

1^{ères} biennales de l'innovation céréalière

P hloème



Faisons circuler l'innovation !

24 & 25 janvier 2018

Cité des Sciences & de l'Industrie
Paris

Phloème

1^{ères} biennales
de l'innovation céréalière

Utilisation de l'imagerie hyperspectrale proche infrarouge dans l'étude de systèmes racinaires.

Damien Eylenbosch¹, Juan Antonio Fernández Pierna², Vincent Baeten², Bernard Bodson¹

Avec la participation de B. Dumont¹, M.P. Hiel¹, G. Fraipont et J. Pierreux¹



¹ Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège

² Centre wallon de Recherches agronomiques



Organisé par :



Avec l'appui
scientifique de :



Sous le haut
patronage de :



Soutenu par :



Partenaires média



L'étude présentée est le fruit d'une collaboration entre Gembloux Agro-Bio Tech (Université de Liège, Belgique) et le Centre wallon de recherche agronomique (Gembloux, Belgique). Cette étude concerne l'utilisation de l'imagerie hyperspectrale proche infrarouge combinée aux outils de la chimiométrie dans l'étude de systèmes racinaires prélevés au champ.

Eylenbosch D., Fernandez Pierna J.A., Baeten V. et Bodson B., 2018. Utilisation de l'imagerie hyperspectrale proche infrarouge combinée aux outils de la chimiométrie dans l'étude des systèmes racinaires. Phloème 2018-Actes du congrès. 226-236

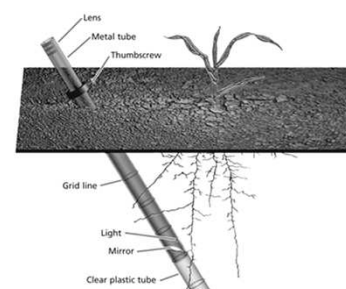
d.eylenbosch@uliege.be
j.fernandez@cra.wallonie.be
v.baeten@cra.wallonie.be
b.bodson@uliege.be

La quantification racinaire au champ

- Différentes techniques:
 - Observation ponctuelle (profil racinaire)
 - Extraction d'une partie du système racinaire (monolithes, carottes de sol...)
 - Suivi dynamique de la croissance racinaire (rhizotrons, mini-rhizotrons...)



(Ferchaud et al., 2015. *Plant Soil*)



(Tribouillois, 2014)

Bref aperçu de différentes techniques de quantification de racines en plein champ:

La quantification des racines peut se faire de manière ponctuelle via la réalisation de profils racinaires et le comptage de racines observables sur une surface définie.

Elle peut aussi se faire par extraction d'une partie du système racinaire sous forme de monolithe ou de carottes de sol et par la quantification des racines au sein de ce volume de sol. Enfin, une quantification dynamique de la croissance racinaire peut être réalisée via des rhizotrons ou des mini-rhizotrons.

Ferchaud, F., Vitte, G., Bornet, F. et al. *Plant Soil* (2015). Soil water uptake and root distribution of different perennial and annual bioenergy crops. 388: 307.

<https://doi.org/10.1007/s11104-014-2335-y>

Tribouillois, Hélène (2014). Thèse. Caractérisation fonctionnelle d'espèces utilisées en cultures intermédiaires et analyse de leurs performances en mélanges bispécifiques pour produire des services écosystémiques de gestion de l'azote.

Méthode d'extraction par carottes de sol

- Prélèvement de carottes de sol
- Lavage des échantillons
- Récupération racines + résidus de culture + graviers + ...



hloème
1ères biennales
de l'innovation végétalière



24 & 25 janvier 2018,
Cité des Sciences & de l'Industrie - Paris

ARVALIS
Institut du végétal

Dans le cas de cette étude, nous nous sommes focalisé sur la méthode qui consiste à extraire les racines de carottes de sol.

Les racines sont prélevées au champ via une sonde durant la culture.

Ces échantillons de sol sont ensuite lavés à l'eau pour éliminer les particules de sol.

On récupère de cette façon les racines mais aussi des résidus de la culture précédente, de petits graviers, des macroorganismes...

Séparation des racines

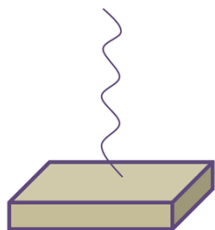
- Etape nécessaire à la quantification
 - Manuelle
 - Chronophage
 - Fastidieuse
 - Dépendante de l'opérateur
- Besoin d'une autre méthode
- **Imagerie hyperspectrale proche infrarouge**



Afin de quantifier les racines, une première étape de séparation des éléments récupérés lors du lavage des échantillons de sol est nécessaire. Cette étape est habituellement réalisée à la main. Elle prend donc beaucoup de temps, elle est fastidieuse et la qualité du tri peut dépendre de la personne qui le réalise. Une autre méthode était donc nécessaire et c'est pourquoi nous avons proposé l'utilisation de l'imagerie hyperspectrale proche infrarouge.

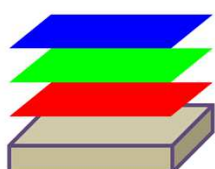
L'imagerie hyperspectrale proche infrarouge

Spectroscopie

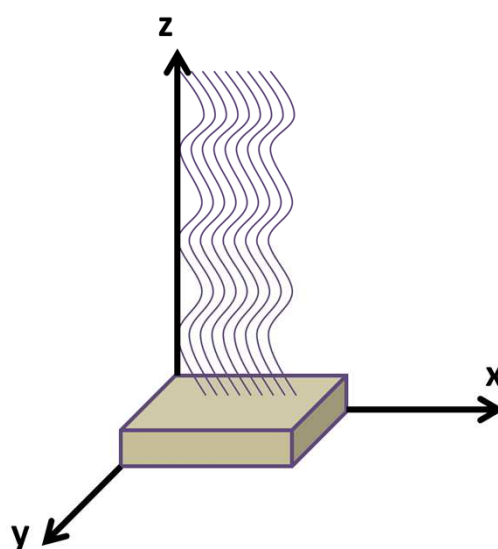


1 spectre/échantillon

Imagerie



Imagerie hyperspectrale



- 1 spectre/pixel
- Nombreuses longueurs d'ondes
- Entre 700 et 2500 nm



(CRA-W, Gembloux)

hloème
1ères biennales
de l'innovation végétale



24 & 25 janvier 2018,
Cité des Sciences & de l'Industrie - Paris

ARVALIS
Institut du végétal

Voici en quelques mots en quoi consiste cette méthode d'imagerie hyperspectrale proche infrarouge.

La spectroscopie permet d'estimer la composition d'un échantillon sur base du profil de son spectre moyen. Cette méthode est couramment utilisée en agronomie pour analyser la composition de grains ou de fourrages par exemple.

L'imagerie permet de donner une représentation en 2 dimensions d'un objet. Sur une photo classique, cette représentation se fera grâce à la combinaison des 3 couleurs primaires: le bleu, le vert et le rouge.

L'imagerie hyperspectrale consiste à combiner ces 2 techniques. Il est ainsi possible d'obtenir les informations spatiales et spectrales d'un même objet à raison d'un spectre pour chaque pixel de l'image.

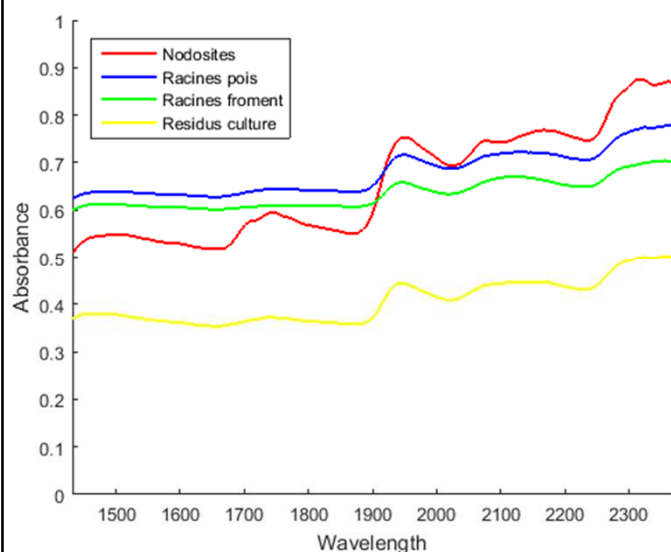
Cette technique d'imagerie est définie comme hyperspectrale et proche infrarouge car elle permet l'acquisition de spectres de plusieurs dizaines de longueurs d'ondes dans une gamme spectrale comprise entre 700 et 2500 nm.

Cette technique d'imagerie est utilisée dans le domaine de la télédétection mais aussi pour des applications de laboratoire ou industrielles.

Dans le cas de notre étude, nous avons utilisé une caméra positionnée au-dessus d'une bande transporteuse qui permettait le déplacement de l'échantillon à analyser et l'acquisition de 209 longueurs d'ondes comprises entre 1100 et 2400 nm.

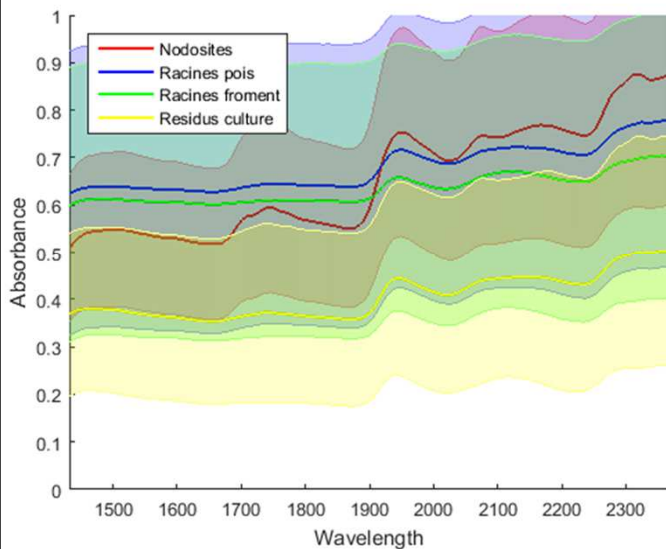
Des spectres différents ... et variables

- Spectres moyens spécifiques



Grâce à cette caméra, nous avons pu faire l'acquisition de spectres sur différents éléments qui peuvent être retrouvés au sein d'échantillons de sol: des racines de blé, des racines de pois, des nodosités ou des résidus de culture.

Des spectres différents ... et variables



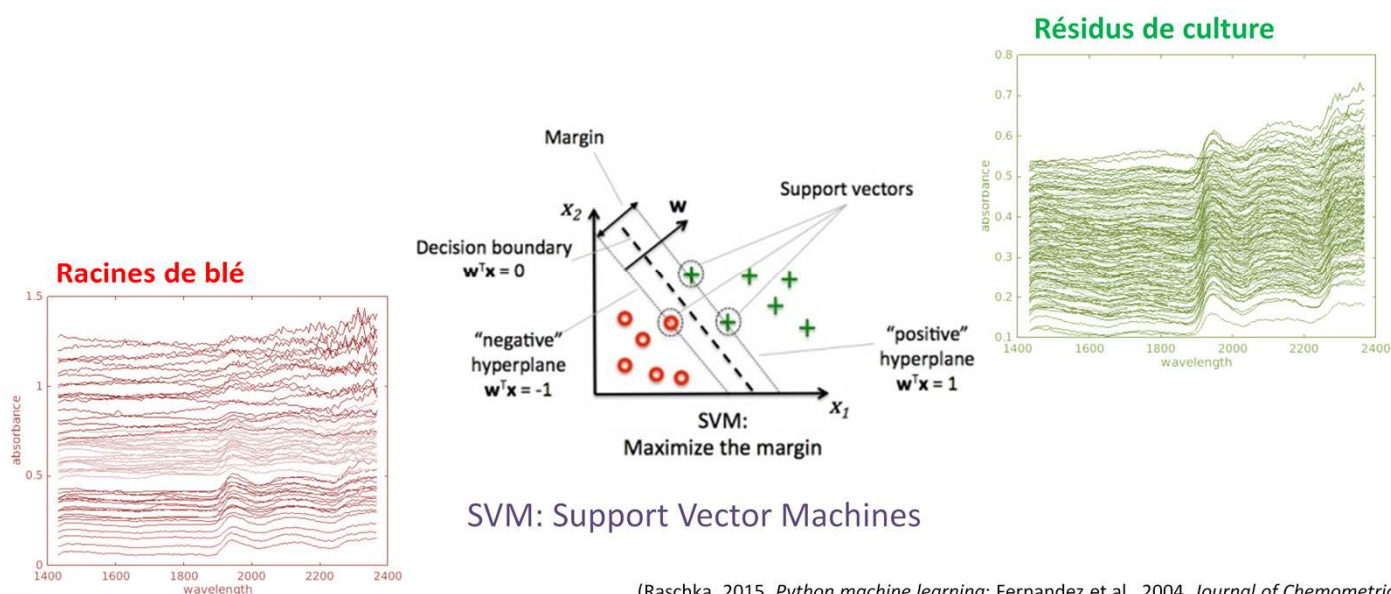
- Spectres moyens spécifiques
- Forte variabilité des spectres
- Besoin d'outils pour
 - Discriminer les classes spectrales
 - Sélectionner des spectres représentatifs
- **Chimiométrie**

Si les spectres moyens de ces éléments sont bien distincts, ils s'accompagnent aussi d'une forte variabilité.

Il est donc nécessaire d'avoir des outils permettant la discrimination de ces spectres rassemblés au sein de classes spectrales et la sélection de spectres représentatifs de ces classes en vue de construire des modèles de discrimination.

Ces outils sont fournis par la chimiométrie qui rassemble des méthodes d'analyses mathématiques et statistiques afin d'extraire des informations de ce type de données.

La chimiométrie à l'aide de l'imagerie hyperspectrale



hloème
1ères biennales
de l'innovation végétale



24 & 25 janvier 2018,
Cité des Sciences & de l'Industrie - Paris

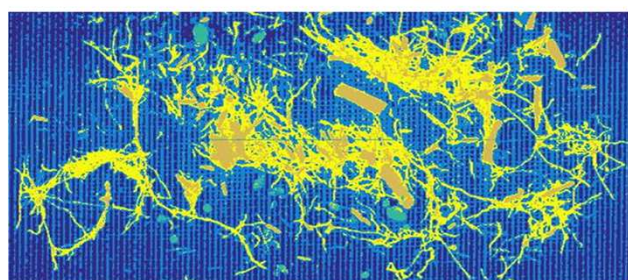
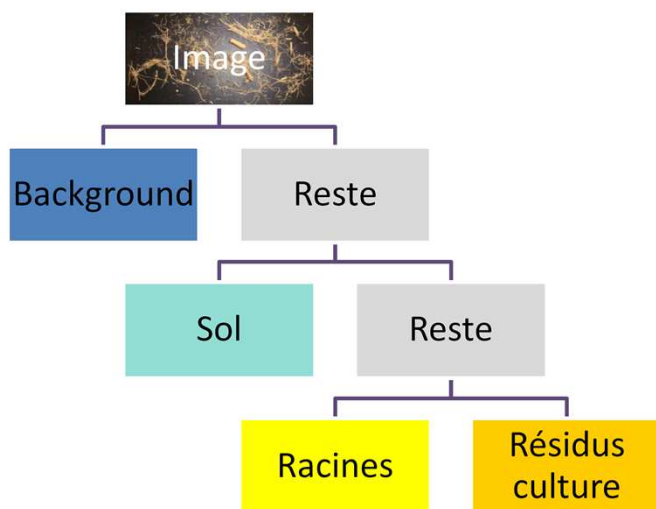
ARVALIS
Institut du végétal

Afin de faire la discrimination de spectres de racines de blé et de résidus de culture, le modèle chimiométrique SVM a été utilisé. Le principe de ce modèle est de rechercher l'hyperplan qui se retrouve en tout point à la distance maximale de 2 groupes de données prédéfinis.

Une fois le modèle créé, un spectre de nature inconnue pourra être classé dans un de ces 2 groupes prédéfinis, dans ce cas-ci en tant que racine ou que résidus.

J.A. Fernández Pierna, V. Baeten, A. Michotte Renier, R.P. Cogdill and P. Dardenne, 2004. Combination of Support Vector Machines (SVM) and Near Infrared (NIR) imaging spectroscopy for the detection of meat and bone meat (MBM) in compound feeds'. *Journal of Chemometrics*. 18, 341-349.

La chimiométrie à l'aide de l'imagerie hyperspectrale



(Eylenbosch et al., 2017. *Journal of Chemometrics*)

L'agencement de plusieurs modèles d'analyse discriminante au sein d'un arbre de classification dichotomique permet de prédire la nature de chaque pixel d'une image hyperspectrale.

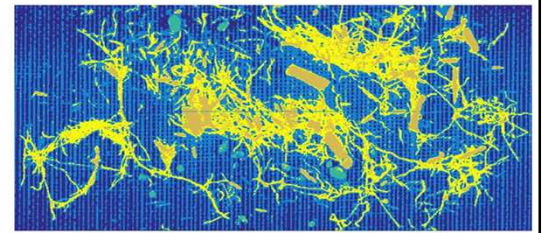
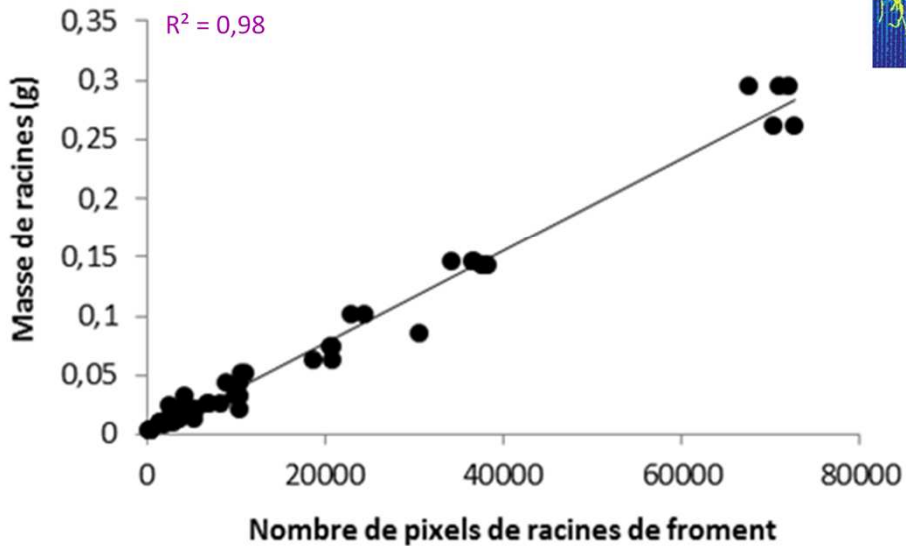
En assignant une couleur à chaque classe spectrale, on peut finalement reconstruire une image sur laquelle apparaissent les éléments de différentes natures.

Dans le cas présent, vous pouvez observer en bleu le tapis et le tamis sur lesquels sont posés les échantillons, en vert les particules de sol et les petits graviers, en jaune les racines de blé et en ocre les résidus de la culture précédente.

Eylenbosch D, Bodson B, Baeten V, Fernández Pierna JA. NIR hyperspectral imaging spectroscopy and chemometrics for the discrimination of roots and crop residues extracted from soil samples. *Journal of Chemometrics*. 2017;e2982.

<https://doi.org/10.1002/cem.2982>

Quantification des racines



Nombre de pixels



Masse de racines (g)



Densité racinaire (g/dm³)



Sur base du nombre de pixels classé comme étant des racines sur une image hyperspectrale, on peut ensuite calculer la quantité de racines présentes au sein de l'échantillon de sol.

Ce calcul est rendu possible grâce à la relation linéaire existante entre le nombre de pixels de racine détecté sur l'image et la masse de racine présente au sein de l'échantillon.

Cette masse est ensuite exprimée en densité racinaire en divisant simplement la masse de racine par le volume de sol prélevé.

Quelques applications



Voici quelques exemples d'applications

Application 1: Effet du travail du sol sur le développement racinaire du blé – Densité et position des racines

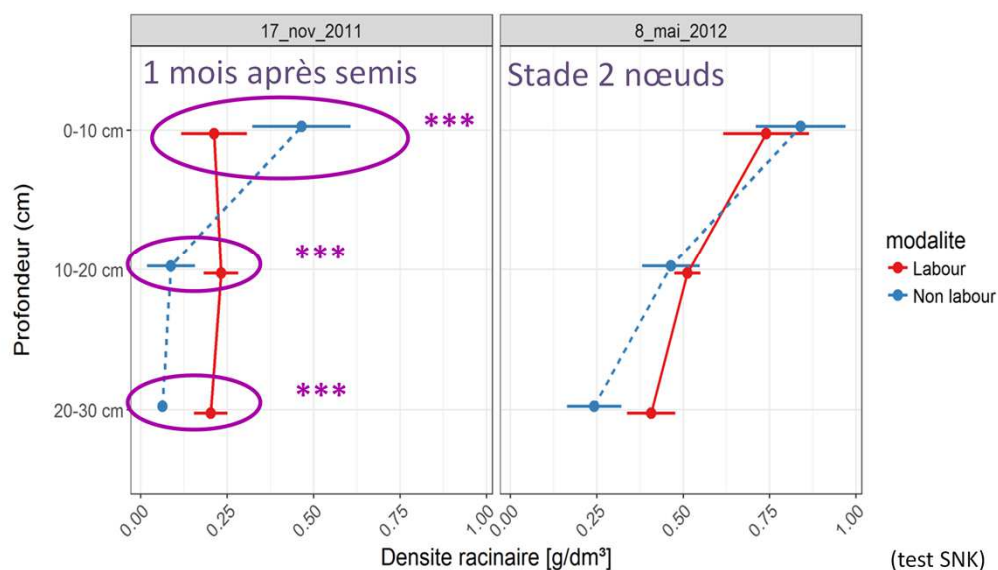
Labour
(25 cm)



Non labour = Travail réduit
(10 cm)



Semis: 17 octobre 2011



hloème
1ères biennales
de l'innovation végétale



24 & 25 janvier 2018,
Cité des Sciences & de l'Industrie - Paris

ARVALIS
Institut du végétal

Une première étude a été réalisée dans un essai de longue durée comparant l'effet de labour conventionnel à 25 cm de profondeur et un travail du sol réduit sur 10 cm (Essai SOLRESIDUS, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège).

Des mesures de densités racinaires ont été réalisées au sein de 3 horizons de sol de 10 cm d'épaisseur lors de 2 prélèvements, l'un 1 mois après le semis, l'autre au stade 2 nœuds de la culture. Ces prélèvements ont permis de mettre en évidence plusieurs effets du travail du sol sur le développement racinaire.

Tout d'abord, une répartition différente des racines au sein des 3 horizons. Lors du premier prélèvement, la densité racinaire dans les 10 premiers cm du sol était plus importante en travail du sol réduit qu'en labour. Cette tendance s'inversait dans les horizons plus profonds.

Test stat: Student, Newman et Keuls, package agricolae, R

Application 1: Effet du travail du sol sur le développement racinaire du blé – Densité et position des racines

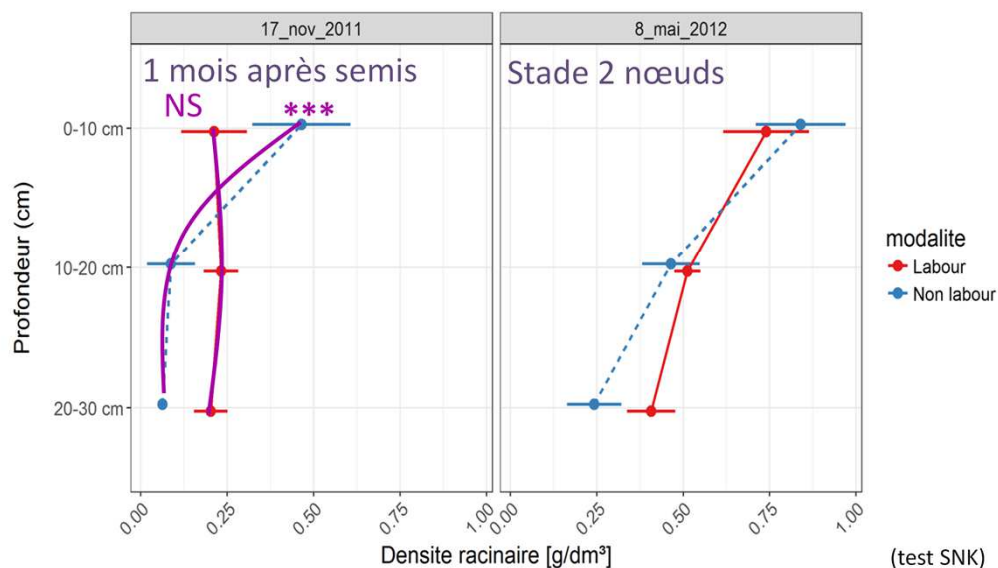
Labour
(25 cm)



Non labour = Travail réduit
(10 cm)



Semis: 17 octobre 2011



hloème
1ères biennales
de l'innovation végétale



24 & 25 janvier 2018,
Cité des Sciences & de l'Industrie - Paris

ARVALIS
Institut du végétal

Nous avons pu observer une diminution significative de la densité racinaire sur 30 cm de profondeur en travail réduit alors qu'en labour la densité racinaire était identique dans les 3 horizons.

Test stat: Student, Newman et Keuls, package agricolae, R

Application 1: Effet du travail du sol sur le développement racinaire du blé – Densité et position des racines

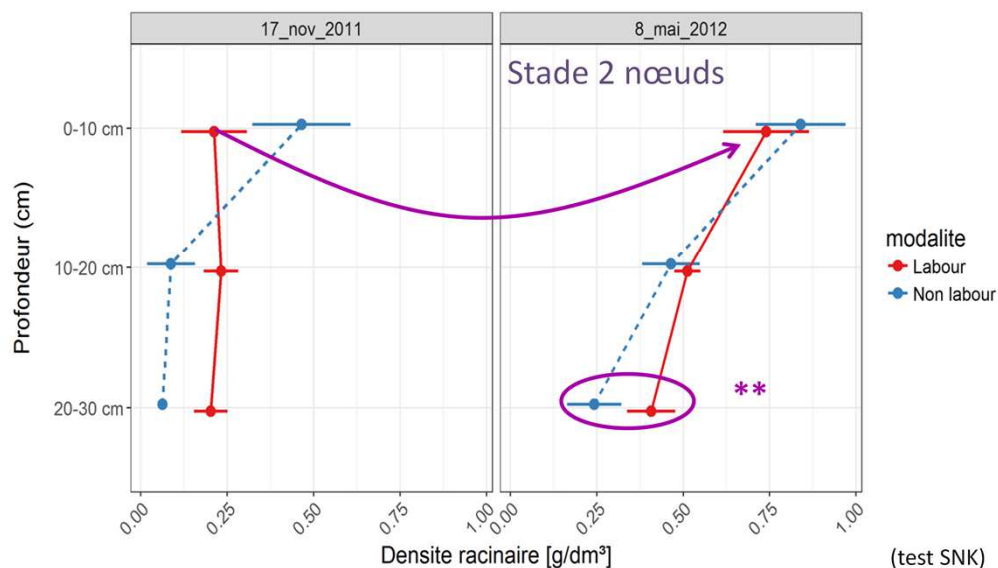
Labour
(25 cm)



Non labour = Travail réduit
(10 cm)



Semis: 17 octobre 2011



Lorsqu'on observe la situation 6 mois plus tard, lorsque la culture est au stade 2 nœuds, on remarque tout d'abord une augmentation de la densité racinaire dans tous les horizons de sol pour les 2 modalités de travail du sol. A ce stade de la culture, une différence de densité racinaire entre le labour et le travail réduit n'était plus observable qu'entre 20 et 30 cm de profondeur.

Test stat: Student, Newman et Keuls, package agricolae, R

Application 1: Effet du travail du sol sur le développement racinaire du blé – Densité et position des racines

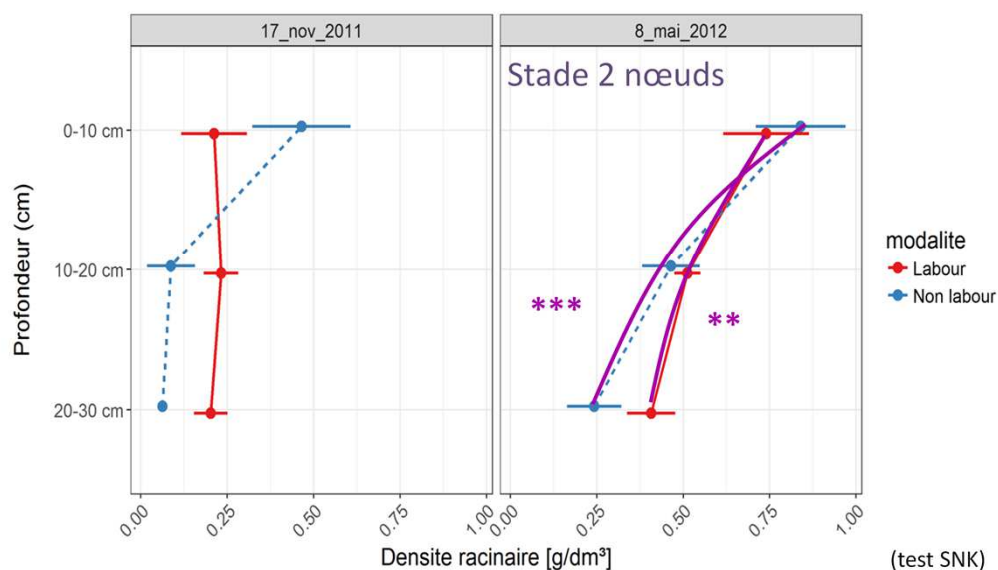
Labour
(25 cm)



Non labour = Travail réduit
(10 cm)



Semis: 17 octobre 2011



Au stade 2 nœuds de la culture, une diminution significative de la densité en fonction de la profondeur était observable dans les 2 modalités de travail du sol.

Test stat: Student, Newman et Keuls, package agricolae, R

Application 1: Effet du travail du sol sur le développement racinaire du blé – Dynamique de développement

Labour
(25 cm)



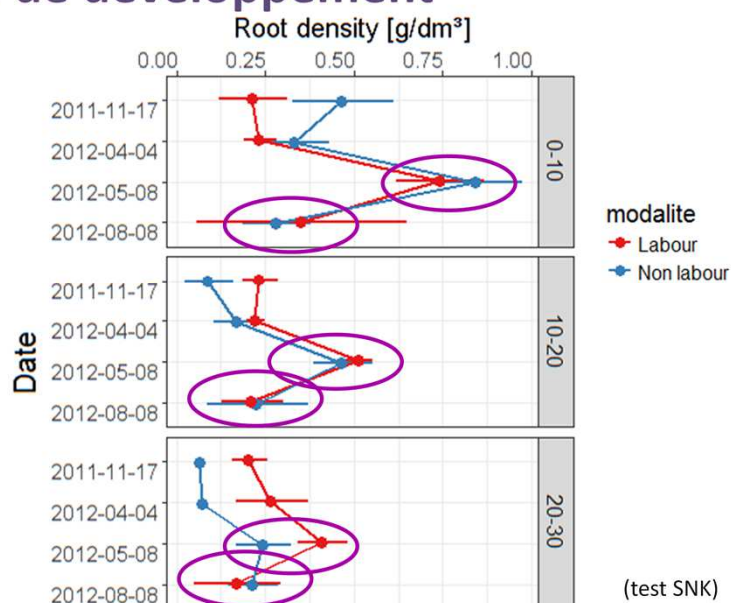
Non labour = Travail réduit
(10 cm)



Semis: 17 octobre 2011

Prélèvements:

- 17 novembre
- Tallage
- 2 nœuds
- Récolte



hloème
1ères biennales
de l'innovation végétale



24 & 25 janvier 2018,
Cité des Sciences & de l'Industrie - Paris

ARVALIS
Institut du végétal

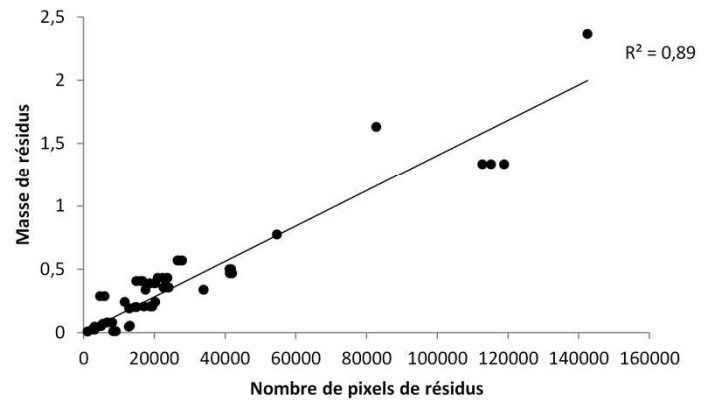
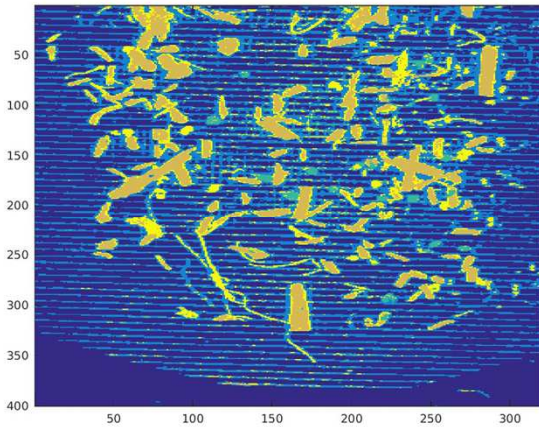
2 autres prélèvements de sol avaient été réalisés dans cet essai: un au stade tallage, l'autre juste avant la récolte.

La comparaison des densités racinaire entre ces 4 dates de prélèvements montre que c'est au stade 2 nœuds que la densité racinaire était la plus importante dans les 3 horizons de sol.

Plusieurs études ont montré que la densité racinaire était la plus élevée au stade floraison de la culture. Il aurait donc été intéressant de faire un prélèvement à ce stade dans notre essai. L'essai étant toujours en cours, nous espérons pouvoir faire cette mesure à l'avenir.

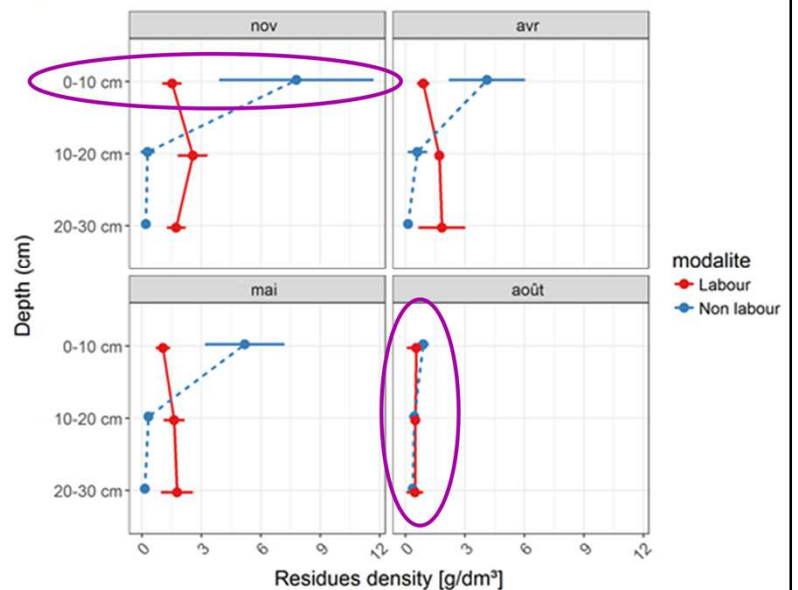
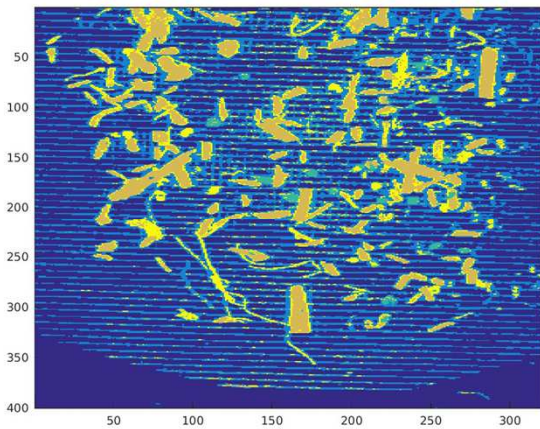
On a également pu observer lors de ces prélèvements que la densité racinaire avait fortement diminué au moment de la récolte.

Application 2: Effet du travail du sol sur l'enfouissement des résidus de culture – Dynamique de dégradation



Les modèles de discrimination mis au point permettant la prédiction des racines et des résidus de culture, il est également possible de faire la quantification de ces résidus dans les échantillons de sol (en ocre sur cette image). Il suffit pour cela de calibrer la droite de régression liant le nombre de pixels de résidus détectés sur l'image à la masse de résidus présente dans l'échantillon.

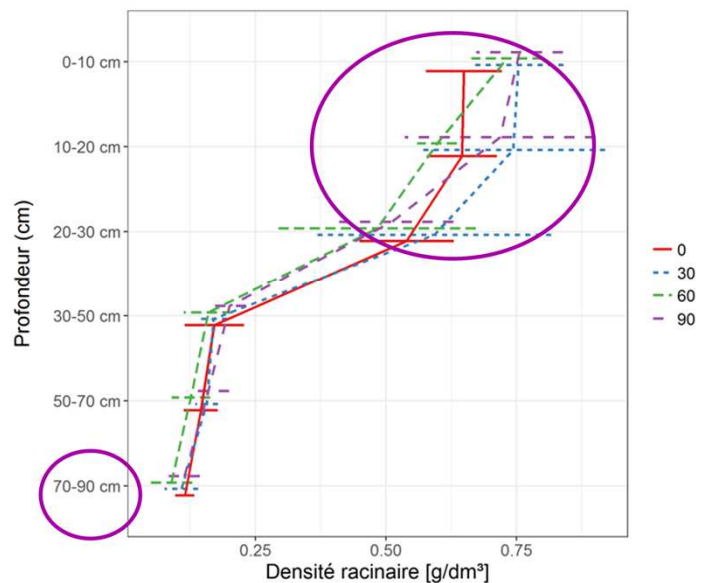
Application 2: Effet du travail du sol sur l'enfouissement des résidus de culture – Dynamique de dégradation



La quantification des résidus lors des 4 prélèvements de sol a très logiquement montré une accumulation des résidus de culture dans les 10 premiers cm du sol en travail du sol réduit et une répartition homogène de ceux-ci en labour. Cette analyse a également montré une bonne dégradation des résidus dans les 2 modalités de travail du sol au moment de la récolte.

Application 3: Effet de la fertilisation azotée sur le système racinaire du blé

- Etude en cours
- **Poster 44**



Une autre application de la méthode est en cours d'utilisation dans un essai sur la fertilisation azotée du blé. Les premiers résultats de cette étude vous sont présentés sur le poster 44 (Eylenbosch D., Fernandez Pierna J.A., Baeten V. et Bodson B., 2018. Etude de l'influence de la fertilisation azotée sur le développement racinaire du froment d'hiver (*Triticum aestivum* L.). Phloème 2018-Actes du congrès. 359-361)

Remarquez simplement que nous avons cette fois-ci mesuré la densité racinaire sur une profondeur de 90 cm et que 75% des racines observées se trouvaient dans les 30 premiers cm du sol.

Application 4: Séparation de racines de blé et de pois cultivés en association

- Blé et pois d'hiver en association
- Densité de semis adaptée

	Seul	Associé
Blé	300 gr/m ²	150 gr/m ²
Pois	80 gr/m ²	50 gr/m ²



- Comparaison de fertilisations azotées
- **Poster 57**

(J. Pierreux, GxABT)

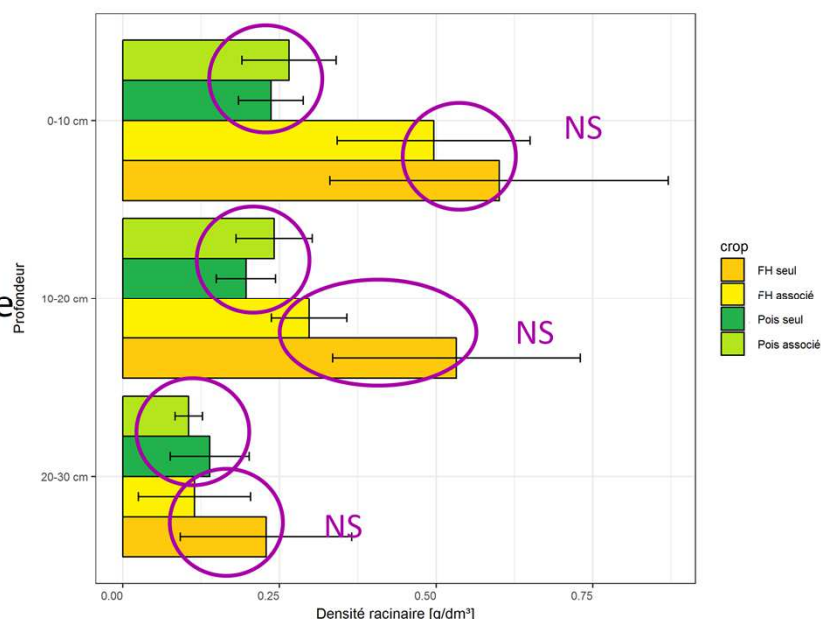
Grâce à l'utilisation de l'imagerie hyperspectrale proche infrarouge, il est également possible de discriminer des racines de différentes espèces ce qui est parfois difficile à faire à l'œil nu.

Un prélèvement a donc été réalisé dans un essai mis en place par un de mes collègues sur l'association du blé et du pois protéagineux d'hiver (Jérôme Pierreux, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, jpierreux@ulige.be). Les densités de semis avaient été adaptées selon que les espèces étaient cultivées seules ou en association et ces cultures étaient comparées dans un essai sur la fertilisation azotée.

Pierreux J., Delaplace P., Roisin C. et Bodson B., 2018. Produire durablement des blés riches en protéines par la culture en association blé d'hiver et pois protéagineux d'hiver. Phloème 2018-Actes du congrès. 423-425

Application 4: Séparation de racines de blé et de pois cultivés en association

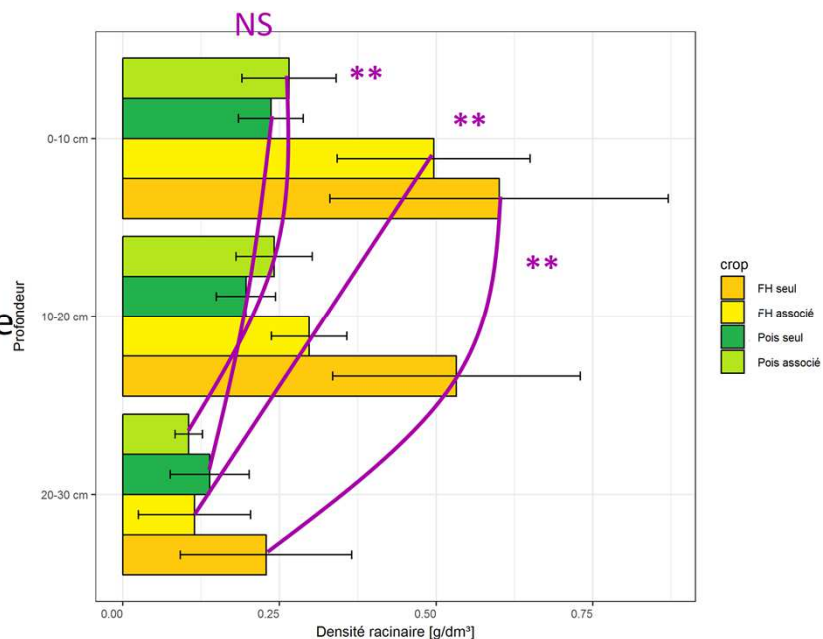
- 28 juin 2016
- Fertilisation:
 - 40 kg N/ha tallage-redressement
 - 40 kg N/ha dernière feuille
- Densité racinaire culture pure = association
- **Association:** meilleure utilisation des ressources
- Effet profondeur



Le prélèvement de racine a été réalisé à la fin du mois de juin lorsque le blé était au stade remplissage et que les pois étaient déjà bien formés. Ce prélèvement a été réalisé sur 30 cm de profondeur dans des parcelles ayant reçu 2 apports de 40 unités d'azote. La première observation qui peut être faite est que les densités racinaires sont statistiquement égales dans les cultures pures et en association, et cela malgré une densité de semis adaptée. Cela s'observe très clairement pour le pois et c'est également le cas pour le blé où aucune différence significative n'a pu être mesurée. L'adaptation des densités de semis n'ayant pas d'effet, et aucune concurrence n'étant observée, nous pouvons conclure que l'association permet une meilleure utilisation des ressources du sol.

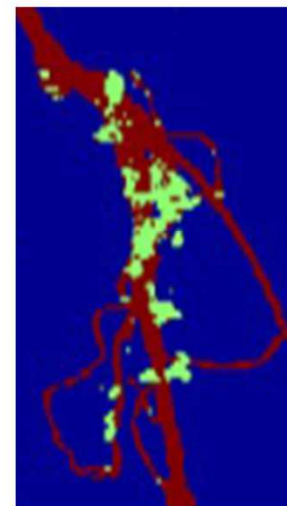
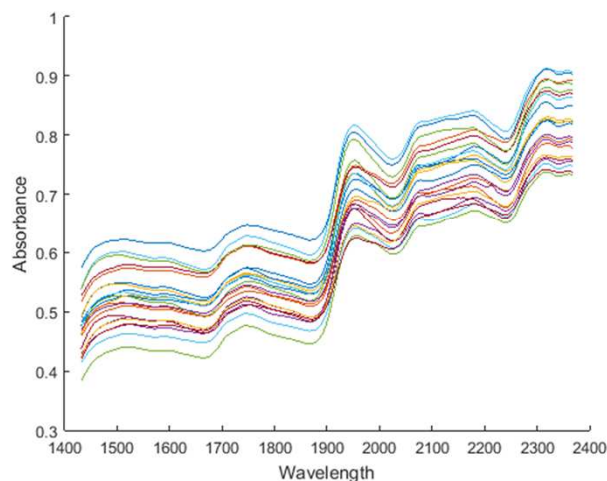
Application 4: Séparation de racines de blé et de pois cultivés en association

- 28 juin 2016
- Fertilisation:
 - 40 kg N/ha tallage-redressement
 - 40 kg N/ha dernière feuille
- Densité racinaire culture pure = association
- **Association:** meilleure utilisation des ressources
- Effet profondeur



Dans cet essai, un effet de la profondeur a également pu être observé sur les systèmes racinaires. Il était nul en culture pure de pois mais était bien observable pour les autres modalités de culture.

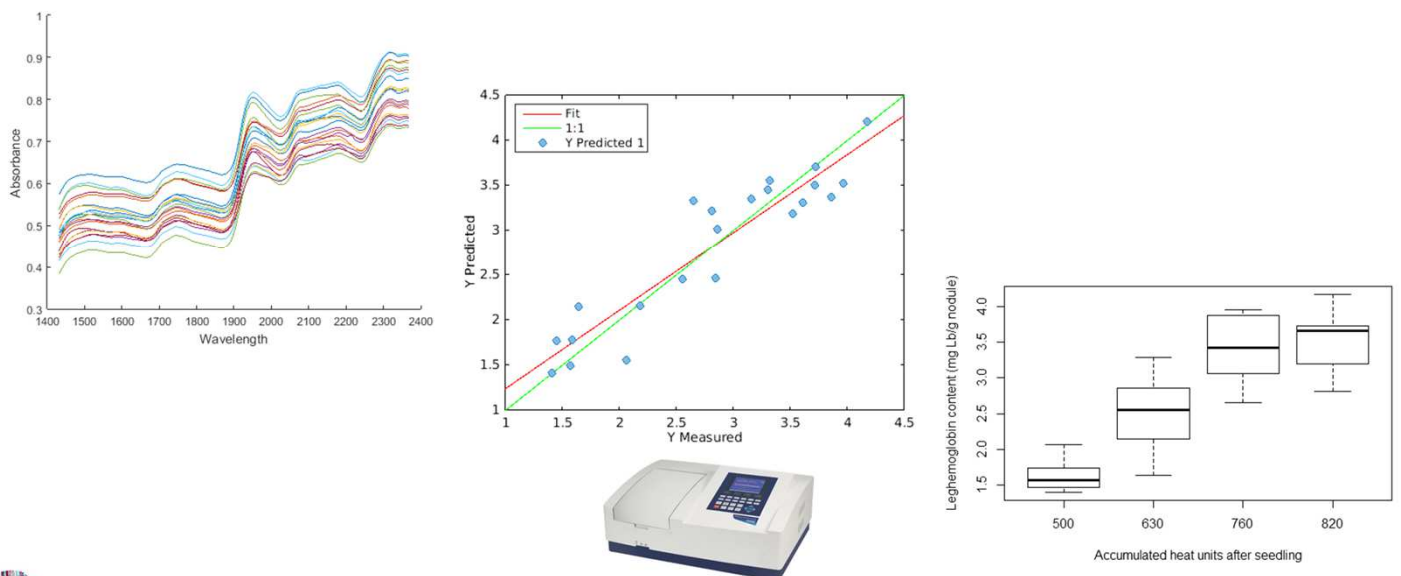
Application 5: quantification de la leghémoglobine de nodosités de pois



Dans la continuité de ces essais sur le pois, nous nous sommes aussi intéressés à la quantification de la leghémoglobine. Cette molécule présente au sein des nodosités préserve la nitrogénase de l'oxydation et est un bon indicateur de l'activité fixatrice d'azote de ces nodosités.

La leghémoglobine a un spectre spécifique qui permet de discriminer les nodosités et les racines de pois. De plus, l'intensité de ce spectre est corrélée à la quantité de leghémoglobine présente au sein de ces nodosités.

Application 5: quantification de la leghémoglobine de nodosités de pois

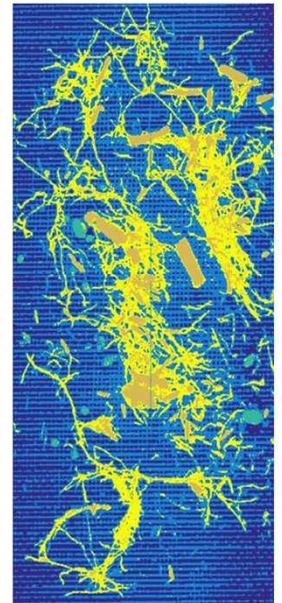


En associant les valeurs d'absorbance obtenues sur des nodosités de pois à leur teneur en leghémoglobine mesurées au laboratoire par spectrophotométrie, il a été possible d'établir une droite de régression. Nous avons utilisé cette méthode de quantification pour suivre l'évolution des teneurs en leghémoglobine dans des nodosités récoltées sur des racines de pois en début de croissance.

Résultats adaptés du travail d'étudiants réalisé en 2016 par Doudet A., Druart F., Machiels L., Sougnez A. et Torfs M. sous la supervision de Eylenbosch D., Fernandez Pierna J.A., Baeten V., Delaplace P., du Jardin P. et Bodson B. (Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège).

Conclusions

- **Avantages**
 - Rapidité et facilité de traitement des échantillons
 - Discrimination et quantification d'éléments de natures différentes
 - Aucun réactif nécessaire
- **Opportunités**
 - Suppression du tri manuel
 - Calcul de densités racinaires (g/dm^3)
 - Comparaison de systèmes, dates, horizons de sol
 - Discrimination d'espèces (blé – pois)
 - Quantification de composés (leghémoglobine)



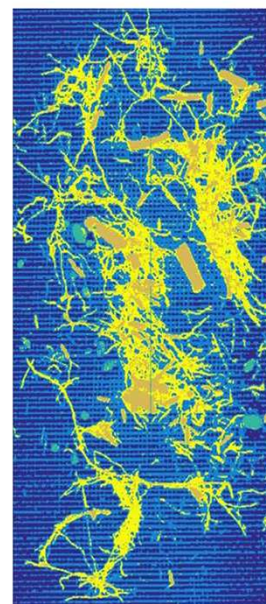
La diversité de ces applications montre les avantages et les opportunités offertes par l'imagerie hyperspectrale proche infrarouge dans les études sur les systèmes racinaires réalisées en champs.

En effet, cette méthode est plus rapide que le tri manuel et le traitement des échantillons est facilité, elle permet la discrimination et la quantification d'éléments de nature différente et la quantification de composés et elle ne nécessite aucun réactif. Elle permet donc de calculer des densités racinaires dans le cadre de comparaison de systèmes, de suivi au cours du temps ou au sein de différents horizons de sol. Elle permet aussi de faire la discrimination et la quantification de racines de différentes espèces.

Enfin, elle permet de mesurer la composition d'organes du système racinaire tels que les nodosités chez le pois.

Conclusion

- **Limites**
 - **Travail de calibration et validation des modèles**
 - **Coût de la camera**
 - **Confusion entre classes spectrales**
 - **Perte d'info par recouvrement des éléments**



Cette méthode a cependant aussi des limites telles que:

- Le travail nécessaire à la calibration et à la validation des modèles;
- Le coût de la caméra hyperspectrale;
- La confusion qui peut exister entre les classes spectrales menant à une mauvaise classification des pixels;
- La perte d'information due au recouvrement des éléments sur les images.

Ce n'est donc pas une méthode miraculeuse mais nous espérons qu'elle pourra aider à mieux comprendre le développement des systèmes racinaires, cette partie cachée des cultures.

Merci pour votre attention

