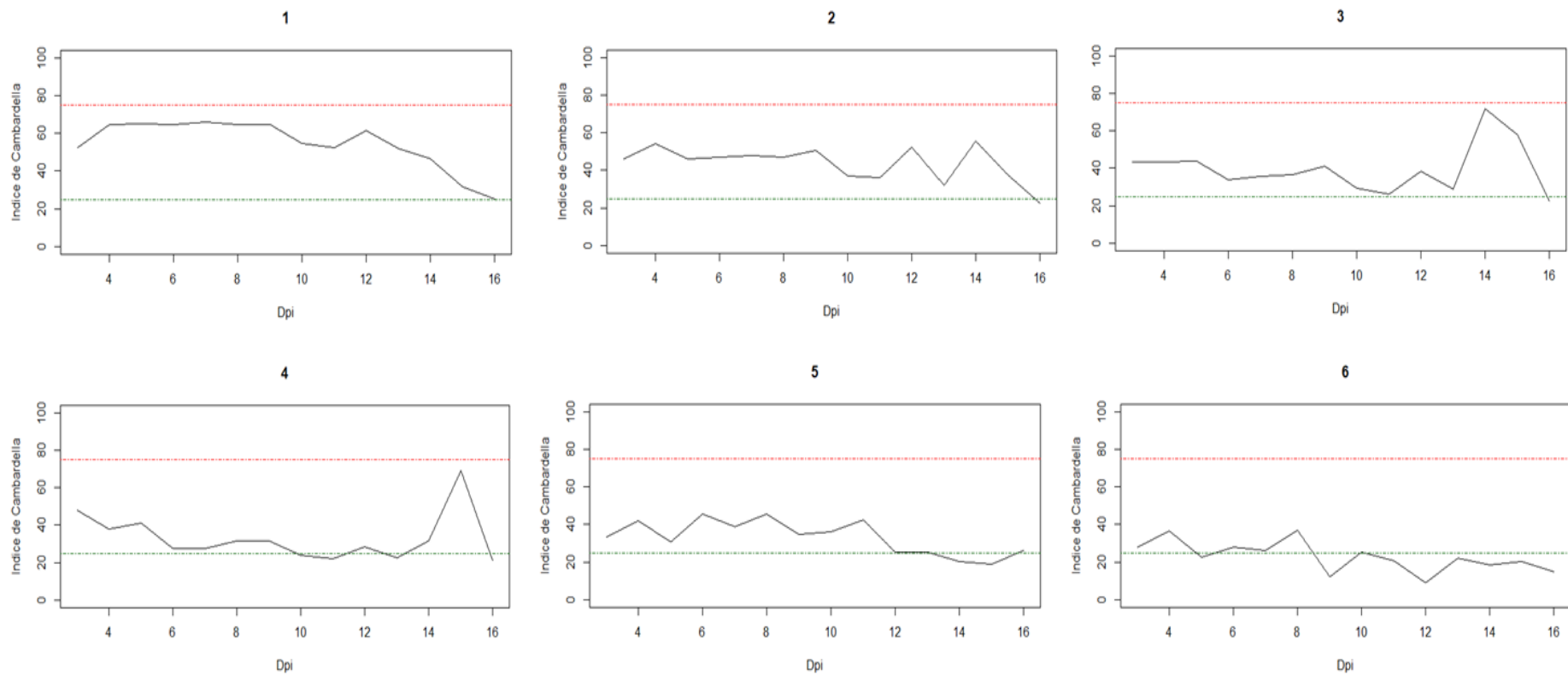


Figure 29 : Analyse variographique des zones 1 à 6 de la heatmap de l'individu « Mock » 34_G_1 du génotype EPO_67. La courbe verte indique le seuil de 25%, en dessous de ce seuil, les valeurs sont significatives et indiquent une structuration spatiale. La courbe rouge indique le seuil de 75%, en dessus de ce seuil, les valeurs sont non significatives et indiquent qu'il n'y a aucune structure spatiale.

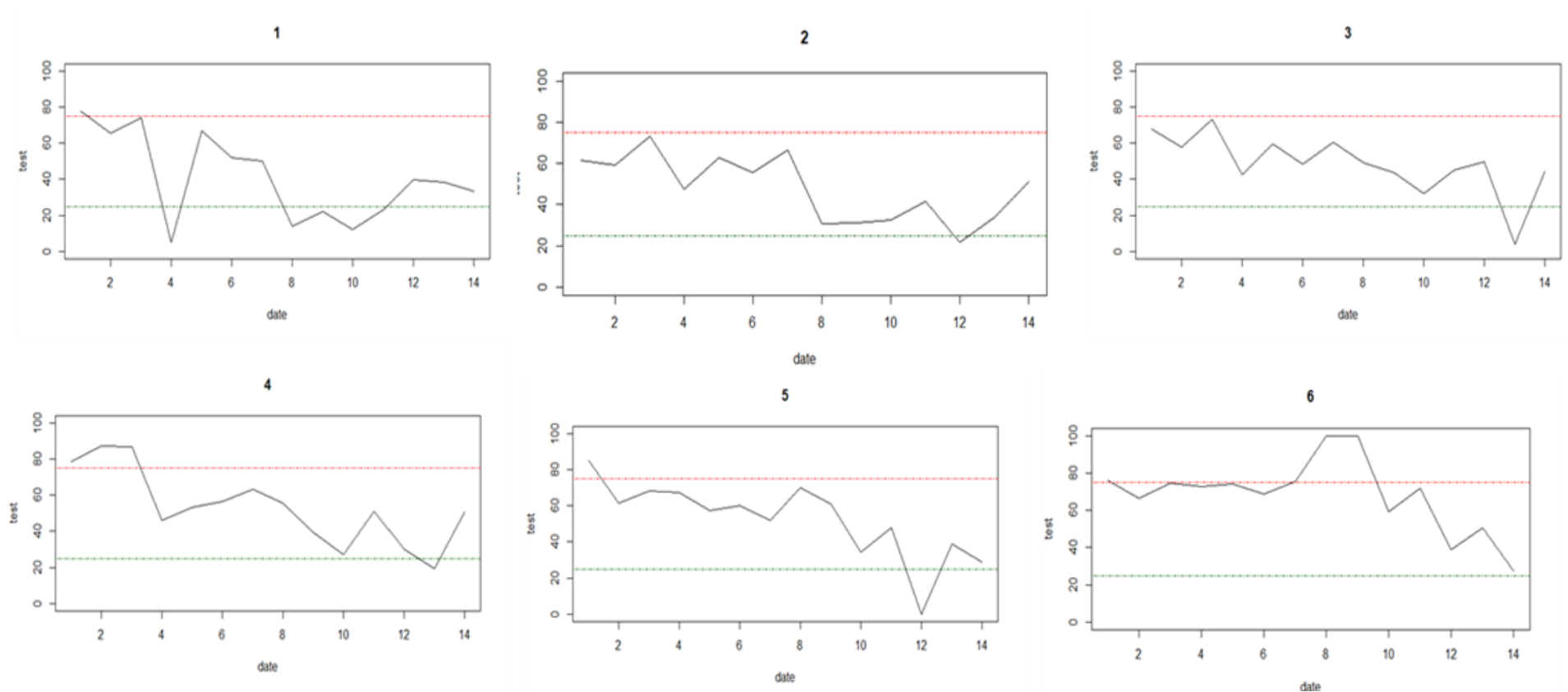


Figure 30 : Analyse variographique des différentes zones de la heatmap de l'individu « Inoc » 26_G_2 du génotype EPO_67. La courbe verte indique le seuil de 25%, en dessous de ce seuil, les valeurs sont significatives et indiquent une structuration spatiale. La courbe rouge indique le seuil de 75%, en dessus de ce seuil, les valeurs sont non significatives et indiquent qu'il n'y a aucune structure spatiale

3.3.4. Analyse discriminante et différenciation des pixels « Mocs » et « Inocs »

De la même manière que l'on s'est demandé si l'on pouvait différencier le groupe « Inoc » du groupe « Mock » sur une approche globale du T², il est possible de se demander si chaque pixel d'une feuille peut permettre de discriminer les deux groupes « Mocks » et « Inocs ». Pour cela, nous avons essayé de différencier les feuilles « Inocs » et les feuilles « Mocks » du génotype EPO_67 sur la base des spectres pour chaque pixel. Pour rappel, cela revient à comparer 21 feuilles « Inocs » à 16 feuilles « Mocks ». Pour réaliser cette comparaison, nous avons utilisé une analyse discriminante linéaire à l'aide du package MASS sous le logiciel R.

La figure 31 présente le résultat de l'analyse discriminante à 12 dpi. Les deux groupes sont significativement différenciables. On remarque cependant que le groupe « Inoc » semble avoir de petits recouvrements pour une partie des pixels sur le groupe « Mock », probablement dû aux pixels sains présents dans les feuilles malades.

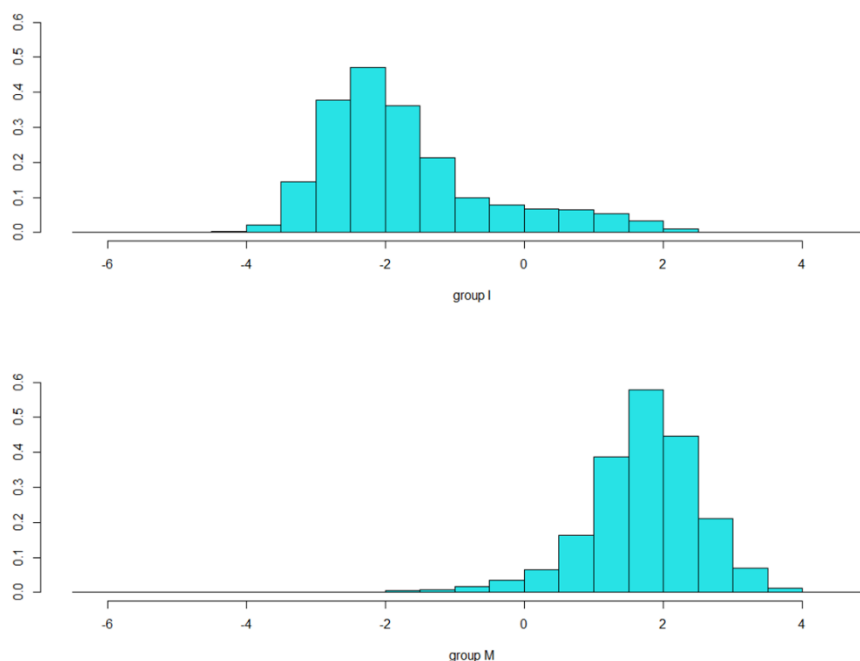


Figure 31 : Analyse factorielle discriminante (AFD) à la date 12 dpi des groupes Mocks et Inocs de pixels EPO_67. 'group I' correspond aux individus « Inocs » et 'group M' correspond aux individus « Mocks »

Une information que l'on peut aussi extraire de l'analyse factorielle discriminante est le poids que donnent le modèle retenu à chacune des variables utilisées (ici les longueurs d'ondes). Cette information est contenue dans le vecteur discriminant de l'analyse (Figure 32). Il est alors visible que certaines longueurs d'onde ont plus de poids dans le modèle que d'autres. Ces longueurs d'onde sont autour de 560 nm, longueur d'onde des anthocyanes, et 700 nm, longueur d'onde du « red-edge ».

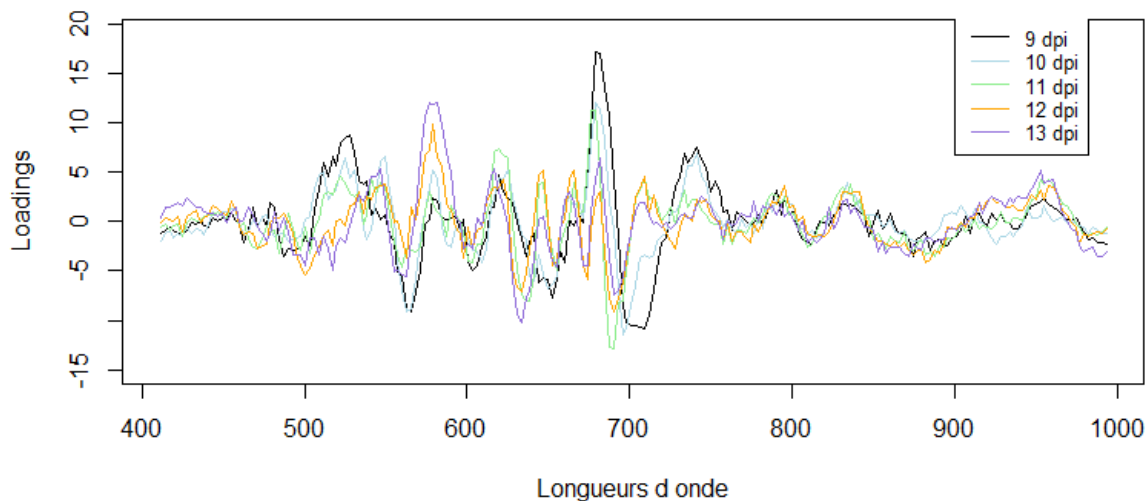


Figure 32 : Vecteurs discriminants associés à l'analyse discriminante pour 5 dates (9 dpi, 10 dpi, 11 dpi, 12 dpi et 13 dpi).

On peut donc conclure de cette partie que les « Inocs » et les « Mocks » sont différenciables à l'aide d'une analyse discriminante. Certaines longueurs d'onde, tel que 560 nm et le red-edge, peuvent également être mises en évidence à l'aide de ce modèle.

3.3.5. Conclusion

En regardant les valeurs de T^2 pixel à pixel, on peut mettre en évidence l'existence de deux types de pixels chez les individus « Inocs », les pixels sains et les pixels malades. Cette différence est visible selon leur valeur de T^2 , forte pour les malades et faibles pour les sains vers 12 dpi. Après cette date, la différence n'est plus aussi nette, les pixels malades pouvant devenir majoritaires au sein des feuilles. Pour mettre en évidence visuellement ces deux types de pixels, nous avons eu recours à une heatmap. Dans ce cas, les zones de la feuille exprimant les symptômes de nécrose liés à la maladie semblent bien mises en évidence au sein des individus « Inocs ». Ce résultat spatial est très important. En effet, nous avons confirmé l'intérêt de l'utilisation de l'imagerie hyperspectrale pour avoir accès à l'information spatiale sur la feuille. Cependant, bien que dans le meilleur des cas, le travail pixel à pixel pose un problème matériel. En effet, le traitement de cette quantité de données est beaucoup plus long et exigeant en mémoire.

Cependant, ces heatmaps ne peuvent pas être utilisées pour pouvoir différencier « Mocks » et « Inocs », car l'information est uniquement visuelle. C'est pourquoi nous avons voulu mettre en place un indice permettant de valider cette spatialisation via l'indice de Cambardella. Les analyses variographiques montrent une structuration spatiale au sein des « Inocs » mais aussi des « Mocks ». L'analyse montre que les « Mocks » semblent avoir une structuration plus importante vers la tige plutôt que vers la partie distale de la feuille. Ce résultat est une réalité physiologique au sein des plantes (Blackman, 1971;

Kirby, 2002). En effet, le blé a une structuration de ces tissus plus importante de ces tissus de la feuille près de la tige pour permettre un meilleur maintien des feuilles.

Enfin, le résultat majeur de cette étude est que l'analyse discriminante met en évidence que la longueur d'ondes associée à la présence d'anthocyanes (560 nm) ainsi que le 'red edge' semblent permettre de différencier les pixels « Mocks » et « Inocs ». L'effet des anthocyanes pour détecter une maladie a déjà été mise en évidence (Morel et al., 2018). C'est un composé qui est aussi impliqué entre autre dans la mise en place des défenses de la plante (Alappat and Alappat, 2020; Lev-Yadun and Gould, 2008).

Il est à noter que cette différenciation n'est possible qu'avec le nombre d'échantillons et de variables que nous avons dans notre expérience. En effet, pour pouvoir utiliser une analyse discriminante, il faut suffisamment d'échantillons par rapport aux nombres de variables. C'est d'autant plus vrai ici que l'on met en évidence l'existence de deux populations de pixels au sein d'une même feuille.

Un des défauts que l'expérience a pu mettre en évidence est dû à l'algorithme d'extraction des images. En effet, sur les Figures 3 et 4, il est possible de voir que l'intérieur de certaines feuilles n'est pas complet. Cela est dû au fait que l'algorithme a été construit dans une approche globale (sans tenir compte du temps auquel étaient prises les images) et pour une feuille plate et sans défaut. Ces hypothèses posent des difficultés parce qu'au cours de l'expérience, la feuille a la possibilité de se dégrader fortement (surtout pour les « Inocs »), ce qui cause une non-adéquation des paramètres de l'algorithme. De plus, il était possible d'avoir des feuilles qui se plient au cours du temps. Dans ce cas, l'ombre créée sur l'image empêche une extraction des pixels concernés.

4. Références

- Abdulah, S., Alamri, F., Nag, P., Sun, Y., Ltaief, H., Keyes, D.E., Genton, M.G., 2022. The Second Competition on Spatial Statistics for Large Datasets.
- Aboukhaddour, R., Fetch, T., McCallum, B.D., Harding, M.W., Beres, B.L., Graf, R.J., 2020. Wheat diseases on the prairies: A Canadian story. *Plant Pathol* 69, 418–432. <https://doi.org/10.1111/ppa.13147>
- Alappat, B., Alappat, J., 2020. Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. *Molecules* 25, 5500. <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>
- Anderegg, J., Hund, A., Karisto, P., Mikaberidze, A., 2019. In-Field Detection and Quantification of Septoria Tritici Blotch in Diverse Wheat Germplasm Using Spectral–Temporal Features. *Front. Plant Sci.* 10, 1355. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01355>
- Anderegg, J., Yu, K., Aasen, H., Walter, A., Liebisch, F., Hund, A., 2020. Spectral Vegetation Indices to Track Senescence Dynamics in Diverse Wheat Germplasm. *Front. Plant Sci.* 10, 1749. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01749>
- Arens, N., Backhaus, A., Döll, S., Fischer, S., Seiffert, U., Mock, H.-P., 2016. Non-invasive Presymptomatic Detection of *Cercospora beticola* Infection and Identification of Early Metabolic Responses in Sugar Beet. *Front. Plant Sci.* 07. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01377>
- Azawi, H., Saleh, M.S., 2021. Review of the Kriging Technique Applications to Groundwater Quality. *jcoeng* 27, 23–32. <https://doi.org/10.31026/j.eng.2021.12.03>
- Ballini, E., Tavaud, M., Ducasse, A., Sanchez, D., Paux, E., Kitt, J., Charmet, G., Audigeos, D., Roumet, P., David, J., Morel, J.-B., 2020. Genome wide association mapping for resistance to multiple fungal pathogens in a panel issued from a broad composite cross-population of tetraploid wheat *Triticum turgidum*. *Euphytica* 216, 92. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02631-9>
- Bebronne, R., Carlier, A., Meurs, R., Leemans, V., Vermeulen, P., Dumont, B., Mercatoris, B., 2020. In-field proximal sensing of septoria tritici blotch, stripe rust and brown rust in winter wheat by means of reflectance and textural features from multispectral imagery. *Biosystems Engineering* 197, 257–269. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.06.011>
- Behmann, J., Bohnenkamp, D., Paulus, S., Mahlein, A.-K., 2018. Spatial Referencing of Hyperspectral Images for Tracing of Plant Disease Symptoms. *J. Imaging* 4, 143. <https://doi.org/10.3390/jimaging4120143>

- Blackman, E., 1971. The Morphology and Development of Cross Veins in the Leaves of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany* 35, 653–665. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084510>
- Bohnenkamp, D., 2020. Hyperspectral in-field sensing of foliar diseases of wheat 158.
- Bohnenkamp, D., Behmann, J., Paulus, S., Steiner, U., Mahlein, A.-K., 2021. A Hyperspectral Library of Foliar Diseases of Wheat. *Phytopathology*® 111, 1583–1593. <https://doi.org/10.1094/PHTO-09-19-0335-R>
- Brennan, C.J., Benbow, H.R., Mullins, E., Doohan, F.M., 2019. A review of the known unknowns in the early stages of septoria tritici blotch disease of wheat. *Plant Pathol* 68, 1427–1438. <https://doi.org/10.1111/ppa.13077>
- Brown, J.K.M., Chartrain, L., Lasserre-Zuber, P., Saintenac, C., 2015. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genetics and Biology* 79, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.017>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., Tavaud-Pirra, M., 2014. Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Mol Breeding* 34, 1531–1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Devadas, R., Lamb, D.W., Backhouse, D., Simpfendorfer, S., 2015. Sequential application of hyperspectral indices for delineation of stripe rust infection and nitrogen deficiency in wheat. *Precision Agric* 16, 477–491. <https://doi.org/10.1007/s11119-015-9390-0>
- Duba, A., Goriewa-Duba, K., Wachowska, U., 2018. A Review of the Interactions between Wheat and Wheat Pathogens: *Zymoseptoria tritici*, *Fusarium* spp. and *Parastagonospora nodorum*. *IJMS* 19, 1138. <https://doi.org/10.3390/ijms19041138>
- Fantozzi, E., Kilaru, S., Gurr, S.J., Steinberg, G., 2021. Asynchronous development of *Zymoseptoria tritici* infection in wheat. *Fungal Genetics and Biology* 146, 103504. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103504>
- Fones, H., Gurr, S., 2015. The impact of *Septoria tritici* Blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genetics and Biology* 79, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.004>
- Francesconi, S., 2022. High-throughput and point-of-care detection of wheat fungal diseases: Potentialities of molecular and phenomics techniques toward in-field applicability. *Front. Agron.* 4, 980083. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.980083>

- Ghaffary, S.M.T., Chawade, A., Singh, P.K., 2018. Practical breeding strategies to improve resistance to *Septoria tritici* blotch of wheat. *Euphytica* 214, 122. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2205-4>
- Gustafson, P., Raskina, O., Ma, X., Nevo, E., 2009. Wheat Evolution, Domestication, and Improvement, in: Carver, B.F. (Ed.), *Wheat Science and Trade*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 3–30. <https://doi.org/10.1002/9780813818832.ch1>
- Haueisen, J., Möller, M., Eschenbrenner, C.J., Grandaubert, J., Seybold, H., Adamiak, H., Stukenbrock, E.H., 2019. Highly flexible infection programs in a specialized wheat pathogen. *Ecol Evol* 9, 275–294. <https://doi.org/10.1002/ece3.4724>
- Jørgensen, L.N., Oliver, R.P., Heick, T.M., 2018. Occurrence and avoidance of fungicide resistance in cereal diseases, in: *Integrated Disease Management of Wheat and Barley*. Burleigh Dodds Science Publishing, pp. 255–280.
- Keon, J., Antoniw, J., Carzaniga, R., Deller, S., Ward, J.L., Baker, J.M., Beale, M.H., Hammond-Kosack, K., Rudd, J.J., 2007. Transcriptional Adaptation of *Mycosphaerella graminicola* to Programmed Cell Death (PCD) of Its Susceptible Wheat Host. *MPMI* 20, 178–193. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-2-0178>
- Kirby, E., 2002. Botany of the wheat plant. Bread wheat improvement and production. FAO Plant production and protection series 30–52.
- Kuska, M.T., Behmann, J., Großkinsky, D.K., Roitsch, T., Mahlein, A.-K., 2018. Screening of Barley Resistance Against Powdery Mildew by Simultaneous High-Throughput Enzyme Activity Signature Profiling and Multispectral Imaging. *Front. Plant Sci.* 9, 1074. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01074>
- Lev-Yadun, S., Gould, K.S., 2008. Role of Anthocyanins in Plant Defence, in: Winefield, C., Davies, K., Gould, K. (Eds.), *Anthocyanins*. Springer New York, New York, NY, pp. 22–28. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3_2
- López, M.M., Bertolini, E., Olmos, A., Caruso, P., Gorris, M.T., Llop, P., Penyalver, R., Cambra, M., 2003. Innovative tools for detection of plant pathogenic viruses and bacteria. *Int Microbiol* 6, 233–243. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0143-y>
- Lovell, D.J., Hunter, T., Powers, S.J., Parker, S.R., Van den Bosch, F., 2004. Effect of temperature on latent period of septoria leaf blotch on winter wheat under outdoor conditions. *Plant Pathology* 53, 170–181. <https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.00983.x>
- Mahlein, A.-K., Kuska, M.T., Thomas, S., Wahabzada, M., Behmann, J., Rascher, U., Kersting, K., 2019. Quantitative and qualitative phenotyping of disease resistance of crops by

- hyperspectral sensors: seamless interlocking of phytopathology, sensors, and machine learning is needed! *Current Opinion in Plant Biology* 50, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.06.007>
- Mahlein, A.-K., Steiner, U., Dehne, H.-W., Oerke, E.-C., 2010. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. *Precision Agric* 11, 413–431. <https://doi.org/10.1007/s11119-010-9180-7>
- McCartney, C.A., Somers, D.J., Fedak, G., Cao, W., 2004. Haplotype diversity at fusarium head blight resistance QTLs in wheat. *Theor Appl Genet* 109, 261–271. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1640-x>
- Mitra, D., 2021. Emerging Plant Diseases: Research Status and Challenges, in: Singh, K.P., Jahagirdar, S., Sarma, B.K. (Eds.), *Emerging Trends in Plant Pathology*. Springer Singapore, Singapore, pp. 1–17. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6275-4_1
- Morel, J., Jay, S., Féret, J.-B., Bakache, A., Bendoula, R., Carreel, F., Gorretta, N., 2018. Exploring the potential of PROCOSINE and close-range hyperspectral imaging to study the effects of fungal diseases on leaf physiology. *Sci Rep* 8, 15933. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34429-0>
- Mur, L.A.J., Kenton, P., Lloyd, A.J., Ougham, H., Prats, E., 2008. The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? *J. Exp. Bot.* 59, 501–520. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm239>
- Odilbekov, F., Armoniené, R., Henriksson, T., Chawade, A., 2018. Proximal Phenotyping and Machine Learning Methods to Identify Septoria Tritici Blotch Disease Symptoms in Wheat. *Front. Plant Sci.* 9, 685. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00685>
- Oerke, E.-C., 2006. Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* 144, 31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Osman, S.O.M., Saad, A.S.I., Tadano, S., Takeda, Y., Yamasaki, Y., Tahir, I.S.A., Tsujimoto, H., Akashi, K., 2022. Probing Differential Metabolome Responses among Wheat Genotypes to Heat Stress Using Fourier Transform Infrared-Based Chemical Fingerprinting. *Agriculture* 12, 753. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060753>
- Pichon, L., Bopp, O., Tisseyre, B., 2021. Pichon, L., Bopp, O., & Tisseyre, B. Characterising the within-field variability of vine water status with simple visual, in: *Precision Agriculture'21*. pp. 17–27.
- Pimentel, D., Zuniga, R., Morrison, D., 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* 52, 273–288. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2004.10.002>

- Radočaj, D., Jurišić, M., Gašparović, M., 2022. The Role of Remote Sensing Data and Methods in a Modern Approach to Fertilization in Precision Agriculture. *Remote Sensing* 14, 778. <https://doi.org/10.3390/rs14030778>
- Robert, C., Garin, G., Abichou, M., Houlès, V., Pradal, C., Fournier, C., 2018. Plant architecture and foliar senescence impact the race between wheat growth and *Zymoseptoria tritici* epidemics. *Annals of Botany* 121, 975–989. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx192>
- Rudd, J.J., Kanyuka, K., Hassani-Pak, K., Derbyshire, M., Andongabo, A., Devonshire, J., Lysenko, A., Saqi, M., Desai, N.M., Powers, S.J., Hooper, J., Ambroso, L., Bharti, A., Farmer, A., Hammond-Kosack, K.E., Dietrich, R.A., Courbot, M., 2015. Transcriptome and Metabolite Profiling of the Infection Cycle of *Zymoseptoria tritici* on Wheat Reveals a Biphasic Interaction with Plant Immunity Involving Differential Pathogen Chromosomal Contributions and a Variation on the Hemibiotrophic Lifestyle Definition. *Plant Physiology* 167, 1158–1185. <https://doi.org/10.1104/pp.114.255927>
- Sánchez-Vallet, A., Mesters, J.R., Thomma, B.P.H.J., 2015. The battle for chitin recognition in plant-microbe interactions. *FEMS Microbiology Reviews* 39, 171–183. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu003>
- Sankaran, S., Mishra, A., Ehsani, R., Davis, C., 2010. A review of advanced techniques for detecting plant diseases. *Computers and Electronics in Agriculture* 72, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.02.007>
- Savary, S., Stetkiewicz, S., Brun, F., Willocquet, L., 2015. Modelling and mapping potential epidemics of wheat diseases—examples on leaf rust and *Septoria tritici* blotch using EPIWHEAT. *Eur J Plant Pathol* 142, 771–790. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0650-7>
- Simón, M.R., Börner, A., Struik, P.C., 2021. Editorial: Fungal Wheat Diseases: Etiology, Breeding, and Integrated Management. *Front. Plant Sci.* 12, 671060. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.671060>
- Singh, R.P., Singh, P.K., Rutkoski, J., Hodson, D.P., He, X., Jørgensen, L.N., Hovmøller, M.S., Huerta-Espino, J., 2016. Disease Impact on Wheat Yield Potential and Prospects of Genetic Control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 54, 303–322. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095835>
- Somers, D.J., Isaac, P., Edwards, K., 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109, 1105–1114. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1740-7>

- Tosi, S., Sfeir, C., Carnesecchi, E., Chauzat, M.-P., others, 2022. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. *Science of The Total Environment* 156857.
- Wahabzada, M., Mahlein, A.-K., Bauckhage, C., Steiner, U., Oerke, E.-C., Kersting, K., 2015. Metro Maps of Plant Disease Dynamics—Automated Mining of Differences Using Hyperspectral Images. *PLoS ONE* 10, e0116902. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116902>
- Yang, F., Li, W., Jørgensen, H.J.L., 2013. Transcriptional Reprogramming of Wheat and the Hemibiotrophic Pathogen *Septoria tritici* during Two Phases of the Compatible Interaction. *PLoS ONE* 8, e81606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081606>
- Yu, K., Anderegg, J., Mikaberidze, A., Karisto, P., Mascher, F., McDonald, B.A., Walter, A., Hund, A., 2018. Hyperspectral Canopy Sensing of Wheat *Septoria Tritici* Blotch Disease. *Front. Plant Sci.* 9, 1195. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01195>

Conclusion

Le travail effectué dans cette thèse est focalisé sur le phénotypage de phénomènes complexes à l'aide de la spectroscopie seule (senescence foliaire) ou couplée à de l'imagerie (interactions blé / septoriose). Par processus complexe, on entend un processus impliquant un grand nombre de composants et de processus cumulés. Dans ce but, nous avons utilisé une méthode issue du suivi des procédés (« batch process »), la méthodologie d'analyse multidimensionnelle à fenêtre glissante (MWPCA). Tout d'abord, le but était de savoir si cette méthode, qui ne nécessite pas de passer par une étape d'étalonnage du signal spectral, était adaptable à un modèle biologique végétal « vivant » et à la documentation temporelle et spatiale de processus intégrant de nombreuses modifications biochimiques et physiques de la matrice étudiée. En effet, ces deux processus étudiés sont beaucoup plus complexes que ceux normalement étudiés en suivi des procédés. De ce fait et par définition, un processus complexe devient difficilement observable. C'est dans ce contexte général que nous avons voulu tester la MWPCA. Notre hypothèse était que cette méthode serait adaptée à mettre en évidence le changement du processus de la même manière qu'elle peut le permettre en suivi des procédés pour un processus plus simple.

1. La MWPCA une méthode issue du « batch process » peut être utilisée pour le suivi temporel de processus complexes *in planta* et adapté à des analyses spatiales de ces processus.

En « batch process », la MWPCA est utilisée pour comparer le processus en cours avec celui d'une référence (« golden batch »). Les processus que nous avons observés ici sont continus et il n'est pas très aisé de définir un « golden batch » pour celles-ci. Tout ce que nous pouvions faire, c'était de définir un état initial. Ainsi, dans un 1^{er} temps, il était nécessaire de s'assurer que cet état initial pouvait servir de signal de référence. Dans un second temps, il fallait nous assurer que les processus étudiés présentent des étapes suffisamment distinctes les uns des autres pour espérer être en capacité de visualiser des changements d'état de la matrice (ici la feuille) liés aux processus biologiques étudiés à l'aide des modifications spectrales. En effet, si le processus est trop continu et les changements quotidiens trop légers, il est possible que la MWPCA ne puisse pas les détecter.

Dans chacun des deux processus, nous avons pu détecter la mise en place d'une modification significative du signal spectral au cours du processus étudié (senescence foliaire ou interaction plante pathogène) en considérant comme « golden batch » soit les spectres foliaires avant la mise en place des processus ciblés (feuille jeune adulte et avant inoculation pour chacun des deux phénomènes étudiés) soit une autre plante témoin non inoculée pour la réponse à la septoriose. Sur cette base, l'utilisation du signal issu de la MWPCA dans le cadre d'une méthode non supervisée nous paraissait possible.

La seconde étape a été d'analyser les sorties de la MWPCA et de les mettre en relation avec des éléments connus de ces processus. Contrairement au « batch process » où les anomalies spectrales génèrent en sortie de la MWPCA une alerte qui sera interprétée comme une erreur dans le processus, notre

hypothèse était que les signaux détectés au cours des phénomènes biologiques étudiés correspondaient à des changements importants du fonctionnement de la matrice foliaire, et non nécessairement à des anomalies au sens strict. De ce fait, en nous basant sur le suivi temporel d'une métrique basée sur les distances entre les centres de gravité des données spectrales du jeu de données de référence et des données du jour suivant (T^2 de Hotelling), nous avons pu identifier de façon non ambiguë des variations de propriétés spectrales. En comparant ces valeurs de T^2 obtenues à des dates particulières avec les variations du contenu biochimique foliaire (senescence) ou avec des valeurs de T^2 de feuilles non inoculées, nous avons mis en évidence une relation étroite avec la spécificité de ces valeurs de T et les phénomènes étudiés.

Au-delà de ces aspects liés aux variations spectrales, l'utilisation de l'imagerie hyperspectrale nous a permis de prendre en compte la dimension spatiale dans l'étude des interactions plante pathogène et d'avoir accès à une quantification des pixels concernés. Cette spatialisation est cruciale dans le cas d'une infection de la feuille par un champignon, la localisation des symptômes visibles pouvant être très variable selon le point d'entrée de l'infection et plus ou moins marquée quantitativement. De fait, grâce à l'utilisation de cette technologie, nous avons mis en évidence les différences spectrales entre feuilles saines et inoculées et dans le cas des feuilles inoculées, nous avons pu quantifier l'importance des zones malades au cours du cycle infection. Pour préciser l'apport du couplage entre les dimensions spectrales et l'image, il nous aurait fallu extraire les longueurs d'ondes correspondant aux RGB de notre matrice spectrale et tester si l'information recueillie à partir de différents indices spectraux calculés sur cette base nous permettait, ou pas, de retrouver l'information apportée par un spectre plus complet.

La MWPCA permet donc bien une détection d'un signal qui, après analyse, semble bien représenter les processus étudiés. Il existe cependant un grand nombre de différences entre les données utilisées en suivi des procédés et les données issues de cette thèse qui ont compliqué cette analyse. Tout d'abord, en suivi des procédés, un seul spectre est traité à chaque date. Le processus, quant à lui, est répété plusieurs fois pour permettre de le prendre en compte plusieurs fois dans la fenêtre d'apprentissage de la MWPCA. Dans notre cas, il n'a pas été nécessaire d'avoir une fenêtre contenant le processus dans sa globalité. Nous avons utilisé une fenêtre contenant le fonctionnement « de base » de la feuille observée au départ en absence du processus à mesurer. Cependant cela veut aussi dire que le nombre de temps considéré est beaucoup plus restreint dans notre analyse, et ne permet pas de tester une grande variabilité de taille de la fenêtre d'apprentissage comme cela est usuellement le cas dans un « batch process » plus classique. La taille de la fenêtre reste relativement petite et va donc définir le nombre de composantes de l'ACP. Pour la sénescence, nous nous sommes placés dans un cas de figure où seulement deux échantillons sont pris par jour et par feuille. Il devient alors impossible de tester des tailles de fenêtre trop petites. Cette limite empêche d'avoir une vision globale de la variabilité. Il est possible que les résultats soient différents si un plus grand nombre de jours avait permis de construire la fenêtre de l'ACP ou un plus grand nombre d'échantillons. Dans le cas de la septoriose sur les feuilles

de blé, le problème n'est pas le même car le nombre d'échantillons est beaucoup plus grand que dans le cas de la sénescence et ne limite pas le nombre de composantes.

La connaissance fine de notre processus est une différence importante entre nos données et celles du « batch process ». En effet, quand une MWPCA est construite en suivi des procédés, le processus regardé est généralement connu et maîtrisé, ce qui permet d'utiliser une connaissance experte pour fixer les alertes par exemple. Il s'agit le plus souvent de processus simple du type fabrication de médicament. Dans notre cas, nous avons utilisé des informations externes à nos données telles que la concentration en eau, en chlorophylle ou en azote pour pouvoir établir une comparaison entre le signal et les connaissances acquises sur le processus de sénescence par exemple. Cependant, ces concentrations ne reflètent pas le processus dans sa globalité mais sont simplement des indicateurs du déclenchement de certaines phases du processus. Il est donc important de garder cette information à l'esprit quand on analyse les résultats.

2. Quels points communs entre la sénescence et le suivi de la maladie dans notre analyse ?

Un point commun sur le plan biologique entre les deux processus étudiés a été la nécrose des tissus foliaires. Mais c'est un phénomène plus complexe dans le cas de la maladie car spatialement hétérogène. C'est un processus qui lieu en quelques jours dans le cas de la maladie (le changement visible a eu lieu en 48h) alors qu'il est plus long dans le cas de la sénescence.

Dans le cas de la sénescence, nous avons déjà des informations précises sur l'enchaînement de la temporalité des différents processus liés à la sénescence (baisse de la chlorophylle, azote, eau) ce qui permettait de comparer la MWPCA à des méthodes basées sur ces modèles existants, alors que pour la septoriose, il est difficile de décrire un enchaînement de processus de ce type même si justement des chutes en chlorophylle et en azote sont aussi attendus. Cependant, lors d'une infection la plante peut avoir un intérêt pour sa défense de réduire l'activité photosynthétique et la disponibilité des nutriments alors que l'agent pathogène tendra à inverser ce processus pour favoriser son développement. Cela rend la prédiction de l'enchaînement de ces processus beaucoup plus difficiles. D'autre part, dans nos analyses, nous mettons en évidence un intérêt complémentaire au suivi des anthocyanes qui n'est pas notablement documenté dans le cas d'une sénescence classique alors qu'il avait précédemment été mis en évidence pour la détection de la septoriose (Odilbekov et al., 2018).

Dans le cas de la sénescence, il est difficile d'obtenir des plantes témoins destinées à l'apprentissage et qui ne subiraient pas le processus étant donné que la sénescence a nécessairement lieu. La solution qui consisterait à utiliser des plantes de type « stay green », pour lesquelles la sénescence foliaire est fortement retardée, ne nous paraît pas une solution correcte dans la mesure où la réduction de la translocation des assimilats de la feuille vers les grains va affecter la composition biochimique des feuilles de ces plantes « stay green » et impacter en retour le signal spectral. Dès lors, il apparaissait nécessaire d'envisager un apprentissage à partir de collecte de données réalisée avant la mise en place

de la senescence. Au contraire, dans le cas de la réponse de la feuille à une inoculation de la septoriose, nous avons pu utiliser un lot de plantes en parallèle témoin non inoculé comme golden batch.

Il est étonnant dans les données de l'expérience « septoriose » que nous n'ayons pas pu mettre en évidence la senescence foliaire. Est-ce une question de plage de longueurs d'ondes ? La caméra hyperspectrale travaille avec une gamme de longueurs d'ondes plus restreinte que le spectromètre ASD (400-1000nm et 350-2500 nm respectivement). Est-ce une question d'échantillonnage lié au rang de la feuille considérée (feuille étendard dans un cas et 3^e ou 4^e feuille dans l'autre) qui fera que la dynamique de la senescence suivait des cinétiques différentes ? Ce dernier aspect n'est pas à écarter dans la mesure où les dynamiques temporelles de résorption d'azote suivent des courbes différentes selon les rangs foliaires ; en particulier, les points de rupture (correspondant aux T_0 et T_1 que nous avons évoqués dans le chapitre 2) sont beaucoup moins marqués pour les strates foliaires de début de cycle que pour la feuille drapeau (Roumet, com pers). Effectivement dans l'expérience « septoriose » il s'agissait de la senescence des premières feuilles de la plantule alors que dans l'expérience « senescence » le processus a été caractérisé sur des feuilles paniculaires après épiaison.

Quoiqu'il en soit, pour chacun des deux phénomènes biologiques, nous avons obtenu une modification spectrale en relation avec le phénomène étudié. Malheureusement, nous n'avons pas eu le temps de rechercher les longueurs d'ondes impliquées dans chacun d'entre eux. Ce point nous paraît essentiel pour préciser les limites de notre approche ; il s'agira notamment de savoir si, pour un phénomène donné, les propriétés spectrales de la feuille vont être liées à des différences de réflectance observables à certaines longueurs d'ondes et, si ce sont, ou pas les mêmes longueurs d'ondes qui sont impliquées dans la réponse foliaire dans les 2 processus. Si tel était le cas, cela permettrait d'identifier des combinaisons de longueurs d'ondes spécifiques à chacun d'entre eux et d'éviter les effets de confusion. Par ailleurs, la possible mise en évidence d'un nombre réduit de longueurs d'ondes impliquées dans ces phénomènes permettrait sur le plan matériel de dégrader notre capteur et d'envisager le développement de caméras multi spectrales moins coûteuses et beaucoup plus simples d'utilisation.

3. Analyses complémentaires et perspectives

Certaines données ont été acquises durant la campagne expérimentale présentée dans le chapitre 3 et n'ont pas été traitées dans le cadre de cette thèse. Les premières données non traitées sont les données issues de l'imageur hyperspectral SWIR (1000 – 2500 nm). Ces données sont similaires aux données VNIR mais dans une gamme de longueurs d'onde différente. Comparativement à la région du visible cette nouvelle gamme de longueurs d'ondes va offrir des nouvelles possibilités en matière d'absorption de la lumière et permettre soit de renforcer les interactions lumière liaisons chimiques déjà détectées dans la partie visible et donc de faciliter la détection des familles de molécules correspondantes, soit de travailler sur une gamme plus étendue de liaisons chimiques grâce à de nouveaux pics d'absorption. Cette région du proche infrarouge est également utilisée pour détecter des modifications structurales (Bertrand and Dufour, 2006). L'analyse de ces données permettrait de confirmer les résultats déjà

obtenus et d'explorer une nouvelle gamme de longueurs d'onde, ce qui pourrait apporter de nouvelles informations. En effet les interactions blé/septoriose provoque non seulement des modifications biochimiques mais également structuraux puisque la feuille va être détruite progressivement par le développement de l'agent pathogène. Ces données pourraient être travaillées soit de façon isolée soit après fusion avec les données issues de la caméra VIS. Les différences de résolution spatiale des deux caméras sont évidemment un point à considérer pour réaliser cette fusion. Des étapes préliminaires telles que du binning (addition de pixels adjacents pour obtenir des résolutions spatiales comparables) ou l'utilisation de modèles multiblocs seront à considérer pour réaliser cette étape de fusion.

Les deuxièmes données non traitées sont les données ARN. Les données ont été analysées dans le cadre du stage de master 2 de Flora Tavernier. Ainsi, elle a pu suivre en PCR quantitative quatre gènes de défense. L'expression de la β -1,3-glucanase, de la chitinase I, de la chitinase IV et de PR4 chez les EPO_067 inoculées est significativement plus élevée que chez les EPO_067 non-inoculées. Chez les plantes inoculées, l'expression des gènes de défense du génotype EPO_067 (celui présentant moins de pycnide) est globalement plus élevée que chez le génotype EPO_068. Bien qu'il s'agisse d'autres génotypes que ceux utilisés dans cette étude, il a été montré que l'expression de la β -1,3-glucanase est plus élevée chez les plantes résistantes que chez les plantes sensibles (Shetty et al., 2009). L'analyse de l'expression des gènes a été faite en prélevant les ARN présent dans un morceau de feuille d'environ 8 cm. Selon les prises d'images qui ont eu lieu au quotidien et notamment le jour des prélèvements, ces zones ne comportaient pas des symptômes de façon homogène. Il est donc possible que l'expression des gènes de défense ou bien de la β -tubuline de *Z. tritici* soit faible en raison de l'hétérogénéité des réponses de la plante sur toute la partie prélevée de la feuille. En effet, l'analyse d'expression de gène reflète l'expression dans toutes les cellules prélevées qu'elles soient infectées ou encore saines. Lorsqu'on observe les heatmap que nous avons obtenu il semble évident que les mesures d'ARN reflètent de fait une forte hétérogénéité cellulaire. De la même manière, le processus semble évolué rapidement entre 7 dpi et 14 dpi. Les prélèvements d'ARN à 10 dpi correspondent donc à une phase très plastique d'après les données hyperspectrales. Le suivi de cette hétérogénéité spectrale peut permettre de remettre en question les méthodes de prélèvements d'ARN et donc la caractérisation du suivi moléculaire de cette maladie. Nous n'avons pas encore été en mesure de coupler les analyses spectrales avec ces données d'expression. Dans le domaine de la spectroscopie, il est possible de construire des modèles à l'aide d'un assemblage de données d'origines différentes. Ces méthodes sont les méthodes multiblocs. Afin d'évaluer l'intérêt de ces données en lien avec les données hyperspectrales, il serait possible d'utiliser un de ces modèles multiblocs.

Un autre point qui mériterait d'être traité est la différence existante entre chaque individu après infection par la septoriose. En effet, chaque individu « Inoc » réagit différemment. Certaines trajectoires sont similaires mais on peut toujours noter des différences notamment dans la temporalité du phénomène observé mais également dans sa spatialisation (Annexe 5). Ces différences spectrales pourraient être liées à des différences d'expression des défenses, de développement du champignon que nous avons pu

observer. Explorer pourquoi ces trajectoires ne sont pas identiques serait un point intéressant et permettrait d'avoir une meilleure idée de la reproductibilité de l'expérience. Enfin, en approfondissant le traitement de ces données, il serait intéressant de savoir si les images hyperspectrales permettraient un dosage du champignon. En effet, il est parfois possible de suivre la présence du champignon en suivant les composants de sa paroi absent de la paroi végétale comme les stérols (Börjesson et al., 2007; Dowell et al., 1999; Femenias et al., 2021). Il serait donc intéressant de voir si un suivi du champignon in planta serait possible.

4. Est-il possible d'envisager une utilisation de cette méthode sur le terrain ?

Pour le futur, il est possible de penser à une application concrète de notre modèle. Telle que nous l'avons utilisée, la MWPCA appliquée à une feuille de blé permet d'avoir des alertes en temps réel, après choix de la taille de fenêtre. En effet, dès que celle-ci est fixée et que le premier espace multidimensionnel de référence est créé, il est possible, à partir de la date suivante, de faire la projection du premier T^2 . À partir de là, si la loi de distribution du T^2 est connue, il est alors possible d'avoir des résultats. Dans ce cas on peut imaginer un suivi quotidien des processus et un déclencheur d'alerte qui provoque des mesures complémentaires ciblés tel que des prélèvements d'ARN sur les bonnes feuilles au bon moment.

Cependant, pour une application concrète de ce modèle, il manque plusieurs éléments. Un premier point à développer est la réduction du modèle. Pour le moment, la MWPCA est construite sur toutes les longueurs d'onde disponibles. Cependant, comme montré à la fin du chapitre 3, à l'aide d'une analyse discriminante, il est possible de définir la séparation entre les classes qui nous intéressent sur la base d'un plus petit nombre de longueurs d'onde. L'inconvénient de cette application est qu'elle se limitera probablement à l'application d'un processus à la fois. Cette approche pourra cependant faciliter tout passage au champ. En effet, si l'on veut développer un capteur en champ nous donnant des informations en temps réel, basées sur la MWPCA, il faudra diminuer soit l'aspect spatial, soit l'aspect spectral. Dans le cas de l'aspect spatial, l'information semble être importante au vu des résultats de cette thèse. Diminuer la résolution spectrale paraîtrait être la meilleure approche.

5. Références

- Bertrand, D., Dufour, E., 2006. La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques. Lavoisier.
- Börjesson, T., Stenberg, B., Schnürer, J., 2007. Near-infrared spectroscopy for estimation of ergosterol content in barley: A comparison between reflectance and transmittance techniques. *Cereal chemistry* 84, 231–236.
- Dowell, F., Ram, M., Seitz, L., 1999. Predicting scab, vomitoxin, and ergosterol in single wheat kernels using near-infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry* 76, 573–576.
- Femenias, A., Gatus, F., Ramos, A.J., Sanchis, V., Marín, S., 2021. Near-infrared hyperspectral imaging for deoxynivalenol and ergosterol estimation in wheat samples. *Food Chemistry* 341, 128206.
- Odilbekov, F., Armoniené, R., Henriksson, T., Chawade, A., 2018. Proximal Phenotyping and Machine Learning Methods to Identify Septoria Tritici Blotch Disease Symptoms in Wheat. *Front. Plant Sci.* 9, 685. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00685>
- Shetty, N.P., Jensen, J.D., Knudsen, A., Finnie, C., Geshi, N., Blennow, A., Collinge, D.B., Jorgensen, H.J.L., 2009. Effects of -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat. *Journal of Experimental Botany* 60, 4287–4300. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp269>

Annexe 1

Unsupervised analysis of NIRS spectra to assess complex plant traits: leaf senescence as a use case

Héloïse Villesseche ⁽¹⁾, ***Martin Ecarnot*** ⁽¹⁾, ***Elsa Ballini*** ⁽²⁾, ***Ryad Bendoula*** ⁽³⁾, ***Nathalie Gorretta*** ⁽¹⁾, ***Pierre Roumet*** ⁽¹⁾

(1) AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

(2) PHIM, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, IRD, Institut Agro, Montpellier, France

(3) ITAP, Univ Montpellier, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

Corresponding author: Héloïse Villesseche (heloise.villesseche@inrae.fr)

Abstract

Keywords: NIR, leaf senescence, unsupervised model, wheat, temporal kinetic

Background

As a rapid and non-destructive method, Near Infrared Spectroscopy is classically proposed to assess plant traits in many scientific fields, to observe enlarged genotype panels and to document the temporal kinetic of some biological processes. Most often, supervised models are used. The signal is calibrated thanks to reference measurements, and dedicated models are generated to predict biological traits. An alternative unsupervised approach considers the whole spectra information in order to point out various matrix changes. Although more generic, and faster to implement, as it does not require a reference data set, this latter approach is rarely used to document biological processes, and does requires more information of the process.

Methods

In our work, an unsupervised model was used to document the flag leaf senescence of durum wheat (*Triticum turgidum durum*). Leaf spectra changes were observed using Moving Window Principal Component Analysis (MWPCA). The dates related to earlier and later spectra changes were compared to two key points on the senescence time course: senescence onset (T0) and the end of the leaf span (T1) derived from a supervised strategy.

Results

For almost all leaves and whatever the signal pre-treatments and window size considered, the MWPCA found significant spectral changes. The latter was highly correlated with T1 ($0.59 \leq r \leq 0.86$) whereas the correlations between the first significant spectrum changes and T0 were lower ($0.09 \leq r \leq 0.56$). These different relationships are discussed below since they define the potential as well as the limitations of MWPCA to model biological processes.

Conclusion

Overall, our study demonstrates that the information contained in the spectra can be used when applying an unsupervised method, here the MWPCA, to characterize a complex biological phenomenon such leaf senescence. It also means that using whole spectra may be relevant in agriculture and plant biology.

Background

The plant phenotype, i.e., the set of observable characteristics of an individual, reflects both the gene expression (genotype) and the amount of available resources (mineral nutrients, water, temperature, light) as well their interaction. Phenotypic measurements are essential to understand how organisms interact with their environments to identify, for example, the genetic determinism involved in local adaptation, or to achieve a more sustainable production in agronomy. Too often, measurements of most of these traits require destructive and time costly methods, limiting extended observations of numerous individuals and/or along temporal series. The development of methodologies to assess an enlarged list of these traits is of great interest for many fields of study: agronomy, ecology, genetics and phytopathology. For two decades, numerous applications based on non-invasive and non-destructive methodologies, such as imaging analysis or near infrared spectroscopy, have been developed to infer trait values [1, 2]. As most of them are complex traits resulting from numerous and successive processes as well as their interactions, two main complementary strategies have been proposed to phenotype these traits.

The first one leads to the dissection of these complex traits into elementary traits to facilitate the identification of underlying physiological pathways or genetic determinism. This strategy is commonly used in scientific communities such as physiologists or geneticists for whom a better understanding of the building of complex traits is essential. As most often the elementary traits are not easily visually observable, extensive works related to the use of some non-destructive and non-invasive methods, largely based on the use of visible and near infrared (VIS-NIR) imaging and spectroscopy, have been undertaken [3]. Thanks to supervised models based on linear or nonlinear signal treatment methods, the calibrations provided relevant predictions with documented accurateness and robustness which can be used as proxies of the key traits targeted [4, 5]. The second strategy directly targets the complex trait to document some changes, or to detect some possible discrepancies along its time course; this global approach is frequently used in a wide range of disciplines such as transformation process monitoring, agronomy and phytopathology [6]. Both strategies are largely supported by the development of high throughput phenotyping platforms.

Overall, if rapid and non-destructive phenotyping methods such as VIS-NIR spectroscopy are highly desirable to document some changes in traits during their time course, both supervised and unsupervised methods - which do not require any signal calibration- can be used. Indeed, according to the hypothesis that a VIS-NIR spectra signal is related to the global status of the

biological matrix at a given time, non-supervised models based on raw spectra information gathered along the process are pertinent when documenting some matrix changes during its time course, providing some alerts [7]. Different unsupervised methods have been proposed to document matrix changes but all follow the same principle: no calibration is made on the data set. The idea is to find common characteristics between spectra and to find hidden patterns indicating the presence or absence of change in the matrix. Most of the unsupervised strategies are based on the Principal Component Analysis (PCA). Among them, Moving Window Principal Components Analysis (MWPCA) has been developed to accurately pinpoint small changes in process monitoring [8].

Leaf senescence, which is the final stage of leaf development, is one example of these complex biological processes. Besides chlorophyll degradation which is well known, numerous additional molecular and biochemical processes contribute to the senescence syndrome [9, 10]. When a leaf switches its developmental program from maturation to senescence, many leaf mobile nutrients involved in different pathways, such as carbon acquisition, are degraded and recycled for re-use in upper and still growing parts of the plant, e.g. younger leaves or in the forming reproductive organs. As the content of many biochemical components drop significantly during senescence [11], this process can be documented through many traits: leaf green area losses, leaf water content, decline of photosynthetic capacities [12] or a decrease of leaf biochemical content such as chlorophyll, nitrogen or water [13]. Whatever the trait considered, the senescence process follows a similar temporal pattern: after a lag phase during which the leaf maintains its physiological activity at a constant level, the content of biochemical components or enzymatic activity drops dramatically to reach a second plateau with minimal values. On cereals and particularly on wheat the timing of the onset and the end of senescence are considered as key points when comparing genotype senescence properties [14-16], as well as targeted physiological traits to predict grain yield since positive correlations have been reported between delayed senescence and grain yield both under limiting and non-limiting conditions [17,18].

Based on spectra reflectance, numerous supervised models have been extensively used to generate some proxies of these traits to facilitate the collection of phenotype data sets. However these components have different time courses and they interact with the amount of resources available (nutrients and water in particular), demonstrating different senescence dynamics and an environmental dependent response [5]. These studies have shown that there is an intra specific variability in the onset and rate of senescence (for example see [16, 19–20]). The onset of senescence is a complex trait that illustrates the transition of the leaf when grain N demand

exceeds soil N uptake, generating translocation of N from stems and leaves and affecting carbon assimilation [21]. A delay in this onset or a lower rate of senescence will have a direct impact on wheat yield [5,22–24].

The idea that the spectral signature could be used directly to characterize the presence and the state of vegetation was proposed following the development of the early sensors which had low spectral resolution [18, 25]. The first use of a spectral index, the normalized difference vegetation index (NDVI) was described by Rouse et al. [11] to document vegetation in the central region of the United States. Nevertheless, important limitations were reported for the use of NDVI to document the leaf senescence process. Only two wavelengths have been used to compute the index, NDVI is focused on chlorophyll content, which turned out to be non-relevant to physiological changes occurring during senescence onset [26]. To avoid some confounding effects and to properly assess leaf senescence, the use of a higher number of bands made possible by a better spectral resolution device coupled with a supervised model was proposed [4]: visual senescence scoring was used as reference measurements and calibration of spectra data was performed to fit the senescence dynamics during the grain filling period. Here, the use of the supervised approach can be debated. Firstly, the reference analysis was based on visual information; as this measurement was neither objective nor precise, the generated background noise affected the accuracy of the model; secondly, the validity domain of this calibration is uncertain, thus limiting its use to new data sets. Thus, regarding the complexity of the senescence process and the limits of supervised models, an alternative approach based on an unsupervised model such as MWPCA where it is postulated that some changes occurring over time in a spectral data set are a signature of the senescence process seems promising.

In order to establish the limits of the unsupervised approach, we have compared the time course of flag wheat leaf senescence using both supervised and unsupervised models based on spectral reflectance. Large range of senescence time courses was generated thanks to the genotype sampling and mineral nutrition availability.

Materials and Methods

Plant material

A total of 113 F₈ Recombinant Inbred Lines (RILs) from six crosses involving four durum wheat cultivars (Néodur, Primadur, Lloyd and Ixos) were used in the present study since they represented a high variability for senescence time course parameters.

Experimental Conditions

The trial has been conducted on durum wheat (*Triticum turgidum durum*) in greenhouse at the DiasCope experimental unit from Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAe, Mauguio, France, 43°37' N, 4° E) in 2011. Plants were sown on 5 Jan. 2011 in Jiffy peat pellets. After vernalization in a controlled chamber (4°C for 5 weeks) they were transferred to a greenhouse (15 Feb. 2011) and grown in vermiculite in 1.2 L pots (one plant per pot). To maximize the variability range of flag leaf senescence, plants have been cultivated under two types of nitrogen fertilization conditions and observed daily from flowering to maturity. In the first nitrogen treatment, 104 plants (one plant/RILs), were irrigated once daily with 5 mM KNO₃ until anthesis and with 1 mM KNO₃ from anthesis to grain maturity; in the second one, 35 plants (representing 35 different RILs) were irrigated once daily with 1 mM KNO₃ until anthesis and then with 5 mM KNO₃ for 550 Growing Degree-Day -GDD- after heading. Potassium concentrations were adjusted for treatments with 1 mM KNO₃ by adding 4 mM KCl to the nutrient solution. Irrigation was stopped when the grain reached physiological maturity. Greenhouse temperature was regulated by a cooling system and the opening and closing of greenhouse vents and was measured with independent sensors. The walls of the greenhouse were whitewashed to standardize the amount of light received by each plant. Further information about the settings of the experiment are described in Vilmus et al. [27].

Spectra acquisitions

For each plant, all observations were made daily on the last leaf (flag leaf) from flowering to physiological maturity (stages Z65 and Z85 from Zadoks scale); they were numbered from one (for the first at flowering) to n (the last at physiological maturity). Observations were made in a non-destructive manner with a LabSpec 2500 portable Vis/Nir spectrometer, which has a spectral range between 350 and 2500 nm with a spectral resolution of 3 nm between 350 and 1000 nm to 10 nm between 1000 and 2500 nm (Analytical Spectral Devices, Inc., Boulder, CO, USA) using the LeafClip and a white background panel, allowing us to obtain transmittance spectra [28]. Each day, two measurements were performed by dividing the flag leaf into three equal parts along its length, with the first measurement made on the proximal third and the second on the distal third.

Based on these spectra data two different analysis were performed; firstly, a classical supervised strategy was used: calibrations were made to document the biochemical properties of the flag leaf during senescence process; secondly, whole spectra information (raw or pre-

processed spectra data) were used in an unsupervised strategy to document the evolution of the leaf main features.

Supervised strategy: NIR calibration development and temporal kinetic modeling

In a first step, quantitative calibrations from whole spectra were made to assess three biochemical leaf parameters involved in leaf senescence from data spectra, namely nitrogen, chlorophyll and water content. To carry out these calibrations, a small but representative group of samples were selected to build the models, and these calibrations were applied on all other measured spectra. A common protocol was applied for the three calibrations. First, spectra were taken, as described above, on leaves that were analyzed with a specific reference method for each parameter. Then calibrations were performed with Partial Least Square regression [29], using random repeated k-fold cross-validation to optimize the number of latent variables of the model, and to compute model-fitting statistics (standard error of cross validation, coefficient of determination). For more details, please refer to the supplementary material (Table S1).

In a second step, logistic regression was used to fit the temporal evolution of these components from flowering to the physiological maturity where time was expressed in cumulative GDD based on average daily temperature. For each leaf, the model is estimated as in equation (1):

$$f(x) = d + \frac{a}{1+b*e^{c*x}} \quad \text{Equation 1}$$

where a, b, c and d are parameters allowing the adjustment of the sigmoid curve for each individual and x being the date given in GDD. The results extracted from the model are the T0 and T1, corresponding respectively to the end of the first plateau and the end of the drop of the sigmoid curve. Here, these two key points have been considered as the onset and the end of the senescence. For each flag leaf, T0 and T1 have been computed for each of the three types of biochemical components according to the following formulae:

$$T_0 = d + \frac{a(1-\gamma)}{1+e^b} \quad \text{and} \quad T_1 = d + \frac{a\gamma}{1+e^b} \quad \text{Equation 2}$$

where a, b and d are three parameters of the sigmoid curve (equation 1) and $\gamma = 0.01$.

Model evaluation was made using the efficiency calculated as in equation 3:

$$Efficiency = 1 - \frac{\sum_1^i(y) \quad |i - f(x_i)|^2}{\sum_1^i(y) \quad |i - mean(y)|^2} \quad \text{Equation 3}$$

where i is varying from 1 to the number of dates taken in the time-series for each individual and y is the result of f(x). This model is described in detail in Vilmus et al. [27].

Unsupervised strategy: Moving Window Principal Component Analysis (MWPCA)

A MWPCA [8] based approach was proposed here to detect changes that could lead the process to dysfunction, and then give an early alarm. Spectra collected at the successive dates from flowering to physiological maturity represented data variation. An abnormal deviation of spectra from those collected before could be considered as a major change in leaf features. To begin, Principal Component Analysis (PCA) was calibrated on training data representing the initial leaf state. From this model, the covariance and loading matrix P were computed. Secondly, new observations were projected onto the reference PCA model; a T² metric was used to quantify spectra changes at t+1. The new observation xi is centered, using the parameters of the training data.

The initial PCA model was calibrated for each leaf, considering a spectra data matrix X (n×p) with n the number of observations and p the number of spectral variables (equation 4):

$$X_{(n \times p)} = T_{(n \times a)} \cdot P_{(a \times p)}^T + E_{(n \times p)} \quad \text{Equation 4}$$

T is the score's matrix with a (a = 1, 2 ...) the number of retained Principal Components (PCs), P^T is the transpose of loadings matrix which explains the relationship between spectral variables and PCs and E is the residual matrix. Before implementing PCA, variables are centered. PCA control charts are based on the Hotelling's T² statistics, being the squared Mahalanobis distance of the spectra x in the PCA model subspace [8] and calculated according to equation 5:

$$T^2 = x_i P \Lambda_a^{-1} P^T x_i^T \quad \text{Equation 5}$$

where Λ is the covariance matrix of the a scores column and xi is the i-th observation predicted through the PCA model. To define the change in the time-series, the hypothesis is made that the Hotelling's T² is following a normal law. Based on this hypothesis, a significant change is supposed to be a T² out of the normal distribution, modeled by the normal law. Significant changes will not be excluded from the next window, because this "new state" of the process will affect the next observations and could even result in a new normal steady state.

The adopted algorithm of the MWPCA is shown in detail in figure 1.

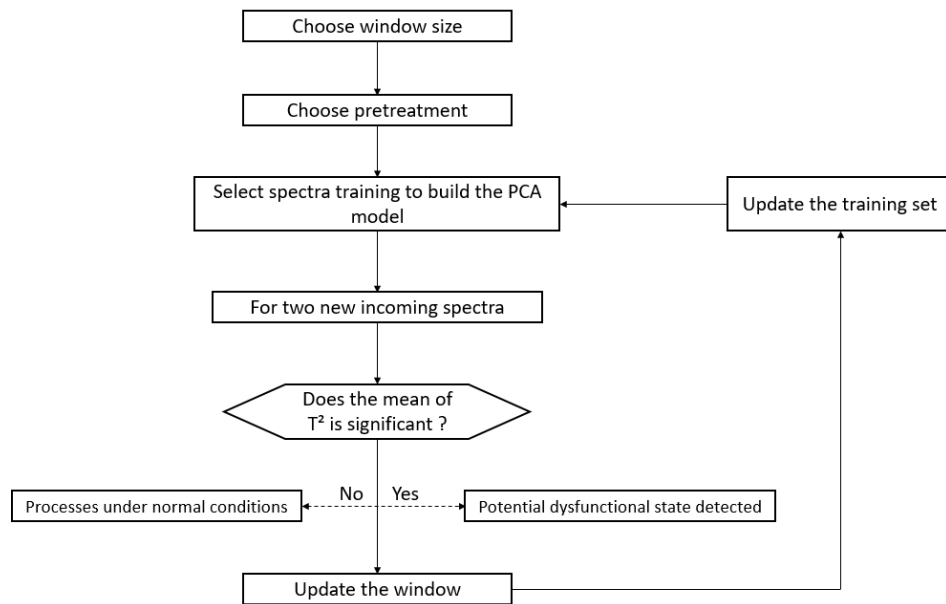


Figure 1: Moving window PCA algorithm (adapted from by Awchangbo et al. [7])

In MWPCA, the basic algorithm stipulates that a data window of fixed length be moved in real time to update the PCA model once a new sample is available. With each new observation, this window excludes the oldest observation and includes the newest one. One challenge in implementing MWPCA is to select the window length (also called window size). Due to the number of our dataset observations (~30 dates), we decided to test the influence of the window size on our dataset. During the analysis, windows sized between 3 and 15 were tested. The number of components was also updated to correspond to the maximum number of components possible according to the window size. Knowing that two spectra of each plant were taken every day, the maximum number of components corresponds to twice the window size minus one.

Based on the preprocessing, three non-supervised analyses were carried out. The first was based on raw spectra data and called ‘no pretreatment’ while the two others used the two most common preprocessing: Standard Normal Variate (SNV, [30]) method and a combination of SNV and the Savitzky-Golay filter (SAVGOL, [31]) which can also be found in the construction of the calibration model made by Ecartot et al. [28]. The SAVGOL filter was used with a window of 15 and a first-degree derivative with a polynomial of the second degree. In total three parameters have varied during the analysis: the window size, the number of components and spectra preprocessing.

In this work, spectra collected at the successive dates from flowering to physiological maturity represented the varying data. MWPCA based approach was proposed here to detect changes

that could lead the process to dysfunction and then give an early warning. An abnormal deviation of spectra from those collected before could be considered as an out-of-control state. To define the change in the time-series, we made the hypothesis that Hotelling's T^2 followed a normal law. The 2.5% higher T^2 values were considered out of the normal distribution, and representative of a new steady state in the leaf senescence process. Significant changes will not be excluded from the next window contrary to the usual algorithm, because this “new state” of the process will affect the next observations and could even result in a new normal steady state. To compare the results from MWPCA to those from the targeted strategy, the day numbers for which spectra generated significant values of T^2 , named T^2 peak, were converted into cumulative GDD. All the analyses were performed with R software [32].

Results

Spectra data and leaf senescence process

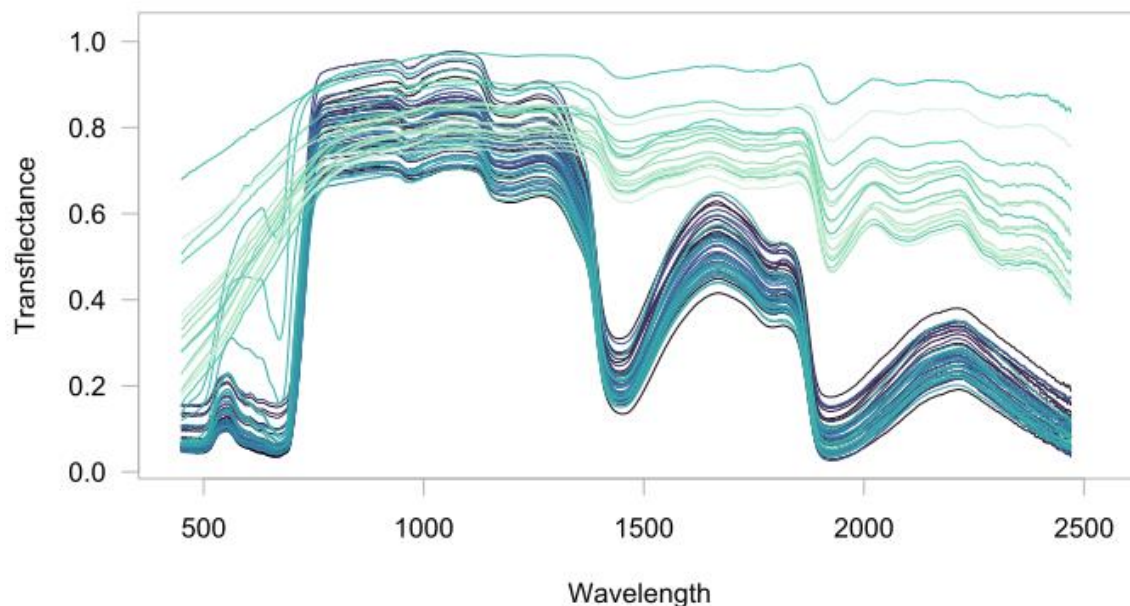


Figure 2: Raw spectra (from 400 to 2500 nm) of one individual leaf during senescence time course; the darkest blue curves correspond to the first date (flowering) in the experiment while the lightest blue curves indicates the last day of the experiment (end of leaf senescence).

Typical transflectance spectra of fresh leaves during post the flowering period have been plotted in Figure 2. The effect of senescence is mainly perceptible in the visible region (around

690 nm), where the continuous degradation of chlorophyll generates a filling of the absorption trough, until it disappears for senescent leaves. The process is also acting in the short wave infrared (SWIR) region (1000-2500 nm) principally shaped by -OH bonds absorption, and mostly water. Indeed, the two most intense water absorption bands are located at 1450 and 1950 nm, and generate troughs in the transreflectance spectra, especially for fresh leaves, which then get weaker for senescent leaves. Conversely, the 750-1000 nm spectra region, in which almost no absorption occurs, maintains the same average values all along leaf senescence. Along with the influence of biochemical compounds [33], the physical structure of the leaf determines the average value of the spectra. Leaves with high density have compact mesophylls leading to low scattering, and thus lower average transreflectance, which explains the high variance in spectra averages of our data set.

Supervised models of Nitrogen, Chlorophyll and Water leaf-content prediction

The same pattern, a plateau/drop/plateau sequence, was observed (Figure 3) for the temporal kinetics of the three leaf biochemical components targeted. Logistic adjustments were highly relevant to report these temporal sequences since the efficiency parameters were close to 1 (> 0.95). Based on these curves, two key points, T0 and T1 have been computed for leaf nitrogen, chlorophyll and water content (see Equation 2). Their average values, as well as their variability for the 139 flag leaves, are reported in table 1.

Table 1: Means and standard deviations (n=139) of T0 and T1 derived from modelling of nitrogen, water and chlorophyll leaf content during the senescence process (accumulated growing GDD post anthesis).

Water content T ₀	Nitrogen content T ₀	Chlorophyll content T ₀	Water content T ₁	Nitrogen content T ₁	Chlorophyll content T ₁
659 ± 100	530 ± 118	505 ± 124	907 ± 129	916 ± 151	872 ± 134

Overall, the results show that chlorophyll content was the first to decrease, followed by nitrogen and water contents. The pattern changes for point T1: here the chlorophyll content also ends its variation first, which is followed by water then nitrogen. The standard deviation shows that all the distributions overlap each other, hence the need to treat each individual separately (Figure 3).

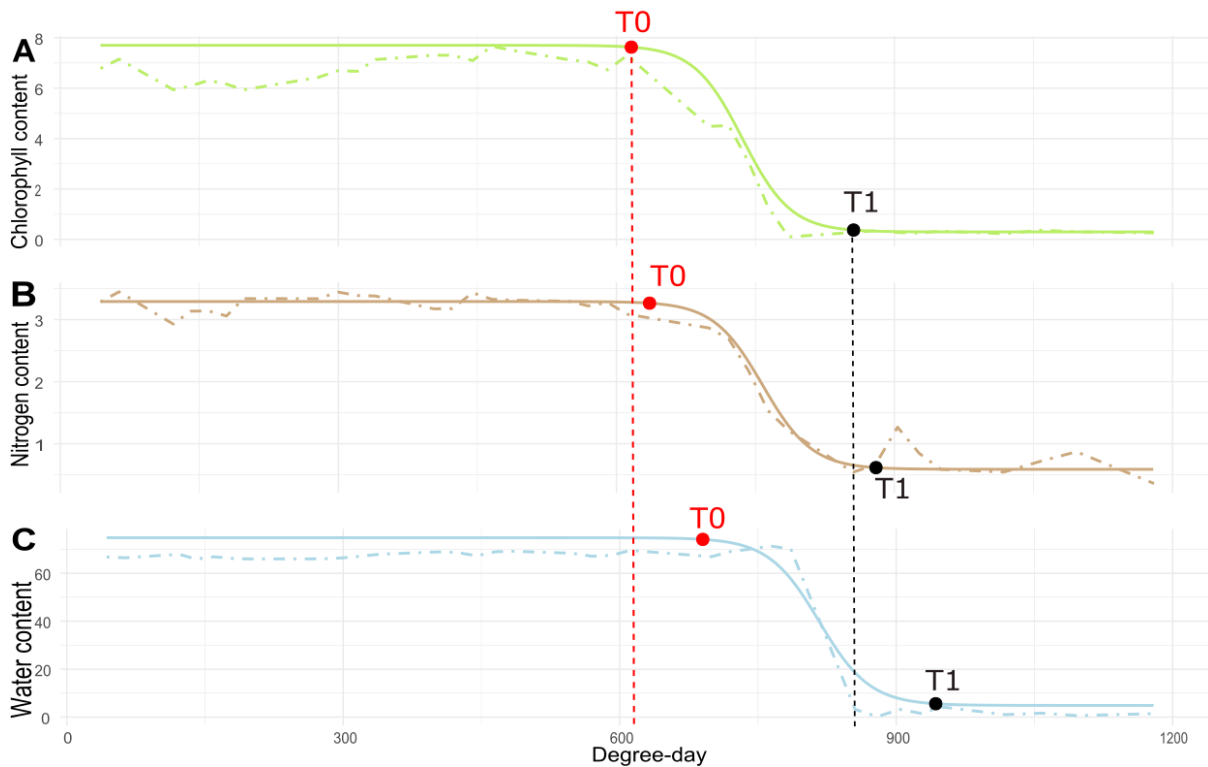


Figure 3: Time course of chlorophyll content (A) nitrogen content (B) and water content (C) of an individual flag leaf from flowering to maturity. The dash-dot lines represent the experimental data issued from NIRS calibration while the full lines result from the logistic curve modelled for each leaf trait. The red and black dots correspond to the T0 and T1 of each kinetic.

Unsupervised approach (MWPCA): spectra changes during the senescence process

Based on significant spectra information changes, peak of T^2 values had been detected for most of the individuals (>89 %). The lowest values were obtained from coupling raw spectra data with a small learning window size (< 5 days) whereas the other combinations provided higher and similar proportions (from 94 to 99 %, Table 2).

Table 2: Percentage of individuals with at least one significant T^2 value over the 139 individuals

Spectra pre-treatment	Learning window size (number of daily spectra acquisitions)					
	3	4	5	6	7	8
SNV+Savgol	97,12	96,40	97,12	97,84	96,40	94,96
SNV	97,84	97,12	99,28	97,84	99,28	98,56
Raw spectra	89,93	89,93	97,84	93,53	97,12	97,84

In addition, on average the number of significant T^2 values (T^2 peaks) detected per individual varied from 3 to 4 according to the learning window size and spectra treatment (Figure 4). This T^2 peak number was lowest with the raw spectra (about 3.22) and increased according to the pre-treatment process (3.57 and 3.71 for SNV and SNV + Savgol preprocessing respectively). Moreover, if the number of T^2 peaks observed remained constant whatever the window size with raw spectra information, it decreased as the window size increased for the 2 others spectra preprocessing categories ($3.36 < T^2 < 3.71$ and $3.30 < T^2 < 4.00$ for SNV and SNV+Savgol preprocessing respectively).

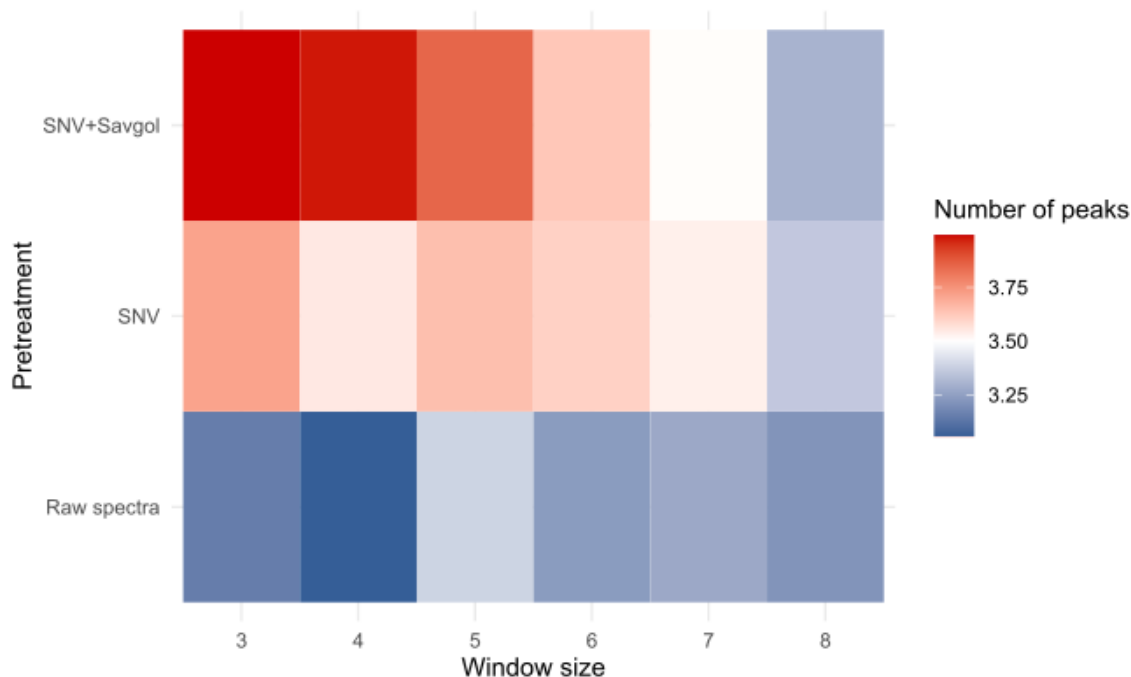


Figure 4: Number of T^2 peaks found in the MWPCA according to the window size expressed in the number of daily spectra included in the reference spectra data set, and the spectra pretreatment.

The information extracted from the MWPCA was condensed in the time interval between onset and end of senescence. To have a better understanding of the information resulting from the two strategies (supervised and unsupervised), we compared the timing given by the T^2 peaks from MWPCA with T_0 and T_1 values from supervised modeling which are the signatures of the onset and the end of the leaf senescence process.

Firstly, we linked the earliest peak provided by MWPCA ($T_0, MWPCA$) with the earliest T_0 value observed among the three T_0 values available (water, chlorophyll or nitrogen) ($T_0, superv$) (Figure 5). The difference and the correlation between these 2 variables $T_0, superv$ and $T_0, MWPCA$ were both considered.

Whatever the spectra preprocessing and window size considered, the first peak provided by MWPCA is later than $T_0, superv$, which means that the MWPCA signaled a change in the system after the onset of the senescence (Figure 5). The range of the differences depended on both pre-treatment and window size: minimum values were obtained with raw spectra and the lowest size window (between -47 and 85 GDD for a window size between 3 and 5). Whatever the spectra pre-treatment, increasing the learning window size amplified these differences (up to 171 GDD).

Furthermore the correlations between $T0_{MWPCA}$ and $T0_{superv}$ were lowest when the differences between the 2 indicators were minimum (raw or SNV spectra coupled with a small learning window size, Figure 6, $r=0.09$). For these two spectra pre-treatments, the correlation values increased according to the size of the window to reach similar values, whereas for the SNV-Savgol pre-treatment, the correlation remained stable whatever the window size considered. Thus, if similar correlations were obtained in the three pre-treatment with a large window size, it is noticeable that a more significant spectra pre-treatment provided correlations between $T0_{MWPCA}$ and $T0_{superv}$ that were less related to the size of the window.

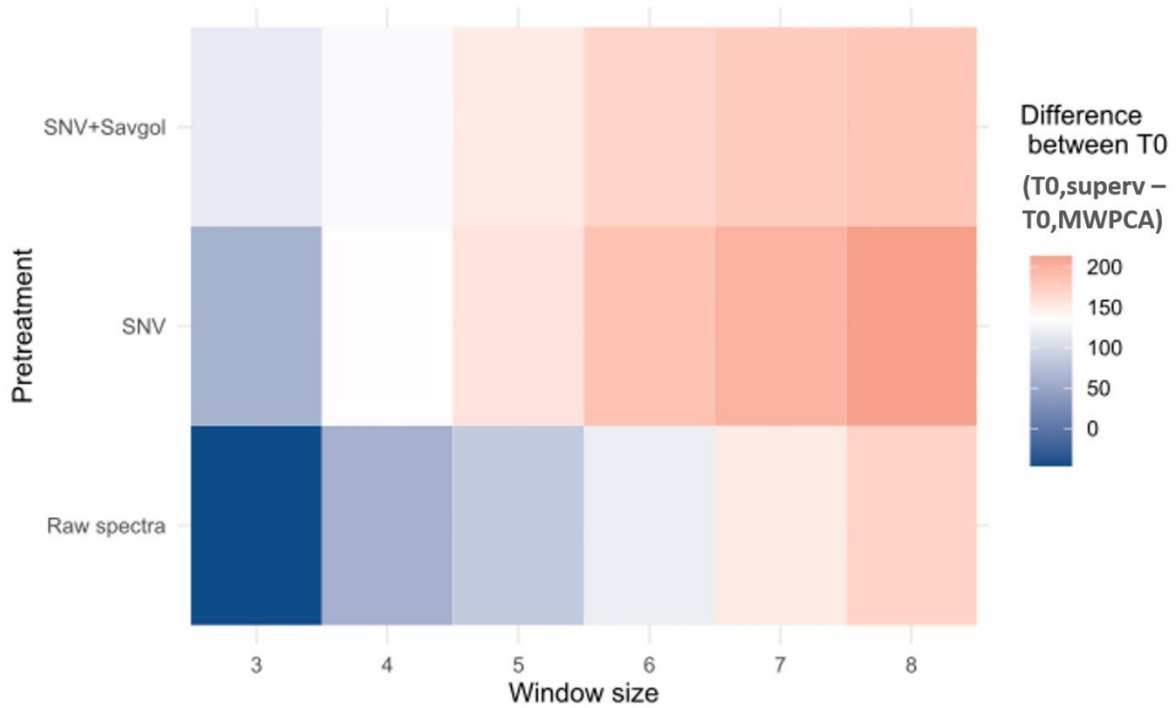


Figure 5: Difference expressed in GDD between the $T0_{superv}$ and the $T0_{MWPCA}$ according to the window size and the pretreatment.

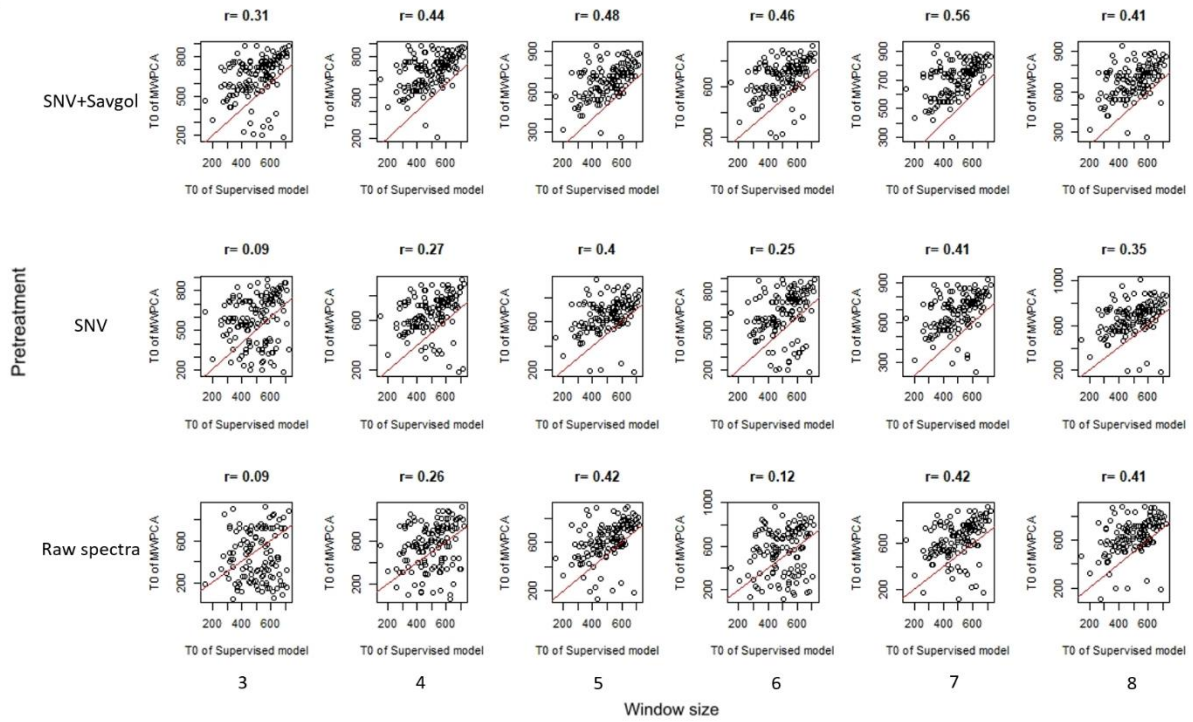


Figure 6: Relationship between $T0_{superv}$ and $T0_{MWPCA}$. The red line corresponds to the 1:1 regression line and the number above each distribution to the correlation between the $T0_{superv}$ and the $T0_{MWPCA}$.

Secondly, comparisons between $T1_{MWPCA}$ and $T1_{superv}$ led to slightly different observations (Figure 7 and 8). Unlike with $T0$, $MWPCA$ provided earlier values for $T1$ compared to the supervised model (from 110 to 50 GDD). The spectra pre-treatment affected the range of these differences: it was maximal with raw spectra (~114 GDD) and minimal with the SNV spectra (~50 GDD). Regardless of the pre-treatment, increasing the window size decreased the difference between the two indicators $T1_{MWPCA}$ and $T1_{superv}$.

As for $T0$ parameters, the use of raw spectra requires higher window size to generate correlation values similar to SNV or SNV-Savgol spectra. When looking at the distribution (Figure 8), the point clouds show that the $T1$ from the $MWPCA$ align themselves with the $T1$ from the supervised model, albeit slightly earlier. Unlike for $T0$, the point clouds are more constant in their form for all pretreatments and all numbers of components.

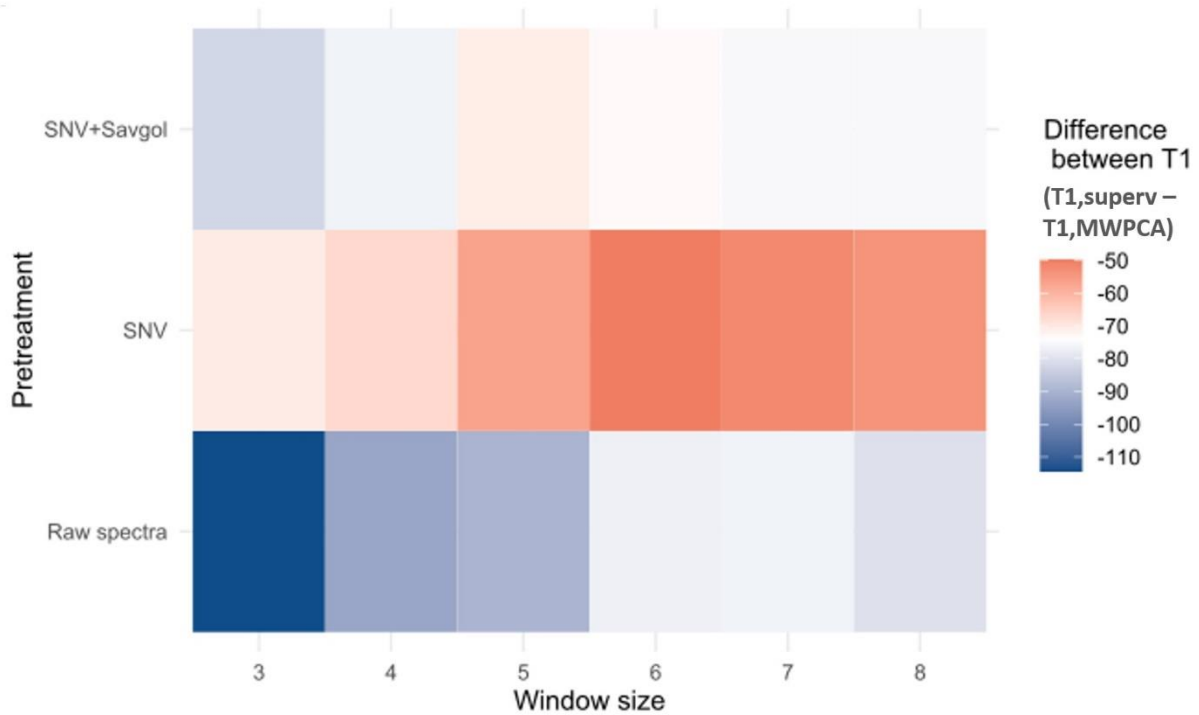


Figure 7: Differences expressed in GDD between the T1,superv and the T1,MWPCA according to the window size and the pretreatment.

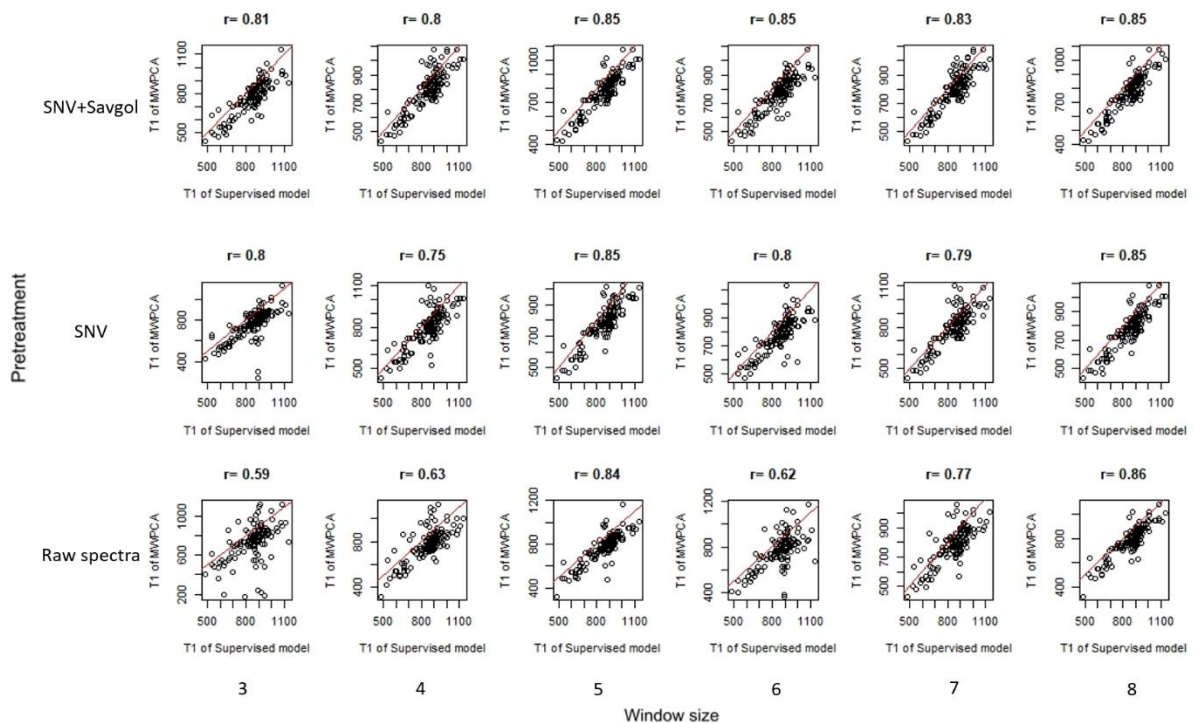


Figure 8: Relationship between T1,superv and T1,MWPCA. The red line corresponds to the 1:1 regression line and the number above each distribution to the correlation between the T1,superv and the T1,MWPCA.

Discussion

Based on fresh leaves, the calibrations obtained using spectral data sets to assess water, nitrogen or chlorophyll content are supported by existing literature [27-29 ,34] and provide accurate predictions for the three leaf biochemical variables. Daily measurements on the same flag leaf were used to model the temporal kinetics of the three traits during the senescence process. The shape of the curves was similar for each parameter, and could be described by a sigmoid curve following a pattern 'plateau/drop/plateau' with four parameters. The pattern of these temporal dynamics is consistent with that observed for leaf senescence [4,15].

Based on these curves, two key dates, named T0 and T1 respectively, which are related to the beginning and end of the resorption or desiccation processes, were targeted. Nitrogen fertilization coupled with genetic diversity provided a large variability range for these 2 key points ($SD \geq \pm 100$ °C) whatever the biochemical component similar to results previously reported [35]. On average, T0 mean values of the three-biochemical components varied significantly (mean difference = 154 GDD) whereas T1 values were quite similar (mean difference = 44 GDD).

According to the spectra pre-treatment used, from three to four T² peaks characterizing some leaf spectra changes were detected by the MWPCA. Most of these changes occurred in a time course within the earliest T0, superv (most often related to chlorophyll content) and during the late T1, superv. Window size can sometimes influence the shape of the distribution (Figure 5B and 6B). The higher number of peaks found by the MWPCA, provides more information, but this information is not always relevant. The choice of the best pretreatment method or window size cannot be based on this parameter alone.

The ability of MWPCA to detect spectra changes according to T0 or T1 computed in the supervised model was uneven. The first peak of the MWPCA was later than the earliest T0 from the supervised strategy (~100 GDD). Moreover, the correlation between the two data sets remained weak ($r < 0.6$) indicating that in our study MWPCA based on a global spectra approach is not relevant to signal senescence onset.

MWPCA performed well when used to detect the end of the senescence: the later T² peak was highly correlated with the earlier T1 value obtained using a supervised strategy (up to $r = 0.86$) and the timing of these two key points are similar (~50 GDD). The last peak of the MWPCA seems to correspond to the end of the process, represented by T1.

Senescence duration, i.e. the time between T0 and T1, explains largely variances in the ability of MWPCA to predict T0 and T1. A shorter duration, i.e. a higher senescence rate, induced rapid changes in the biochemical components of leaves, which significantly modified the

spectra signature. These bigger changes are better observed by the MWPCA [36] as shown by the strong correlation (up to $r = 0.80$, Figure 9) between the senescence duration and the discrepancies between the $T0, MWPCA$ and the $T0, superv.$ These data suggest that a non-supervised strategy based on MWPCA as used here will be unable to identify some changes in spectra data if the properties of the matrix evolve too slowly. This observation is coherent with other studies conducted on others processes [37, 38].

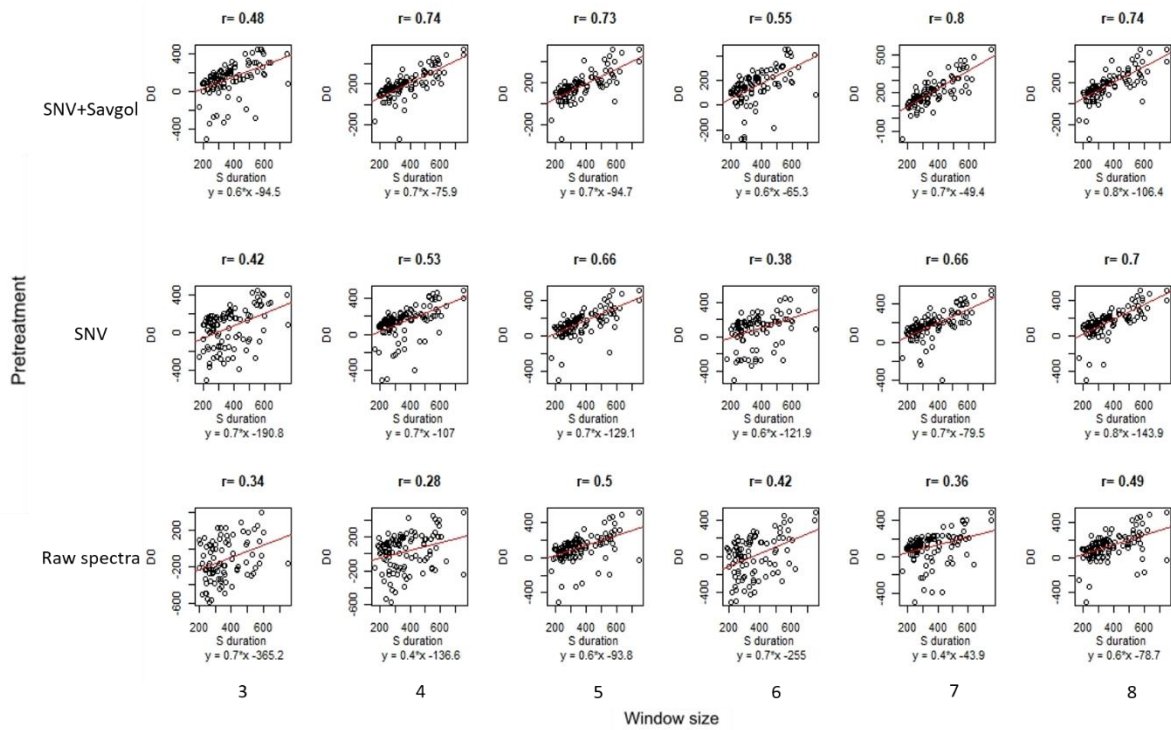


Figure 9: Correlation of the difference between the $T0, MWPCA$ timing and the $T0, superv$ timing expressed (D0) and the duration of the senescence (Sduration) in GDD according to the window size and the pretreatment. The red line corresponds to the regression line between the two parameters. The number above each distribution corresponds to the correlation between D0 and Sduration.

The coupling of no spectra pre-treatment and a small learning window size downgraded the previous results. With these raw spectra data sets, a minimum of a 5-day window size was required to obtain good quality results. We assumed that it could be related to the importance of the variability of overall reflectance amplitude and base line[38]. It has been reported that SNV pretreatment reduces the variability of a spectra data set generated by physical composition heterogeneity of the samples resulting in multiplicative and additive effects [39, 40]. Indeed, differences of micro-environmental conditions from one day to the other could have lead to heterogeneity in the physical composition of the leaves [41]. Moreover, the

position of the leaf in the LeafClip could have been shifted when acquiring the spectrum, so that additive and multiplicative effect could appear. Since the senescence process is more related to biochemical than physical composition, SNV pre-treatment is an appropriate correction to use MWPCA. Reducing the spectral daily unwanted heterogeneity makes it possible to get some results that were less dependent on the window size. The minimal window size was reduced to three days instead of five previously and Savgol pre-treatment allowed us to obtain similar results whichever the window size.

Looking at the average distance between key points (T0, T1) computed from supervised and MWPCA methods, the best pretreatment is SNV, with a window size from 6 to 8. If the criterion is the correlation coefficient, the pretreatment and the size of the windows should be changed according to T0 or T1. SNV pretreatment with a minimum 5-day window size seems to be the best compromise.

Prior knowledge of the biological process involved in senescence is important when choosing some MWPCA parameters and interpreting results. For example, one important piece of information to be aware of is that all the individuals have a plateau (for the first part of their sigmoidal curve) related to at least eight measurements. This information can be used to define a priori a range of window sizes for learning. This was possible because we had previous knowledge thanks to the supervised model. This information was important for the MWPCA because it meant that the learning of the MWPCA could not be conducted inside the process that was studied. This knowledge is something that is usually known when working with the MWPCA.

Conclusions Perspectives

Our objective was to manage a complex phenotype thanks to a non-supervised model applied to whole spectra. Here leaf senescence was considered here as a use case.

Overall, our study demonstrates that the information contained in the spectra can be used when applying an unsupervised method, in this case the MWPCA, to characterize a complex biological phenomenon such as leaf span. Of course, further work is needed firstly to clarify whether the difficulties in predicting some key points of senescence such as T0 are due to the method used (i.e. MWPCA) or intrinsic to the unsupervised strategy and, secondly, to validate this method as a screening method under field or controlled environments. For this later point, reducing spectra complexity has to be considered; in relation to light absorbance in visible (pigments), NIR and SWIR regions (water, Nitrogen) we observed that reducing the spectra to the visible or to the SWIR regions (400-1000 nm and 1000-2500nm, respectively) did not

change the results obtained with the full spectral range (data not shown). These results suggest that it is possible to downgrade the device while limiting the risk to document senescence process just on a leaf colour changes

To conclude, our work suggests that considering the whole spectra, such as that of a phenotypic trait, based on a holistic approach, to document complex biological process may be relevant for tackling both applied issues in the agricultural context, and forefront research questions in plant biology.

References

1. Furbank RT, Tester M. Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science*. 2011;16:635–44.
2. Cobb JN, DeClerck G, Greenberg A, Clark R, McCouch S. Next-generation phenotyping: requirements and strategies for enhancing our understanding of genotype–phenotype relationships and its relevance to crop improvement. *Theor Appl Genet*. 2013;126:867–87.
3. Watt M, Fiorani F, Usadel B, Rascher U, Muller O, Schurr U. Phenotyping: New Windows into the Plant for Breeders. *Annu Rev Plant Biol*. 2020;71:689–712.
4. Anderegg J, Yu K, Aasen H, Walter A, Liebisch F, Hund A. Spectral Vegetation Indices to Track Senescence Dynamics in Diverse Wheat Germplasm. *Front Plant Sci*. 2020;10:1749.
5. Chapman EA, Orford S, Lage J, Griffiths S. Capturing and Selecting Senescence Variation in Wheat. *Front Plant Sci*. 2021;12:638738.
6. Kim J, Woo HR, Nam HG. Toward Systems Understanding of Leaf Senescence: An Integrated Multi-Omics Perspective on Leaf Senescence Research. *Molecular Plant*. 2016;9:813–25.
7. Awhangbo L, Bendoula R, Roger JM, Béline F. Fault detection with moving window PCA using NIRS spectra for monitoring the anaerobic digestion process. *Water Science and Technology*. 2020;81:367–82.
8. Schmitt E, Rato T, De Ketelaere B, Reis M, Hubert M. Parameter selection guidelines for adaptive PCA-based control charts: Parameter selection guidelines for adaptive PCA-based control charts. *J Chemometrics*. 2016;30:163–76.
9. Distelfeld A, Avni R, Fischer AM. Senescence, nutrient remobilization, and yield in wheat and barley. *Journal of Experimental Botany*. 2014;65:3783–98.
10. Camargo Rodriguez AV. Integrative Modelling of Gene Expression and Digital Phenotypes to Describe Senescence in Wheat. *Genes*. 2021;12:909.
11. Rouse JW, Haas RH, Deering DW, Harlan JC. Monitoring the vernal advancement and retrogradation (green wave effect) of natural vegetation. *NASA/GSFC Type III Final Report, Greenbelt, Md*. 1974;371.
12. Lim PO, Kim HJ, Gil Nam H. Leaf Senescence. *Annu Rev Plant Biol*. 2007;58:115–36.
13. Araus JL, Labrana X. Leaf photosynthesis and chloroplast senescence patterns in wheat flag leaves during grain filling. *Photosynthetica*. 1991;25:33–7.
14. Anderegg J, Aasen H, Perich G, Roth L, Walter A, Hund A. Temporal trends in canopy temperature and greenness are potential indicators of late-season drought avoidance and functional stay-green in wheat. *Field Crops Research*. 2021;274:108311.
15. Bogard M., Jourdan M , Allard V, Martre P, Perretant MR, Ravel C, Heumez E, Orford S, Snape J, Griffiths S, Oorbessy G, Foulkes J, Le Gouis J. Anthesis date mainly explained

- correlations between post-anthesis leaf senescence, grain yield, and grain protein concentration in a winter wheat population segregating for flowering time QTLs. *Journal of Experimental Botany*, 2011; 3621:3636–62
16. Montazeaud G, Karatoğma H, Özturk I, Roumet P, Ecartot M, Crossa J, et al. Predicting wheat maturity and stay-green parameters by modeling spectral reflectance measurements and their contribution to grain yield under rainfed conditions. *Field Crops Research*. 2016;196:191–8.
 17. Verma V, Foulkes M, Worland A, Sylvester-Bradley R, Caligari P, Snape J. 2004. Mapping quantitative trait loci for flag leaf senescence as a yield determinant in winter wheat under optimal and drought-stressed environments. *Euphytica* 2004;135:255–263.
 18. Christopher JT, Veyradier M, Borrell AK, Harvey G, Fletcher S, Chenu K. Phenotyping novel stay-green traits to capture genetic variation in senescence dynamics. *Functional Plant Biol*. 2014;41:1035.
 19. Thomas H, Howarth CJ. Five ways to stay green. *Journal of Experimental Botany*. 2000;51:329–37.
 20. Lopes MS, Saglam D, Ozdogan M, Reynolds M. Traits associated with winter wheat grain yield in Central and West Asia: Drought and heat adaptation in winter wheat. *J Integr Plant Biol*. 2014;56:673–83.
 21. Triboi E, Triboi-Blondel A. Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem. *European Journal of Agronomy* 2002;16:163–186.
 228. Sultana N, Islam S, Juhasz A, Ma W. Wheat leaf senescence and its regulatory gene network. *The Crop Journal*. 2021;9:703–17.
 23. Camargo AV, Mott R, Gardner KA, Mackay IJ, Corke F, Doonan JH, et al. Determining Phenological Patterns Associated with the Onset of Senescence in a Wheat MAGIC Mapping Population. *Front Plant Sci* [Internet]. 2016 [cited 2021 Nov 25];7. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2016.01540/full>
 24. Gelang J. Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone. *Physiol Plant*. 2008;110:366–75.
 25. Xie Q, Mayes S, Sparkes DL. Early anthesis and delayed but fast leaf senescence contribute to individual grain dry matter and water accumulation in wheat. *Field Crops Research*. 2016;187:24–34.
 26. Gitelson A, Merzlyak MN. Spectral reflectance changes associated with autumn senescence of *Aesculus hippocastanum* L. and *Acer platanoides* L. leaves. Spectral features and relation to chlorophyll estimation. *J Plant Physiol*. 1994;143:286–92.
 27. Vilms I, Ecartot M, Verzelen N, Roumet P. Monitoring Nitrogen Leaf Resorption Kinetics by Near-Infrared Spectroscopy during Grain Filling in Durum Wheat in Different Nitrogen Availability Conditions. *Crop Science*. 2014;54:284–96.
 28. Ecartot M, Compan F, Roumet P. Assessing leaf nitrogen content and leaf mass per unit area of wheat in the field throughout plant cycle with a portable spectrometer. *Field Crops Research*. 2013;140:44–50.
 29. Martens H, Naes T. *Multivariate calibration*, H. Martens and T. Naes, Wiley, New York, 1989. ISBN 0 471 90979 3. Price: £75.00, US\$138.00. No. of pages: 504. *J Chemometrics*. 1990;4:441–441.
 30. Barnes RJ, Dhanoa MS, Lister SJ. Standard Normal Variate Transformation and De-Trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra. *Appl Spectrosc*. 1989;43:772–7.
 31. Savitzky Abraham, Golay MJE. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Anal Chem*. 1964;36:1627–39.

32. R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vienna, Austria; 2012. Available from: <http://www.r-project.org/>
33. Gausman HW. Leaf Reflectance of Near-infrared. *Photogramm Eng.* 1974;40:183–91.
34. Wang S, Guan K, Wang Z, Ainsworth EA, Zheng T, Townsend PA, et al. Unique contributions of chlorophyll and nitrogen to predict crop photosynthetic capacity from leaf spectroscopy. *Journal of Experimental Botany.* 2021;72:341–54.
35. M. Hafsi M, Mechmeche W, Bouamama L, Djekoune A., ZaharievaM, Monneveux P. Flag Leaf Senescence, as Evaluated by Numerical Image Analysis, and its Relationship with Yield under Drought in Durum Wheat . *Journal of Agronomy & Crop Science.* 2000; 185: 275–280
36. Kruger U, Xie L. *Statistical Monitoring of Complex Multivariate Processes: With Applications in Industrial Process Control* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2012 [cited 2022 Jan 18]. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470517253>
37. Ayeche N, Chakour C, Harkat M-F. New Adaptive Moving Window PCA for Process Monitoring. *IFAC Proceedings Volumes.* 2012;45:606–11.
38. Haimi H, Mulas M, Corona F, Marsili-Libelli S, Lindell P, Heinonen M, et al. Adaptive data-derived anomaly detection in the activated sludge process of a large-scale wastewater treatment plant. *Engineering Applications of Artificial Intelligence.* 2016;52:65–80.
39. Lehmann J, Große-Stoltenberg A, Römer M, Oldeland J. Field Spectroscopy in the VNIR-SWIR Region to Discriminate between Mediterranean Native Plants and Exotic-Invasive Shrubs Based on Leaf Tannin Content. *Remote Sensing.* 2015;7:1225–41.
40. Hellmann C, Große-Stoltenberg A, Lauströ V, Oldeland J, Werner C. Retrieving nitrogen isotopic signatures from fresh leaf reflectance spectra: disentangling $\delta^{15}\text{N}$ from biochemical and structural leaf properties. *Front Plant Sci* [Internet]. 2015 [cited 2022 Jun 1];6. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2015.00307>
41. Chatterton NJ, Lee DR, Hungerford WE. Diurnal Change in Specific Leaf Weight of *Medicago sativa* L. and *Zea mays* L. 1. *Crop Sci.* 1972;12:576–8.

Annexe 2

Protocole RT-qPCR (adapté du protocole de Nicolas Gautier de Roche®)

Le Light Cycler 480 possède deux blocs, un pour les plaques 384 puits (représente 4 plaques de 96 puits) et un pour les plaques 96 puits.

Temps de run : environ 50 min pour 45 cycles pour un produit d'environ 200 pb.

Volume : 5 µl minimum ; 20 µl maximum.

Dilution des ADNc au minimum au 1/5ème sinon, il risque d'y avoir des problèmes d'inhibition de la taq. Concentration des amorces entre 300nM et 900nM.

Préparation du mix

Chaque puit contenait les volumes de réactifs suivant :

Master Mix Promega	Mix Primer (10µM each)	H2O nuclease free	Matrice (ADNc ou témoins)
4 µl	0,24 µl	1,76 µl	2 µl

Préparation des plaques

Les ADNc et les témoins tout d'abord été déposés dans chaque plaque avant de distribuer le Mix. Ensuite, les plaques ont été filmée avec de l'aluminium et stockées à -20°C en attendant de passer dans le LightCycler®. Avant chaque passage, les plaques ont été centrifugées rapidement pour que tous les réactifs soient bien au fond des puits. Les plaques à 96 puits étaient d'abord agitées avec un vortex pour plaques avant d'être centrifugées.

Assignation des plaques

Le logiciel LightCycler® 480 a été utilisé. Une nouvelle expérimentation a donc été créée en cliquant sur « New Experiment ». La plaque a ensuite été mise en forme en entrant le nom et le type des échantillons présents sur la plaque avec la fonction « Sample Editor ». Tous les échantillons ont été mis en « Unknown ». Ensuite, le type d'expérimentation correspondant à « Rel Quant » a été déterminé dans « Select Workflow ».

Puis, dans « Subset Editor », le nom et le type des gènes présents sur la plaque a été entré. De ce fait, la plaque de l'ubiquitine (gène de ménage) a été définie comme étant la référence tandis que les autres plaques (comportant les gènes cibles) ont été définis par leurs noms comme des cibles. Il est possible de sauvegarder l'agencement des plaques en cliquant sur la flèche à côté de « Apply Template » puis sur « Save as Template ». De ce fait, le Template de la plaque pourra être utilisé pour toutes les autres plaques.

Lancement des plaques

Le programme de qPCR suivant a été entré dans la fonction « Experiment » :

	Nombre de cycles	Température	Temps (en seconde)	Acquisition
Pré-incubation	1	95°C	120s	NON
Dénaturation	42	95°C	15s	NON
Hybridation et Elongation		60°C	60s	1

Calculs des ratios

Les ratios d'expression relative ont été calculés par la méthode de Pfaffl (Pfaffl, 2001) utilisant les efficacités des amorces testées. L'efficacité des amorces est obtenue lors de l'optimisation des amorces, en réalisant une qPCR sur une gamme étalon d'ADNc dont les concentrations sont connues. Les dilutions de cette gamme sont toujours faites en cascade, c'est-à-dire que la première dilution utilise la solution mère, puis la deuxième dilution est faite à partir de la première dilution, etc...

Pour calculer les ratios, les expérimentations ont toutes été ouvertes dans LightCycler® 430 dans la fonction « **Analysis** ». La plaque référence a ensuite été sélectionnée en cliquant sur « **Select extern** », chaque plaque ne comportaient qu'un seul couple d'amorce étant donnée de la quantité d'échantillons testés. Les efficacités respectives de chaque amorce ont ensuite été rentrés dans la fenêtre dédiée à cela, puis les ratios ont été calculés et exportés sous Excel pour être traités sous RStudio.

Annexe 3

Pot	Nombre de dates	Changement feuille
01_D	3	NA
01_G	6	20210316 feuille 1 et feuille 2
02_D	6	NA
02_G	3	NA
03_D	6	NA
03_G	3	NA
04_D	3	20210312 feuille apparait
04_G	6	20210311 feuille 2 et 3 ??? (il n'y a que deux feuilles puis trois)
05_D	6	NA
05_G	3	NA
06_D	6	retirer feuille 3
06_G	3	NA
07_D	6	NA
07_G	3	NA
08_D	6	NA
08_G	3	NA
09_D	6	NA
09_G	3	20210312 feuille 2 et 3 échangées
10_D	3	ajout de la feuille 3 après 20210311
10_G	6	NA
11_D	6	20210317 feuille 1 et 2 échangées
11_G	3	NA
12_D	6	NA
12_G	3	NA
13_D	8	feuilles échangées avec 13_G
13_G	18	feuilles échangées avec 13_D

14_D	8	3 premières dates échangées
14_G	18	3 premières dates échangées (feuille 2 devient 3 à l'échange puis feuille 3 redevient 2 au 20210320)
15_D	8	feuille 1 seulement
15_G	18	NA
16_D	8	NA
16_G	17	20210317 feuille 1 et 2
17_D	8	NA
17_G	17	20210327 et 20210329 feuille 1 et 2
18_D	8	20210316 feuille 1 et 2
18_G	17	NA
19_D	8	NA
19_G	18	20210312, 20210329, 20210330 et 20210331 feuille 1 et 2 (disparition feuille 3)
20_D	8	échange côté de pot 20210316 puis ré-échange 20210322 + échange de feuille : 20210312, 20210322 feuille 3 devient feuille 2
20_G	18	échange côté de pot 20210316 puis ré-échange 20210322
21_D	8	NA
21_G	18	échange feuille 2 et 3 20210319
22_D	8	échange feuille 1 et 2 20210320 et 20210322
22_G	17	échange feuille 1 et 2 20210311
23_D	8	NA
23_G	17	échange feuille 1 et 2 20210318
24_D	8	apparition feuille 2 20210312 + échange feuille 2 et 3 20210317 au 22 (feuille 2 à re-noter...)
24_G	17	échange feuille 1 et 2 20210324
25_D	13	apparition feuille 2 20210316 + échange côté des pots le 20210324
25_G	18	échange côté des pots le 20210324
26_D	13	feuille 3 à enlever
26_G	18	NA
27_D	13	feuille 1 puis 2 à enlever à partir du 20210316
27_G	18	NA
28_D	12	feuille 2 et 3 échangées 20210312 et 20210326

28_G	17	quand trois feuilles, feuille 1 est la nouvelle
29_D	12	échange côté de pot 20210319
29_G	17	échange côté de pot 20210319
30_D	12	NA
30_G	17	feuille 1 et 2 échangées 20210317
31_D	13	échange côté de pots 20210323 + feuille 2 et 3 échangées 20210316 et 20210317
31_G	18	échange côté de pots 20210323
32_D	13	ajout feuille 3 2020316
32_G	18	ajout feuille 2 et 3 20210312
33_D	13	ajout feuille 1 20210312 + ordre à revoir complètement
33_G	18	20210312 échange feuille 2 et 3 définitif
34_D	12	NA
34_G	17	perte feuille 1 20210329
35_D	12	ajout feuille 2 20210316
35_G	17	échange feuille 1 et 2 20210317
36_D	12	échange feuille 1 et 2 20210317
36_G	17	NA
37_D	16	2021027 manque feuille 3
37_G	18	NA
38_D	16	NA
38_G	18	NA
39_D	16	NA
39_G	18	NA
40_D	15	NA
40_G	17	NA
41_D	15	NA
41_G	17	feuille 2 et 3 inversées pour 20210327 et 20210329
42_D	15	superposition feuille 20210320
42_G	17	feuille 2 et 3 inversées pour 20210311, 20210312, 20210316 et 20210317
43_D	16	NA

43_G	18	disparition feuille 2 sauf pour 20210328
44_D	16	NA
44_G	18	NA
45_D	16	à partir du 20210323 échange côté droit et gauche
45_G	18	à partir du 20210323 échange côté droit et gauche
46_D	15	à partir du 20210323 échange côté droit et gauche(feuille 1 et 2 pour 20210323 puis 1 et 3)
46_G	17	à partir du 20210323 échange côté droit et gauche (+ mélange des feuilles : 1 et 2 devient 3 2 1)
47_D	15	à partir du 20210320 échange côté droit et gauche (+ apparition feuille 20210316)
47_G	16	à partir du 20210320 échange côté droit et gauche (+ apparition feuille 2 20210316)
48_D	15	à partir du 20210323 échange côté droit et gauche + ré-échange 20210327 + échange feuille 2 et 3 20210319,20210320 (+ à voir selon échange)
48_G	17	à partir du 20210323 échange côté droit et gauche + ré-échange 20210327 (échange feuille - voir papier)

Annexe 4

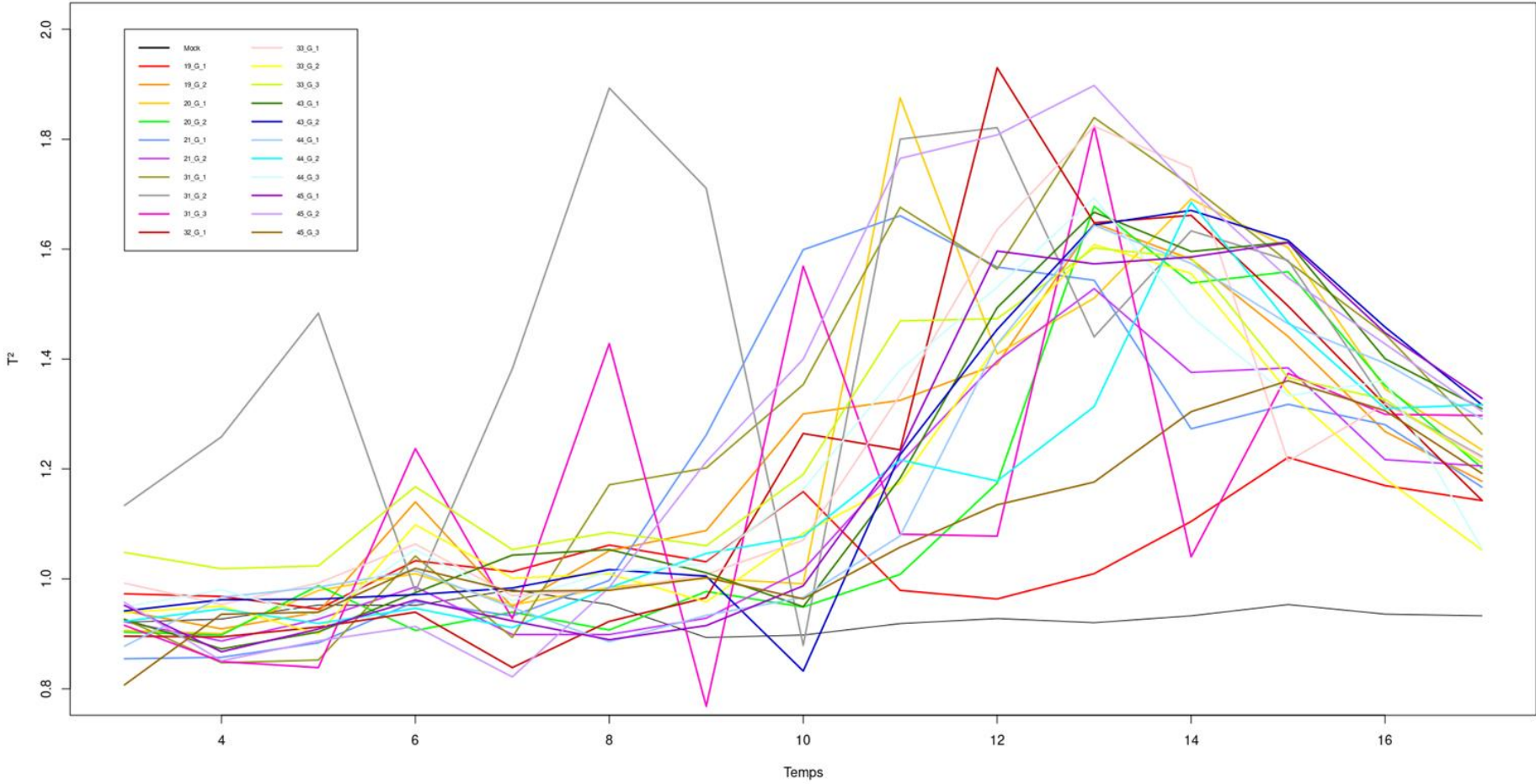


Figure : Cinétique des individus « Inocs » du génotype EPO_67

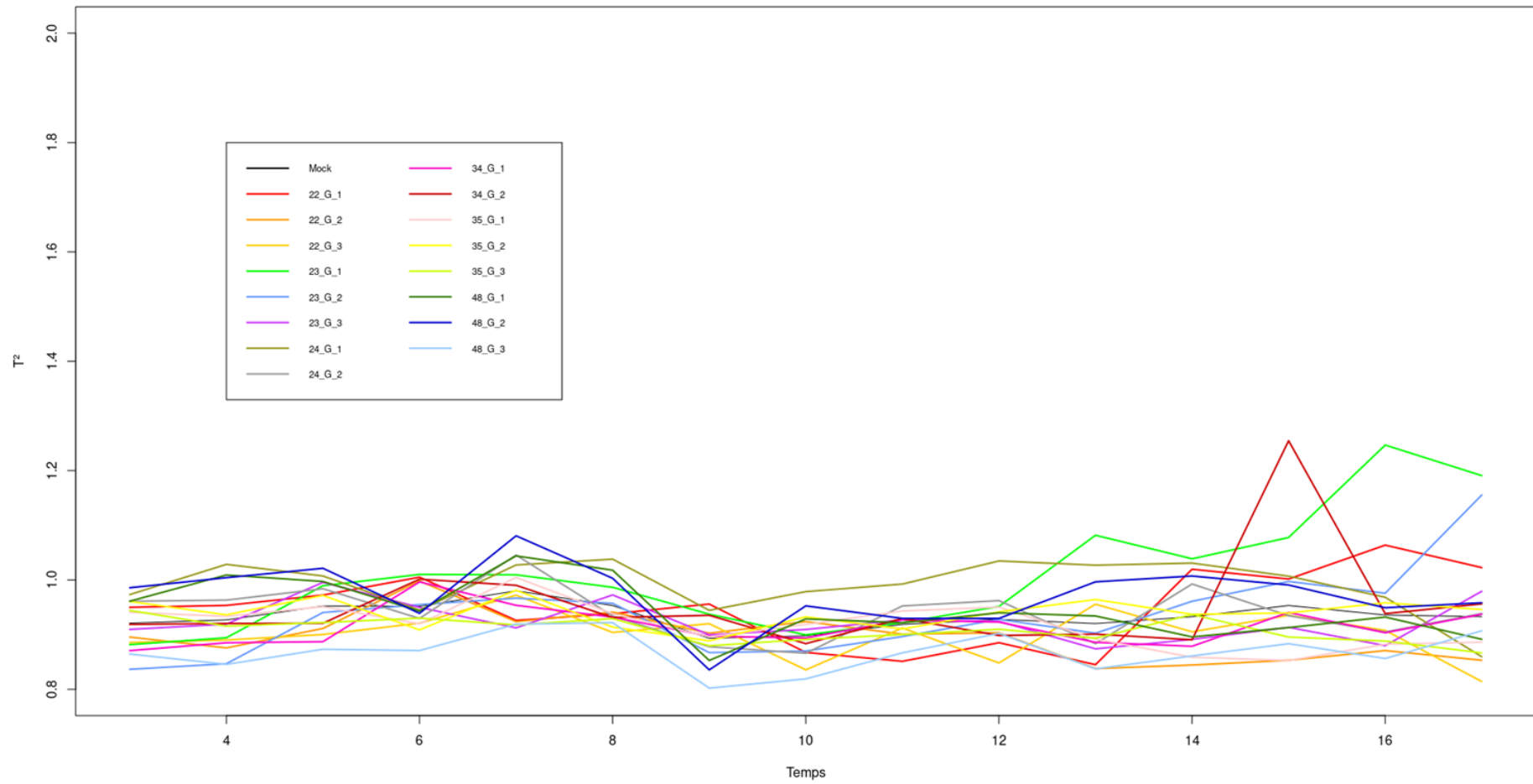


Figure : Cinétique des individus « Mocks » du génotype EPO_67

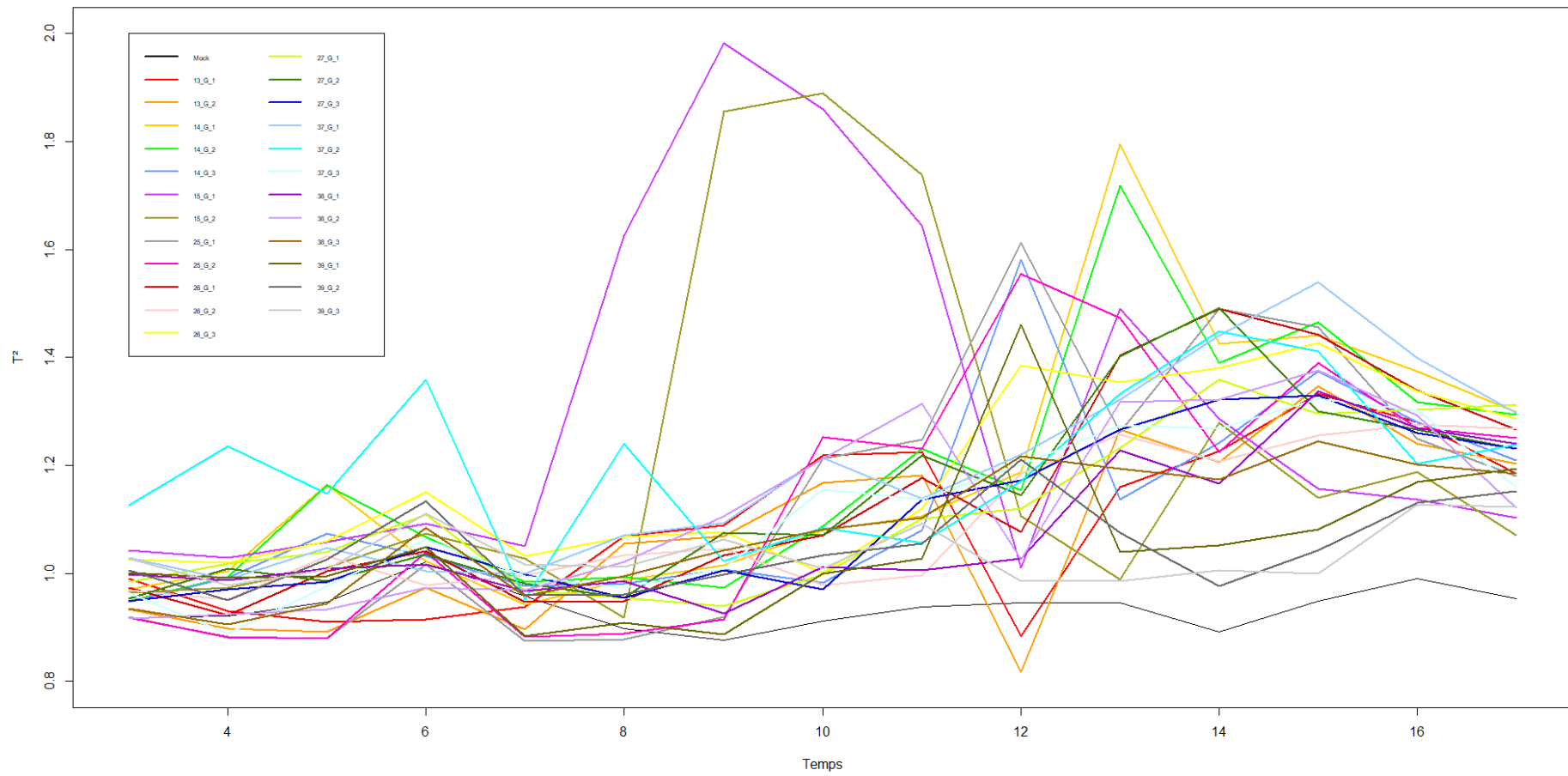


Figure : Cinétique des individus « Inocs » du génotype EPO_68

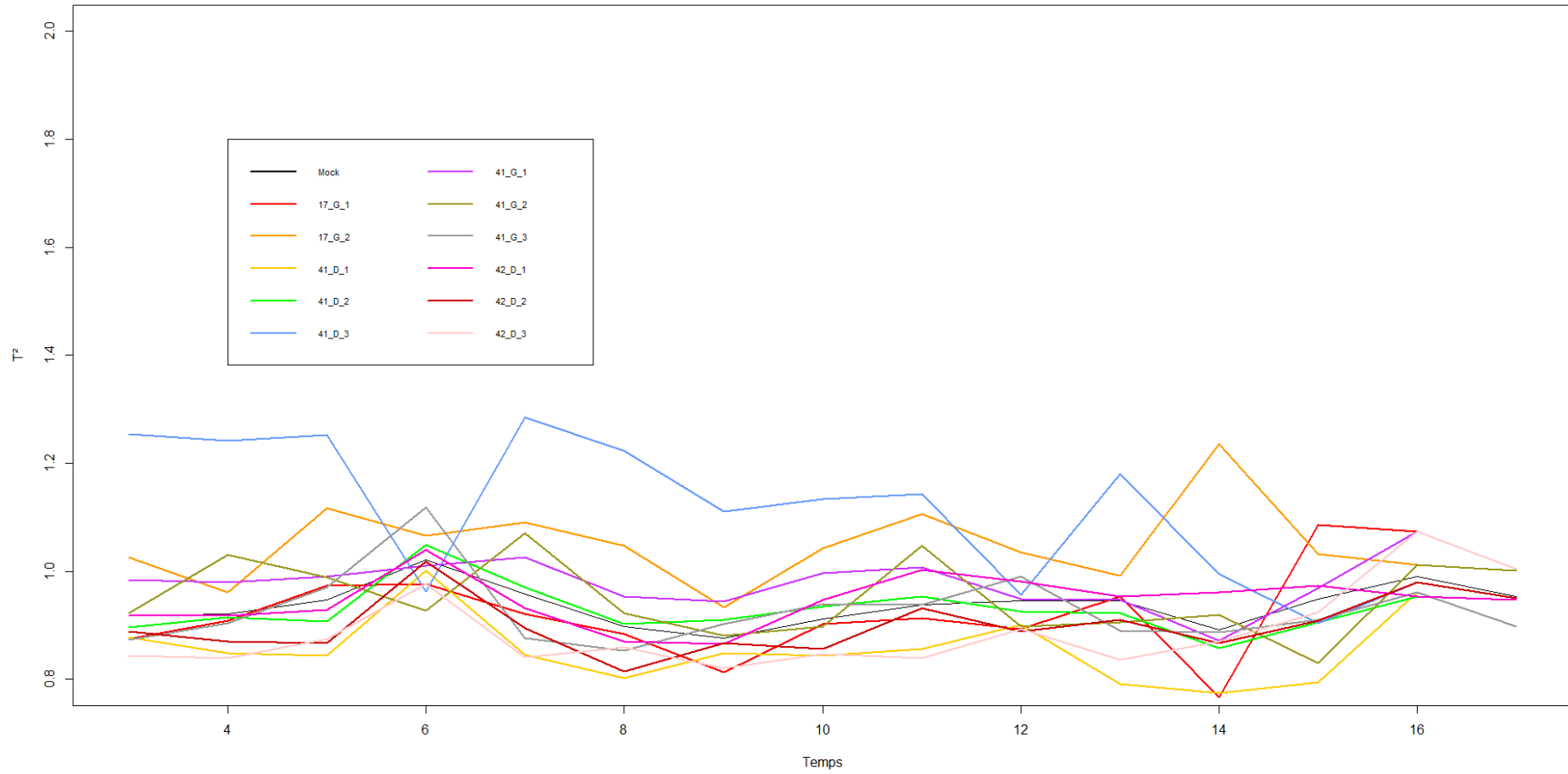


Figure : Cinétique des T^2 des individus « Mocks » du génotype EPO_68

Annexe 5

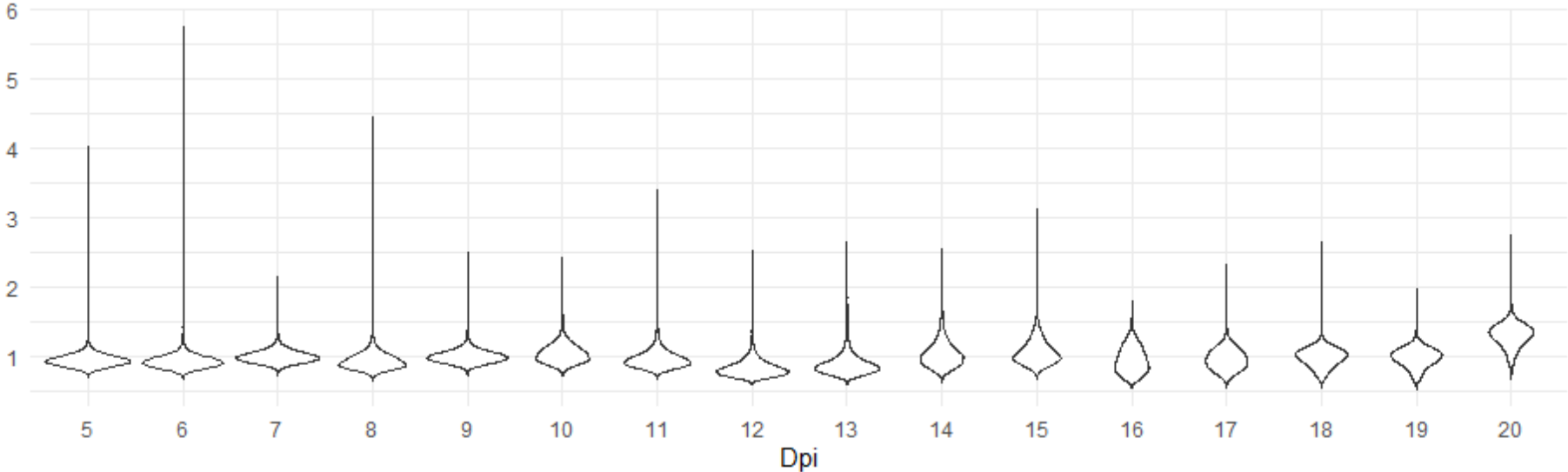


Figure : Violin plot de l'individu 26_G_2, présentant la distribution des T^2