

Les avancées pratiques du phénotypage haut débit au champ

Au cours de cette thèse nous nous intéresserons aux différentes mesures possibles utilisant le spectre électromagnétique allant de 400nm à 2500nm. De nombreux capteurs utilisent cette gamme spectrale: les appareils photo numériques classiques (mesurant dans le rouge, le vert et le bleu), les spectromètres, les caméras hyper-spectrales. Nous présenterons rapidement les grandeurs physiques utilisées. Nous décrirons ensuite les principales mesures effectuées dans ce travail de thèse orienté vers le phénotypage haut débit. Nous évaluerons ensuite les caractéristiques et la qualité des méthodes d'interprétations permettant d'aller de la mesure à la variable phénotypique d'intérêt. Cela nous permettra d'évaluer l'héritabilité des traits phénotypiques mesurés dans une étude préliminaire. Enfin nous essayerons d'identifier toutes les améliorations nécessaires dans la chaîne de production des variables phénotypiques, aussi bien au niveau de l'acquisition qu'au niveau du traitement des données.

2.1 Les mesures optiques pour le phénotypage haut débit

2.1.1 Généralités sur les mesures « optiques »

Pour mesurer les propriétés réfléchives d'un objet ou d'une surface dans le spectre électromagnétique allant de 400nm à 2500nm, il faut un système composé d'une source et d'un récepteur. Dans cette partie nous allons analyser rapidement les différentes alternatives pour réaliser de telles mesures, puis mettre en évidence les spécificités des mesures réalisées à l'échelle de l'organe (feuille) et à celle du couvert.

2.1.1.1 Sources et capteurs

Dans ce travail nous nous bornerons à l'étude des propriétés diélectriques des plantes, de sol, et des matériaux servant de références. Aucun de ces objets n'émet de rayonnement de manière significative dans la gamme spectrale étudiée (en dehors des phénomènes de fluorescence). Par contre ils peuvent réfléchir, transmettre et absorber un rayonnement incident. Ainsi tous les dispositifs étudiés dans ce travail sont caractérisés par une source lumineuse et un récepteur mesurant le flux lumineux réfléchi ou transmis par l'objet que l'on cherche à caractériser.

La source lumineuse fournit une onde électromagnétique ou un flux de photons, les deux concepts étant associés à des méthodes de calcul différentes. Dans ce travail nous considérerons principalement la source lumineuse comme émettant un flux de photons. Il serait cependant intéressant d'utiliser la polarisation de la lumière comme information supplémentaire sur l'objet étudié, qui doit être alors abordée au travers de la théorie électromagnétique. La source la plus classique en télédétection est le soleil. On parle alors de mesure 'passive'. Quand on utilise une source artificielle, on parle de mesure 'active'. De nombreuses technologies (lampe incandescente, lampe à arc xénon, LED ...) permettent de jouer à la fois sur la puissance émise, la directionnalité ainsi que la composition spectrale de la source.

Le récepteur désigne un système qui mesure un flux lumineux. Schématiquement il est composé d'un capteur sensible au flux lumineux et le transforme en signal électrique. Les capteurs les plus classiques sont les matrices CCD (Charge Coupled Device) ou CMOS, et les photodiodes. Le flux lumineux est ensuite converti en valeur numérique grâce à un convertisseur analogique-numérique. C'est cette valeur qui sera considérée comme le signal brut. Etant donné qu'un récepteur est en général sensible au nombre de photons reçus par unité de surface et de temps, la mesure sera sensible au temps d'exposition au flux incident.

Il est possible de jouer sur les caractéristiques spectrales de la source et du récepteur pour mesurer des phénomènes particuliers comme la fluorescence : le flux absorbé à une certaine longueur d'onde (celle de la source) sera alors réémis dans une longueur d'onde de plus grande longueur

d'onde (celle du correspondant au récepteur). De même il est possible de jouer sur les directions du capteur et de la source (quand elle est artificielle) pour mieux la cible.

2.1.1.2 Les configurations de mesures

Trois configurations permettent de décrire les propriétés du rayonnement incident ou réfléchi.

- La première configuration correspond à un **rayonnement complètement directionnel** reçu et réfléchi par un seul point. Dans les faits seul un laser s'approche de cette définition. Un miroir idéal est capable de réfléchir de manière complètement directionnelle un rayonnement lui-même directionnel. Pratiquement dans la communauté de télédétection, les chercheurs estiment que cette configuration est idéale et utile pour la modélisation. Toutefois, cette hypothèse de rayonnement ponctuel et collimaté dans les directions d'incidence et de réflexion n'est jamais entièrement vérifiée pour la mesure (Schaepman-Strub et al. 2006). Il suffit de deux angles pour définir chacune des directions : l'angle zénithal θ , défini dans un plan vertical, et l'azimut φ , défini dans un plan horizontal.
- La seconde configuration correspond à un **rayonnement conique**. C'est ce que délivre la plupart des sources lumineuses, et c'est aussi dans cette configuration que les récepteurs récupèrent la lumière pour la mesure. Dans ce cas on doit ajouter un angle solide ω caractérisant chaque direction.
- Le troisième type de rayonnement est un **rayonnement hémisphérique** ou diffus. On considère alors que le rayonnement provient de toutes les directions. Les trois configurations sont décrites dans la Figure 5.

En se basant sur ces configurations, il est possible de définir différentes grandeurs correspondant à une combinaison particulière de la configuration d'incidence et de réflexion. (Nicodemus 1977). Les différentes combinaisons utilisées dans cette thèse sont décrites ci-dessous :

- **BRDF** : Bi-Directional reflectance function, en français fonction de réflectance bidirectionnelle.. Nicodemus définit la BRDF (aussi noté f_r) comme le rapport entre la luminance (radiance en anglais) réfléchié dans un angle solide donné [$W m^{-2} sr^{-1}$] et l'éclairement incident (irradiance en anglais) en [$W m^{-2}$]. Ainsi la BRDF s'exprime en l'inverse de stéradian (sr^{-1}). Il est possible dans des conditions de laboratoire très rigoureuses de mesurer une BRDF, même si certains auteurs préfèrent dire que c'est une BCRDF (le C étant pour conical, ainsi l'angle solide est explicité). La BRDF est fonction de l'orientation de la source (θ_i, φ_i) , de l'orientation du capteur (θ_r, φ_r) et de la longueur d'onde λ .
- **BRF** : Bi-directional reflectance factor. Voici une traduction de la définition de Nicodemus : « Un facteur de reflectance est défini comme le rapport entre le flux réfléchi par la surface d'un échantillon et celui qui serait réfléchi dans exactement les mêmes configurations par une surface de référence idéale et parfaitement diffuse (lambertienne) éclairée par une source en tout point identique. ». La BRF est souvent noté ρ et est sans unité. Comme la BRDF elle est fonction de $(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r; \lambda)$. Les auteurs pointilleux ajoutent avec raison un angle solide à la fois pour la source ω_i et pour le récepteur ω_r . La plupart du temps la on se ramène à une mesure de BRF en utilisant une surface de référence. Si la surface de référence est considérée comme lambertienne (hypothèse qui souvent ne peut pas être faite) la BRF d'une surface, ρ_{surf} , peut se mesurer de la manière suivante :

$$\rho_{surf} = \frac{Signal_{surf}}{Signal_{réf\acute{e}rence}} \rho_{réf\acute{e}rence}$$

La BRF est reliée à la BRDF par le coefficient π : $\rho = \pi f_r$

- **HDRF** : Hemispherical Directional reflectance function . Qualifie la réflectance directionnelle d'un objet quand la source est hémisphérique. Cette mesure est sans unité. La HDRF peut à la fois être directement mesurée (via un éclairement diffus) ou calculée à partir de la mesure de la variation directionnelle de la BRDF ou de la BRF:

$$HDRF(\theta_r, \varphi_r) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} BRDF(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) \cos(\theta_r) \sin(\theta_r) d\theta_r d\varphi_r$$

Lorsque le ciel est nuageux et que l'on ne distingue plus les ombres, on peut considérer que le flux incident est hémisphérique.

- **DHRF** : Directional Hemispherical reflectance function. C'est la réflectance hémisphérique issue d'une source directionnelle. C'est typiquement la mesure issue d'une sphère intégrante utilisée pour mesurer les propriétés optiques des feuilles.

$$DHRF(\theta_i, \varphi_i) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} BRDF(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) \cos(\theta_i) \sin(\theta_i) d\theta_i d\varphi_i$$

On peut noter que la loi du retour inverse de la lumière entraîne une réciprocité entre les directions de la source et de la visée:

$$BRDF(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = BRDF(\theta_r, \varphi_r; \theta_i, \varphi_i)$$

Si $(\theta_i, \varphi_i) = (\theta_r, \varphi_r) \xrightarrow[\text{alors}]{} DHRF(\theta_i, \varphi_i) = HDRF(\theta_r, \varphi_r)$

Dans le cas d'une surface lambertienne (hypothèse souvent utilisée à tort pour les références) on a de plus: $\forall(\theta, \varphi) \quad DHRF(\theta_1, \varphi_1) = HDRF(\theta_2, \varphi_2) = \rho(\theta_3, \varphi_3; \theta_4, \varphi_4)$

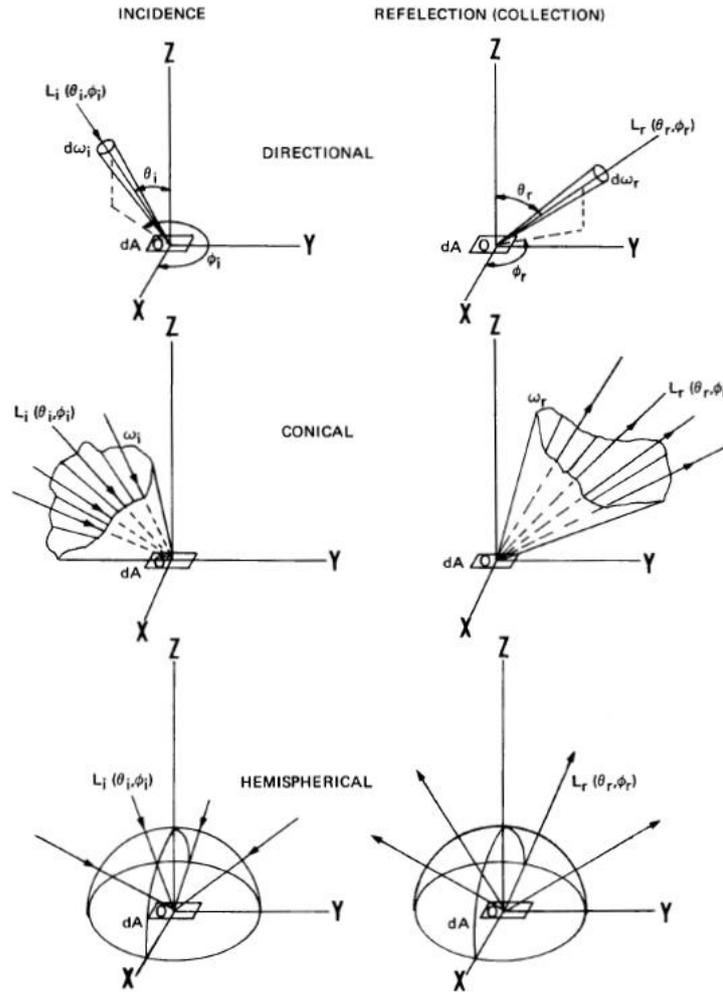


FIGURE 3. Designations for denoting incident and reflected (collected) beam geometry.

FIGURE 5: LES DIFFERENTES CONFIGURATIONS DE MESURES SELON NICODEMUS 1977.

2.1.1.3 Etalonnage des références

Dans la pratique, seules des mesures de BRF sont facilement réalisables, sauf dans le cas de mesures effectuées avec une sphère intégrante ou l'on accède à la DHRF. Dans ces deux cas il est nécessaire de disposer d'une surface de référence à la BRF ou DHRF parfaitement connue pour transformer le signal mesuré par le capteur en grandeur physique.

Différentes références peuvent être nécessaires pour réaliser des mesures de BRF ou de DHRF au niveau du couvert ou de la feuille. Une première référence doit être adaptée aux contraintes de la mesure au champ: elle doit être robuste, ne pas craindre les rayons du soleil et être facilement nettoyable. Une autre référence ayant à la fois des caractéristiques connues de réflectance et de transmittance est nécessaire pour pouvoir notamment caractériser les spectres de feuilles. Dans les deux cas, afin de ne pas saturer le signal, les caractéristiques spectrales de la référence doivent être proches de celles des surfaces cibles c'est à dire de celle du couvert végétal ou de celle de la feuille

Les références doivent être le plus lambertienne possible afin de simplifier l'interprétation de la mesure quand la géométrie d'éclairage change. Or les surfaces utilisées comme référence et considérées comme les plus lambertiennes conservent des propriétés directionnelles fortes comme le montre la Figure 6. Il nous faut donc les caractériser pour pouvoir les corriger. Ainsi nous avons besoin de connaître la BRF pour toutes les directions d'incidence et de visée considérées lors de la mesure. Pour contraindre le problème nous considérerons que soit la source soit le capteur est au Nadir, et que la référence n'a pas d'anisotropie azimutale, ce qui est en général vérifié.

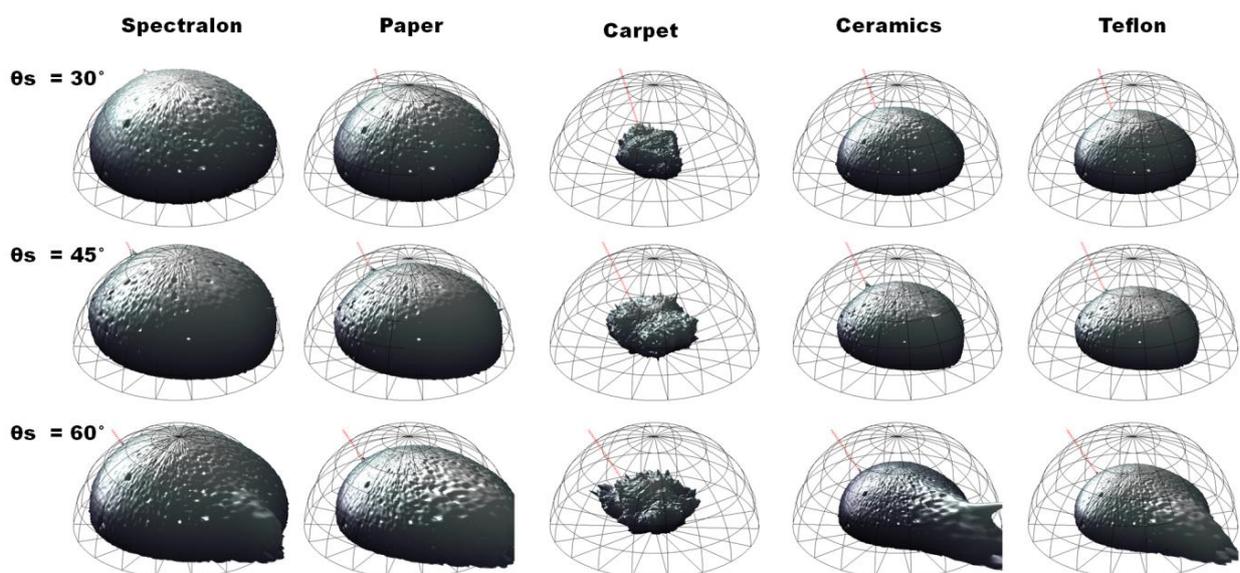


FIGURE 6: REPRESENTATION 3D DE LA BRF MESUREE POUR DIFFERENTES SURFACE POUVANT SERVIR DE REFERENCE. L'HEMISPHERE EN QUADRILLE CORRESPOND A UNE REFLECTANCE DE 1 (IE SURFACE COMPLETEMENT LAMBERTIENNE). ON PEUT NOTER QUE TOUTES LES SURFACES ETUDIEES : SPECTRALON, PAPIER, MOQUETTE, CERAMIQUE ET TEFLON DIVERGENT D'UNE REFERENCE PARFAITE.

Des surfaces de référence bien caractérisées par des laboratoires de métrologie et d'essai (LNE en France ; NIST aux Etats-Uni) sont disponibles. Ainsi une « référence de transfert » relativement onéreuse peut être acquise pour caractériser une « référence secondaire » utilisée en routine au champ ou pour la mesure de la réflectance des feuilles au laboratoire. Dans la plupart des cas, la référence de transfert est du spectralon caractérisé par sa HDRF. Pour plus de détails sur ces concepts, se référer à (Höpe & Hauer 2010) ou au « technical guide » de labsphere, fabriquant du spectralon, disponible sur leur site internet (www.labsphere.com). La BRF du spectralon dans différentes configurations est donc inconnue, on peut cependant citer les travaux de (Hsia & Weidner 1981) qui tendent à montrer que $HDRF \approx BRF(0^\circ, 45^\circ)$.

La caractérisation à la fois du spectralon et de la référence secondaire a été réalisée avec un goniomètre fabriqué localement. Ce système permet de mesurer la réflectance d'une surface dans différentes géométries de mesure. La Figure 7 montre les différents éléments du goniomètre utilisé. La procédure pour étalonner nos surfaces de référence s'effectue en deux temps:

1. Mesure directionnelle du spectralon avec la source toujours au Nadir (ou l'inverse). Le goniomètre permettant d'échantillonner la gamme angulaire $15^\circ \leq \theta \leq 65^\circ$.
2. Juste après réalisations des mêmes mesures sur la surface de référence pour le champ.

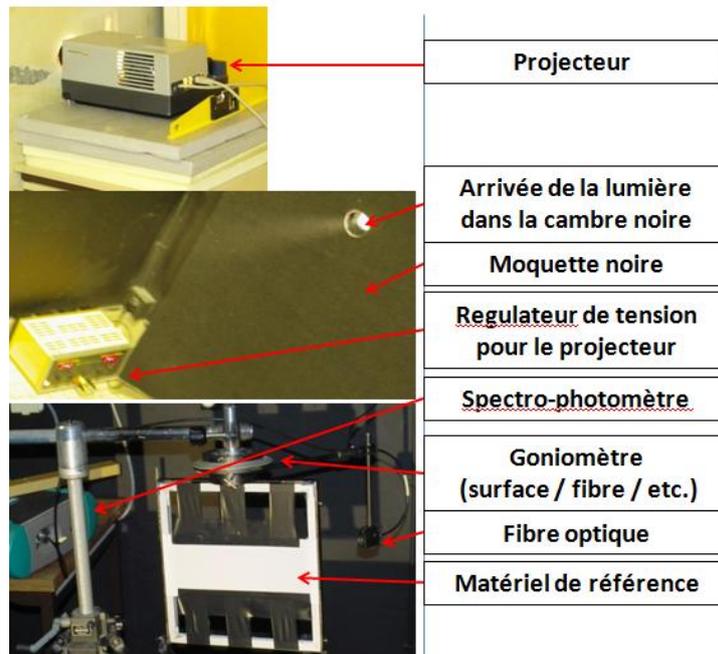


FIGURE 7: SCHEMA DE LA DERNIERE VERSION DU GONIOMETRE UTILISE POUR ETALONNER LES REFERENCES. LA LUMIERE ARRIVE VIA LE PROJECTEUR DANS LA CHAMBRE NOIRE. SOIT LA SURFACE (VARIATION D'ANGLE D'INCIDENCE), SOIT LA FIBRE (VARIATION D'ANGLE DE REFLEXION) CORRESPONDANT AU RECEPTEUR PEUVENT EFFECTUER DES ROTATIONS AFIN DE CHANGER LA CONFIGURATION DE MESURE.

Le traitement des données a été le suivant :

1. Le signal directionnel du spectralon enregistré par le spectromètre a été modélisé à l'aide des polynômes de Legendre pour calculer l'intégralité du signal.

$$Signal_{\lambda}(\theta) = \alpha(a + b\cos(\theta) + \frac{3}{2}c \cdot (\cos(\theta)^2 - 1) + \frac{d}{2}(5 \cdot \cos(\theta)^5 - 3 \cos(\theta)))$$

Les paramètres a, b, c, d sont ajustés aux mesures. θ est l'angle du récepteur par rapport au nadir.

2. Ce modèle est intégré angulairement pour en déduire un signal hémisphérique :

$$Signal_{\lambda}^{hemispherique} = \frac{\int_0^{\pi} Signal(\theta) \cdot \cos(\theta) \cdot \sin(\theta) d\theta}{\int_0^{\pi} \cos(\theta) \cdot \sin(\theta) d\theta}$$

Les propriétés des polynômes de Legendre permettent d'écrire :

$$Signal_{\lambda}^{hemispherique} = \alpha(a + (2/3)b + (1/4)c)$$

3. Ce signal moyen hémisphérique est comparé avec la DHRF du spectralon fourni par le constructeur, et permet de convertir le signal mesuré en BRDF. Ainsi le coefficient de passage s'écrit :

$$Coeff_{\lambda} = \frac{HDRF_{\lambda}}{Signal_{\lambda}^{hemispherique}}$$

Et la BRDF est déduite du signal :

$$BRDF_{\lambda}(0, \theta^{\circ}) = Signal_{\lambda}(\theta) \times Coeff_{\lambda}$$

Cette méthode nécessite de poser plusieurs hypothèses :

- La première est celle du principe d'Helmholtz ou de réciprocity ou du retour inverse de la lumière. Ce principe, vrai pour un rayon touchant une surface élémentaire est probablement faux sur notre système de mesure (ouverture de 8° de la fibre optique éloignée de 30 cm de la surface, rayons issus d'un projecteur non parfaitement collimaté, etc.). Cette hypothèse permet d'écrire en particulier : $HDRF(0^\circ) = DHRF(0^\circ)$.
- La seconde hypothèse suppose que la HDRF du spectralon est constante quelle que soit la direction d'incidence, hypothèse plausible selon (Weidner & Hsia 1981).
- La troisième hypothèse est que la modélisation paramétrique des polynômes de Legendre, qui simulent la variation directionnelle du signal soit correcte.

De nombreux problèmes que nous ne détaillerons pas ici ont été rencontrés sur ces hypothèses, et montrent que l'étape d'étalonnage d'une référence de terrain est toujours un exercice difficile.

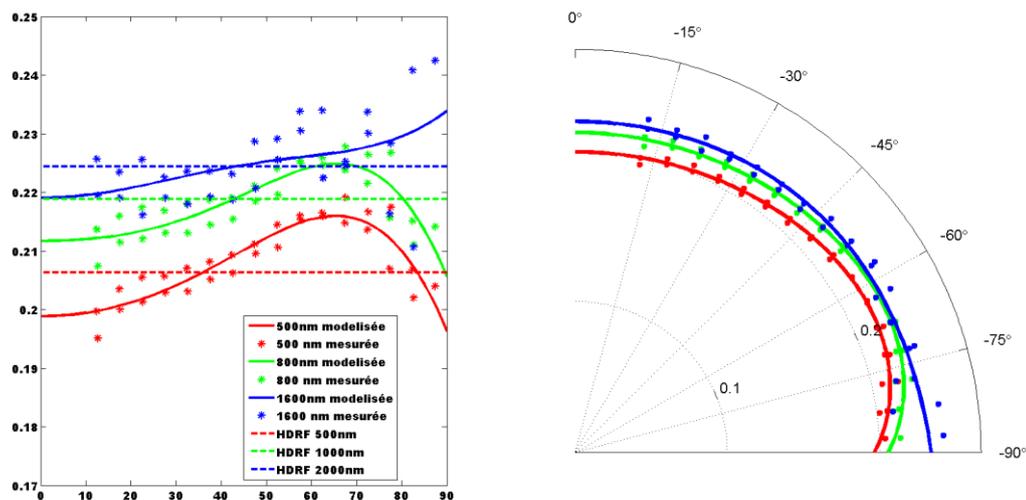


FIGURE 8 : EXEMPLE DE MESURES REALISEES AVEC LE GONIOMETRE "MAISON" SUR LA MOQUETTE DE REFERENCE UTILISEE POUR LA CAMPAGNE 2011 ET 2012 A TOULOUSE.

La première surface référence que nous avons utilisée est une plaque de PVC que nous avons spécialement poncé afin de la rendre plus matte (et donc plus lambertienne). Malheureusement elle a été détruite après la première campagne de mesure et nous avons ensuite décidé d'utiliser de la moquette grise. Cette dernière présentait une meilleure lambertiannité mais les mesures effectuées ne respectaient pas parfaitement le principe d'Helmholtz. Dans tous les cas comme le montre bien la Figure 8, aucune référence n'est parfaite, mais il est possible de bien décrire leur BRF, ce qui est nécessaire et suffisant.

2.1.2 Les mesures sur feuille

Considérons deux dispositifs de mesure correspondant à des configurations utilisées dans mon travail de thèse représenté sur la Figure 9.

- Le premier est constitué d'une sphère intégrante permettant de réaliser des mesures en réflectance et en transmittance.
- Le second est constitué d'une pince permettant d'éclairer la feuille au nadir et de mesurer le signal réfléchi ou transmis à l'aide d'une fibre positionnée à 45° d'angle zénithal à la fois en réflectance et en transmittance.

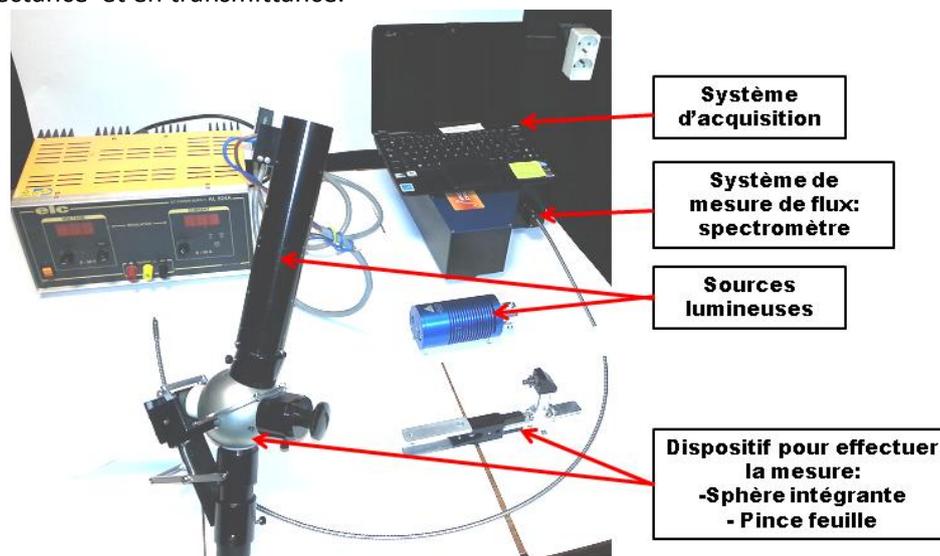


FIGURE 9: DISPOSITIFS DE MESURE DES FEUILLES UTILISES AUX COURS DE MES TRAVAUX DE DOCTORAT

Dans le cas de la sphère intégrante, on mesure soit une DHRF (pour la réflectance) soit une DHTF (Directional Hemispherical Transmittance Factor pour la transmittance). Cette configuration de mesure présente l'immense avantage de pouvoir calculer l'absorbance, $A(\lambda)$, de la feuille grâce à la loi de conservation de l'énergie:

$$A(\lambda) = 1 - DHRF(\lambda) - DHTF(\lambda)$$

Il est cependant intéressant de noter que l'absorption peut varier en fonction de la direction de la source. A notre connaissance, aucune étude sur le sujet n'a encore été menée. L'étalonnage de la sphère intégrante en réflectance est relativement aisée et standardisée : une surface de référence (aujourd'hui le spectralon commercialisé par Labsphere qui est du polytétrafluorethylène (PTFE) est la surface de référence utilisée par la majorité des chercheurs) est mesurée et à une HDRF connue. Il suffit alors de corriger le signal en réflectance par :

$$DHRF_{feuille}(\lambda) = \frac{S_{feuille}^{reflectance}(\lambda)}{S_{standard}^{reflectance}(\lambda)} * HDRF_{standard}(\lambda)$$

Cependant il existe différentes méthodologies pour calibrer l'appareil en transmittance. Le méga projet Spectranomics (<http://spectranomics.stanford.edu/>) qui a pour but d'enregistrer le spectre des feuilles de toutes les plantes tropicales, déplace la source de la sphère qui était en position verticale en réflectance en position horizontale en transmittance. Ainsi la formule précédente fonctionne toujours car le signal de référence est enregistré en réflectance et le signal de la feuille en transmittance :

$$DHTF_{feuille}(\lambda) = \frac{S_{feuille}^{transmittance}(\lambda)}{S_{standard}^{reflectance}(\lambda)} * HDRF_{standard}(\lambda)$$

C'est ici la même source lumineuse qui est utilisée dans la même configuration pour les deux mesures.

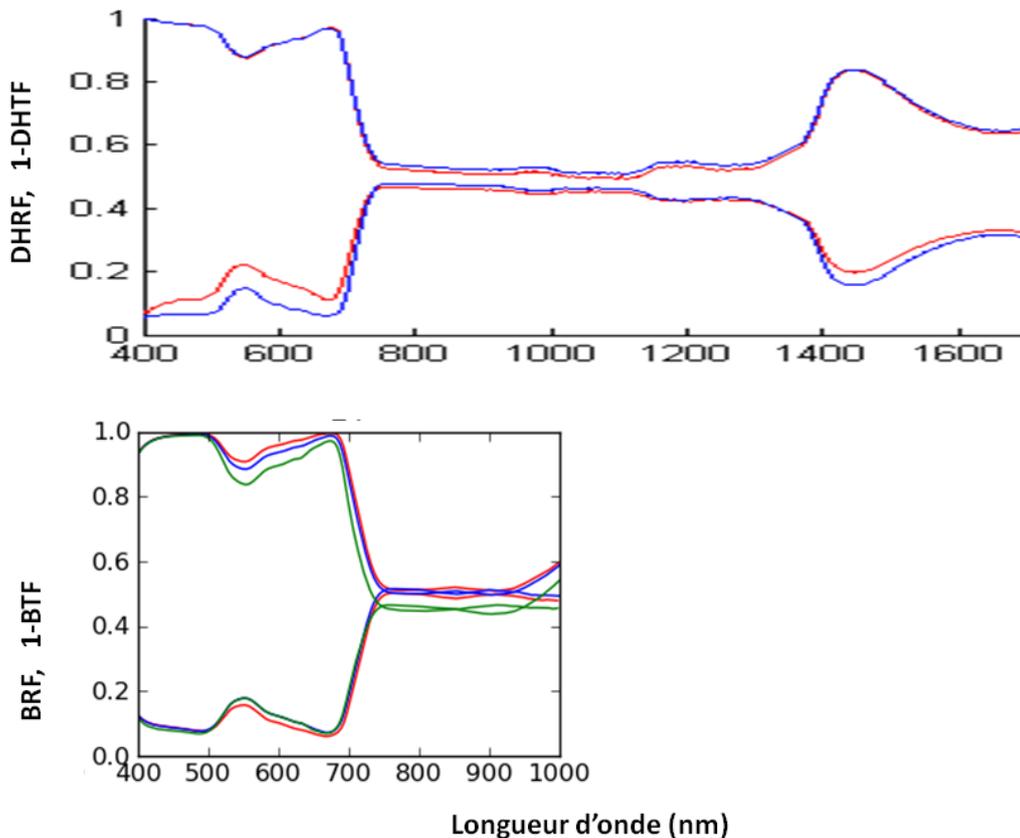


FIGURE 10: ILLUSTRATION DE LA DIFFERENCE ENTRE DHRF ET BRF. DANS LA FIGURE DU HAUT, LES SPECTRES DE DHRF ET 1-DHRF SONT ISSUS D'UNE FEUILLE D'ABRICOTIER SONT ACQUIS A L'AIDE D'UNE SPHERE INTEGRANTE LICOR ET D'UN SPECTROMETRE LABSPEC (ASD). EN BLEU FIGURE LE SPECTRE MESURE SUR LA FACE SUPERIEUR, EN ROUGE SUR LA FACE INFERIEUR. IL EST INTERESSANT DE NOTER QUE L'ABSORBANCE N'EST PAS LA MEME DANS LES DEUX CAS. DANS LA FIGURE DU BAS LES SPECTRES DE BRF ET 1-BTF SONT ISSUS DE TROIS POSITION DIFFERENTES SUR UNE FEUILLE DE BLE SONT ACQUIS A L'AIDE DE LA PINCE ET D'UN SPECTROMETRE JAZ (OCEAN OPTICS). REMARQUEZ COMMENT A CERTAINES LONGUEURS D'ONDES BRF + BTF >1, CHOSE IMPOSSIBLE EN DHRF ET DHTF.

L'approche que nous avons adoptée est différente : on se base sur une référence étalonnée en transmittance par nos soins en utilisant le travail de (Verney-Carron 2002). Dans ce cas nous réalisons une mesure de référence et connaissons la HDTF de la référence. On peut alors calculer la DHTF de l'échantillon :

$$DHTF_{feuille}(\lambda) = \frac{S_{feuille}^{transmittance}(\lambda)}{S_{standard}^{transmittance}(\lambda)} * HDTF_{standard}(\lambda)$$

Dans le cas de la pince, nous mesurons des BRF et des BTF (Bi-directional Transmittance Distribution Function). Dans ce cas, il n'est pas possible de calculer une absorbance, la loi de conservation de l'énergie ne s'appliquant pas à des flux directionnels comme démontré sur la Figure 10. Cette pince a l'avantage d'être plus facilement transportable au champ. Une mesure de BRF de la référence est effectuée pour transformer le signal en grandeur physique.



FIGURE 11: PINCE SPECTROCLIP D'OCEAN OPTICS QUI INTEGRE DE MINI SPHERE INTEGRANTE POUR REALISER DES MESURES DE DHRF ET DE DHTF SUR LA FEUILLE. MALHEUREUSEMENT CETTE PINCE N'EST PAS ENCORE AU POINT: NOUS L'AVONS TESTE ET N'AVONS PAS REUSSI A OBTENIR UN SPECTRE DE FEUILLE EXPLOITABLE.

Notons que des entreprises telles qu'Ocean optics (www.oceanoptics.com) ont développé des pinces permettant la mesure hémisphérique des propriétés foliaires. J'ai eu l'occasion de les tester et de m'apercevoir qu'elles souffrent de nombreuses déficiences. En effet une sphère intégrante nécessite un flux lumineux très important. Il faut ainsi être capable de dimensionner correctement à la fois la sphère intégrante, la source et le récepteur ce qui n'était pas le cas du système testé.

2.1.3 Les mesures spectro-radiométriques à l'échelle du couvert

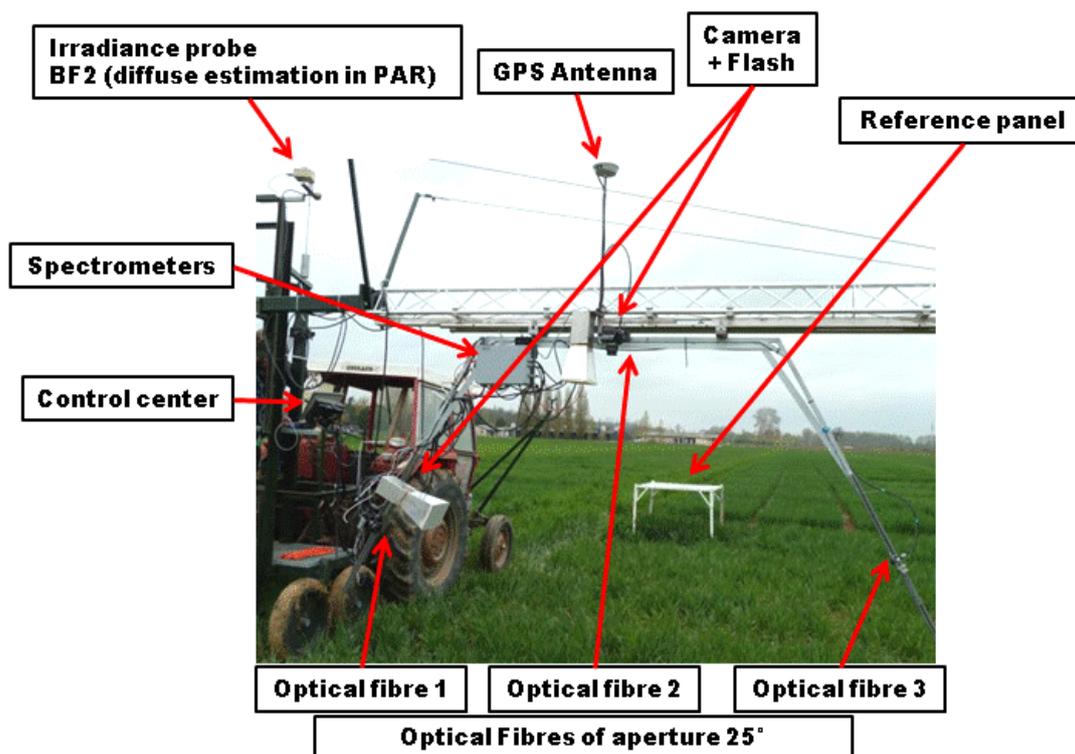


FIGURE 12: IMAGE DECRIVANT LE DISPOSITIF DE MESURE BAPTISE « PHENOARCHE » QUI A SERVIT A L'ACQUISITION DES MESURES A L'ECHELLE DU COUVERT.

Les mesures à l'échelle du couvert présentent différentes difficultés qui m'ont occupé pendant une bonne partie de ma première année de thèse. L'étalonnage du spectromètre doit prendre en compte la directionnalité du rayonnement incident qui est en partie (ou complètement) diffusé par l'atmosphère. Il faut donc être capable de caractériser la fraction diffuse associée à chacune des

mesures. Une autre difficulté a été d'automatiser la procédure d'acquisition et de nommage des fichiers, en se basant sur le positionnement de l'arche. Il est à noter que je ne me suis occupé de manière très modeste de la partie « acquisition photo » qui a été prise en charge majoritairement par Benoit de Solan.

La PhénoArche est le premier prototype expérimental développé pour réaliser des mesures sur des micro-parcelles au champ. Il est composé d'un vecteur : un tracteur tirant un charriot sur lequel une arche supportant les capteurs est posée sur un rail horizontal à environ 1.5 m au-dessus du couvert. Les capteurs constitués par des appareils photographiques numériques RGB fonctionnant avec flashes (système actif), et de spectrophotomètres reliés à des fibres utilisant la lumière ambiante. Un GPS RTK (précision centimétrique) permet de connaître précisément la position des mesures et de les déclencher automatiquement à l'approche d'une position de mesure préalablement définie. D'autres capteurs permettent de prendre en compte l'environnement dans lequel l'arche évolue. Un système d'acquisition permet d'enregistrer automatiquement les différentes mesures du système. Notons que le traitement des données n'est pas réalisé lors de l'acquisition mais lors d'une phase de post-traitement. Le système tel qu'utilisé à Toulouse lors des campagnes 2011 et 2012 est représenté sur la Figure 12. Détaillons plus précisément les trois principales composantes du système : le vecteur, les capteurs et le système d'acquisition.

2.1.3.1 Le vecteur

Le vecteur est composé d'un tracteur et d'un charriot sur lequel une arche peut être fixée et se déplacer latéralement le long du rail horizontal. Le vecteur n'est pas du tout automatisé : il faut conduire le tracteur, ajuster la hauteur du rail et déplacer l'arche sur le rail horizontal pour qu'elle soit latéralement bien positionnée par rapport aux parcelles. Un deuxième prototype a été construit pour équiper la plateforme expérimentale de Chalons sur Saône. Ce deuxième prototype est composé de deux arches qui sont contrôlées par un seul système d'acquisition.

2.1.3.2 Les capteurs

On distingue deux types de capteurs: les capteurs de phénotypage et les capteurs auxiliaires permettant de caractériser l'environnement dans lequel évoluent les capteurs de phénotypage. Il est cependant important de posséder toutes ces informations pour interpréter les mesures.

Les capteurs de phénotypage sont constitués

- de deux appareils photos numériques couleur, l'un au Nadir l'autre à 57° fonctionnant à l'aide de flashes diffusants.
- de 3 spectrophotomètres disposés au Nadir et à 57° de part et d'autre de l'arche. Les mesures à 57° sont conçues pour mesurer perpendiculairement à l'axe de semis. Cela permet de limiter les effets de structures du couvert sur la mesure.

Les capteurs auxiliaires sont les suivants :

- un GPS pour le positionnement et le déclenchement des mesures,
- un spectrophotomètre mesurant l'irradiance du ciel,
- un BF2 caractérisant la fraction diffuse de l'éclairement.
- un inclinomètre pour vérifier l'inclinaison des capteurs
- un anémomètre pour vérifier la force du vent

Notons que les deux derniers capteurs auxiliaires ont été ajoutés pour la saison 2012.

2.1.3.3 Le système d'acquisition

Le système d'acquisition a été mis au point par Fabrice Daumard de l'équipe Fluorescence du Laboratoire de Météorologie Dynamique et s'appelle « AcqPhen ». Il consiste à déclencher automatiquement des mesures lorsque l'arche est positionnée à un endroit prédéfini dans la

parcelle. Il permet donc une certaine communication entre les différents capteurs via un ordinateur. Les données acquises sont enregistrées de manière claire et traçable pour pouvoir être facilement exploitées. Le système gère également la synchronisation des appareils photos avec le flash, et la procédure d'étalonnage des spectromètres.

Même si l'acquisition est entièrement automatisée, il faut qu'un opérateur surveille le processus car le système étant fragile, un câble déconnecté, une surtension ou un bug peut se produire à tout moment. De plus, la position de l'Arche par rapport au rail n'est pas gérée automatiquement : il faut donc vérifier son positionnement régulièrement. C'est pour ces raisons que nous considérons l'acquisition comme « semi-automatique » : normalement le système d'acquisition gère automatiquement l'ensemble de la procédure, mais un opérateur est obligé de vérifier le bon déroulement de cette dernière.

2.1.3.4 La chaîne de « post traitement »

La chaîne de post traitement est la partie sur laquelle j'ai le plus travaillé. Elle consiste à transformer les mesures brutes (signal du capteur) en grandeurs physiques (BRF) puis en variables plus directement utilisables pour le phénotypage tels que des indices. Nous ne nous étendons pas ici sur le traitement des images issues des appareils numériques. Ce dernier consiste en une procédure de classification automatique des pixels verts, permettant ainsi de mesurer les fractions vertes à 0° et à 57°. Le signal mesuré par les spectro-radiomètres est converti en une BRF qui permet de comparer les propriétés optiques du couvert malgré de très fortes variations du rayonnement incident. La procédure d'étalonnage est la suivante : le spectromètre de l'arche au nadir réalise une mesure au dessus de la surface de référence (une moquette) qui possède une réflectance $R_{actuelle}^{reference}$. Cette dernière est composée de la somme entre la $HDRF_{reference}$ et la $BRF_{reference}$ qui prend en compte l'angle zénithal du soleil θ_s pondérée par la fraction diffuse F_{diff} :

$$R_{actuelle}^{reference}(Nadir, \theta_s, \lambda) = F_{diff}(\lambda) \times HDRF_{reference}(\lambda) + (1 - F_{diff}(\lambda)) \times BRF_{reference}(\lambda)$$

Avec λ la longueur d'onde.

La mesure de BRF du couvert peut ainsi se déduire :

$$BRF_{actuelle}^{couvert}(\theta_v, \varphi_v, \theta_s, \varphi_s, \lambda) = Cal_{57}(\lambda) \frac{Signal_{couvert}^{fibre}(\lambda)}{Signal_{couvert}^{irradiance}(\lambda)} \frac{1 Signal_{reference}^{irradiance}(\lambda)}{Signal_{reference}^{fibre_Nadir}(\lambda)} BRF_{actuelle}^{reference}(Nadir, \theta_s, \lambda)$$

Avec :

- Cal_{57} l'inter-calibration des fibres par rapport à celle au Nadir, ce coefficient vaut 1 pour la fibre au nadir et est déterminé expérimentalement pour les deux fibres à 57°. Ce coefficient dépend des aléas de construction des spectromètres ainsi que des rayons de courbure et de la longueur des fibres.
- $Signal_{reference}^{fibre_Nadir}(\lambda)$ est le signal de la fibre au nadir mise sous la référence
- $Signal_{reference}^{irradiance}(\lambda)$ est le signal de la fibre en irradiance possédant un diffuseur à son extrémité.
- $BRF_{actuelle}^{reference}(Nadir, \theta_s, \lambda)$ est la valeur de la BRF de la référence pour une visée au nadir.

La $BRF_{actuelle}^{couvert}(\theta_v, \varphi_v, \theta_s, \varphi_s, \lambda)$ dépend des configurations de mesures et de la position du soleil. Afin de s'affranchir de la dépendance à la position du soleil et de pouvoir comparer les mesures effectuées sur les différentes micro-parcelles (avec jusqu'à deux heures de différences entre les temps d'acquisition) des hypothèses doivent être posées. Initialement nous voulions prendre en compte des caractéristiques de l'ensoleillement au travers d'un modèle de transfert radiatif. C'est en effet la méthode la plus propre. Nous avons cependant choisi dans un premier temps de gommer

l'effet de l'éclairage en utilisant des méthodes plus empiriques. Ainsi nous avons décidé d'utiliser des indices normalisés qui ont été optimisés pour être relativement insensibles à cet effet.

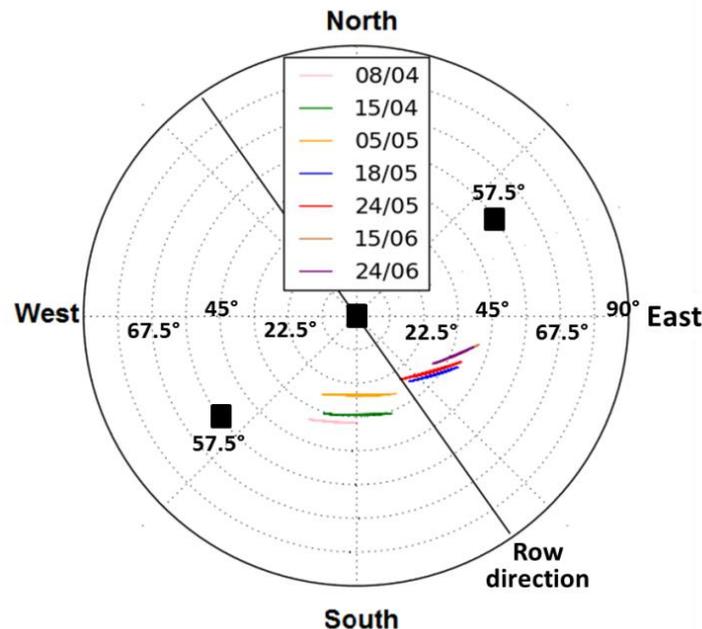


FIGURE 13: DESCRIPTIONS DE LA CONFIGURATION GEOMETRIQUE DES MESURES LORS DE LA CAMPAGNE TOULOUSE 2011. LES CARRÉS NOIRS REPRESENTENT LE POSITIONNEMENT DES FIBRES, LA LIGNE NOIRE LE SENS DES MICRO-PARCELLES (SENS DU SEMI) ET LES LIGNES DE COULEURS LA POSITION DU SOLEIL PENDANT TOUTE LA DUREE DE L'ACQUISITION.

Afin de sélectionner les indices les plus pertinents, nous avons dans un premier temps sélectionné les indices de la bibliographie ayant le plus de potentiels pour caractériser une variable (contenu en chlorophylle, LAI) d'intérêt. Cette sélection bien que rigoureuse ne peut être exhaustive car la littérature regorge d'indices. Une comparaison des différents indices à l'aide de nos mesures a ensuite été menée (Figure 14). L'indice MCARI2 (Haboudane et al. 2004) a finalement été sélectionné comme indicateur de la surface foliaire et le MTCI (Dash & P. J. Curran 2004) comme indicateur de la teneur en chlorophylle. Deux autres indices nous ont interpellés car fournissant une information originale : le CRIGreen (A. A. Gitelson et al. 2006) ainsi que le PRI (Gamon et al. 1997).

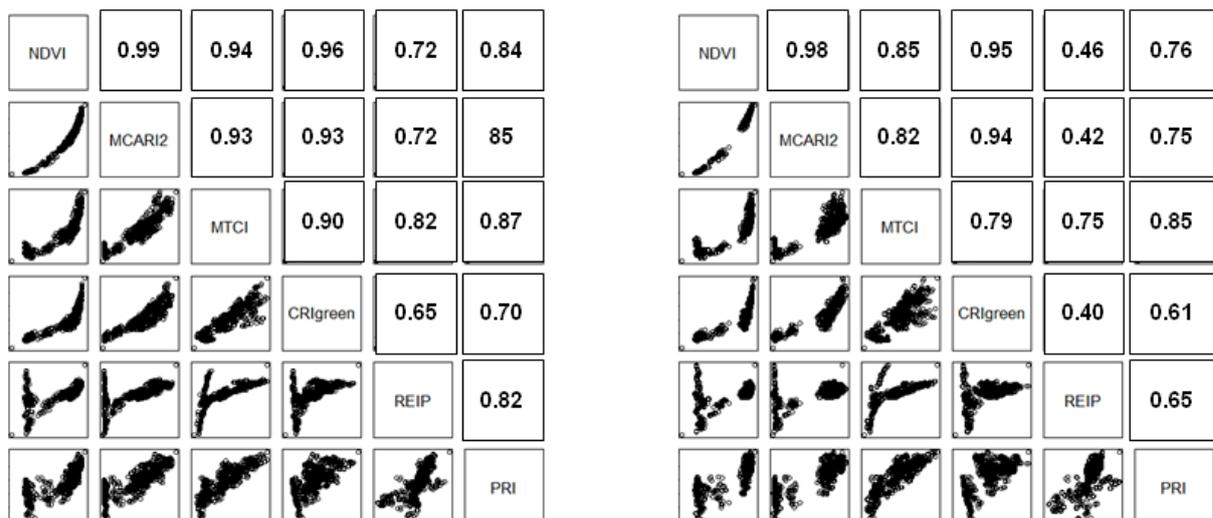


FIGURE 14: CORRELATION ENTRE LES DIFFERENTS INDICES SELECTIONNES DANS LA PRE-ETUDE. LES CHIFFRES CORRESPONDENT A LEUR CORRELATION SUIVANT LE COEFFICIENT DE SPEARMAN (CORRELATION PAR RANG)

La chaîne de traitement des données 2012 inclut une procédure pour éliminer automatiquement les mesures réalisées avec un vent supérieur à 30km/h. Cela a été possible grâce à l'installation de l'anémomètre. En effet le vent perturbe l'architecture du couvert de blé et fausse les mesures.

2.2 L'estimation des constituants biochimiques à l'échelle de l'organe

Dans cette partie nous nous focaliserons la feuille qui est le siège principal de la photosynthèse du couvert et qui est aussi l'organe le mieux 'vu' par les capteurs de phénotypage utilisés ici.

2.2.1 Application aux problématiques du phénotypage haut débit

L'estimation de la teneur en constituants biochimiques à l'échelle de la feuille à l'aide de mesures spectrales a été discutée en introduction. Très peu d'études se sont intéressées à vérifier le fait que les estimations soient pertinentes avec la problématique du phénotypage haut débit. La plupart des travaux relatifs à la réflectance des organes pour le phénotypage (Zhao et al. 2012; Munns et al. 2010) ne discutent pas la stabilité des estimations en fonctions des variétés d'une même espèce, à l'exception de (Fritschi & Ray 2007).

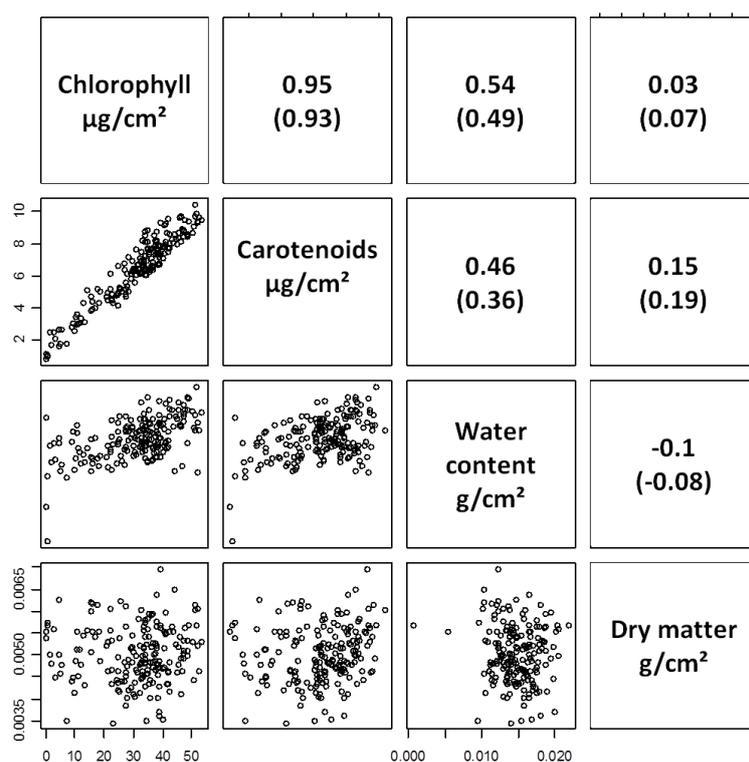


FIGURE 15: CORRELATIONS ENTRE LES VARIABLES OBTENUES DE MANIERE DESTRUCTIVE ET ESTIMABLE VIA PROSPECT. LES CORRELATIONS CORRESPONDENT AU COEFFICIENT DE PEARSON ET ENTRE PARENTHESES AU COEFFICIENT DE SPEARMAN (CORRELATION PAR RANG).

Nous avons ainsi essayé d'évaluer la pertinence d'inverser un modèle basé sur des principes physiques : PROSPECT (S. Jacquemoud & F. Baret 1990) pour le phénotypage des feuilles de blé. Ainsi 312 feuilles issues de 6 variétés ont été analysées. D'abord les relations destructives entre les constituants biochimiques (Chlorophylle, caroténoïdes eau et matière sèche). En effet si les constituants sont très corrélés il sera difficile de les dissocier dans l'inversion du modèle. Ensuite les effets de compensation entre les différents constituants biochimiques dans le signal spectral et donc dans l'inversion sont étudiés. Enfin la capacité à détecter des différences entre variétés et en

comparaison avec les mesures destructives est explorée. Cette étude a fait l'objet d'une soumission dans le journal *Plant Methods* sous le titre « *Using PROSPECT model to retrieve leaf traits from leaf measurements in wheat phenotyping experiments* » et figure en annexe.

Dans un premier temps les variables obtenues de manière destructive et très corrélées entre elles ont été identifiées. Les contenu en eau, contenu en matière sèche et contenu en chlorophylle apparaissent relativement indépendants. Par contre, le contenu en caroténoïdes s'est avéré très corrélés au contenu en chlorophylle. Il est donc probablement inutile d'essayer de les distinguer. En effet ces deux variables biochimiques sont intrinsèquement imbriqués dans le système photosynthétique. On peut donc supposer que la variabilité au sein de l'espèce « blé » du rapport chlorophylle sur caroténoïde est très faible. Il est ainsi pertinent de sélectionner une version de PROSPECT qui ne différencie pas ces deux pigments. C'est le cas de PROSPECT 3 et de PROSPECT 4.

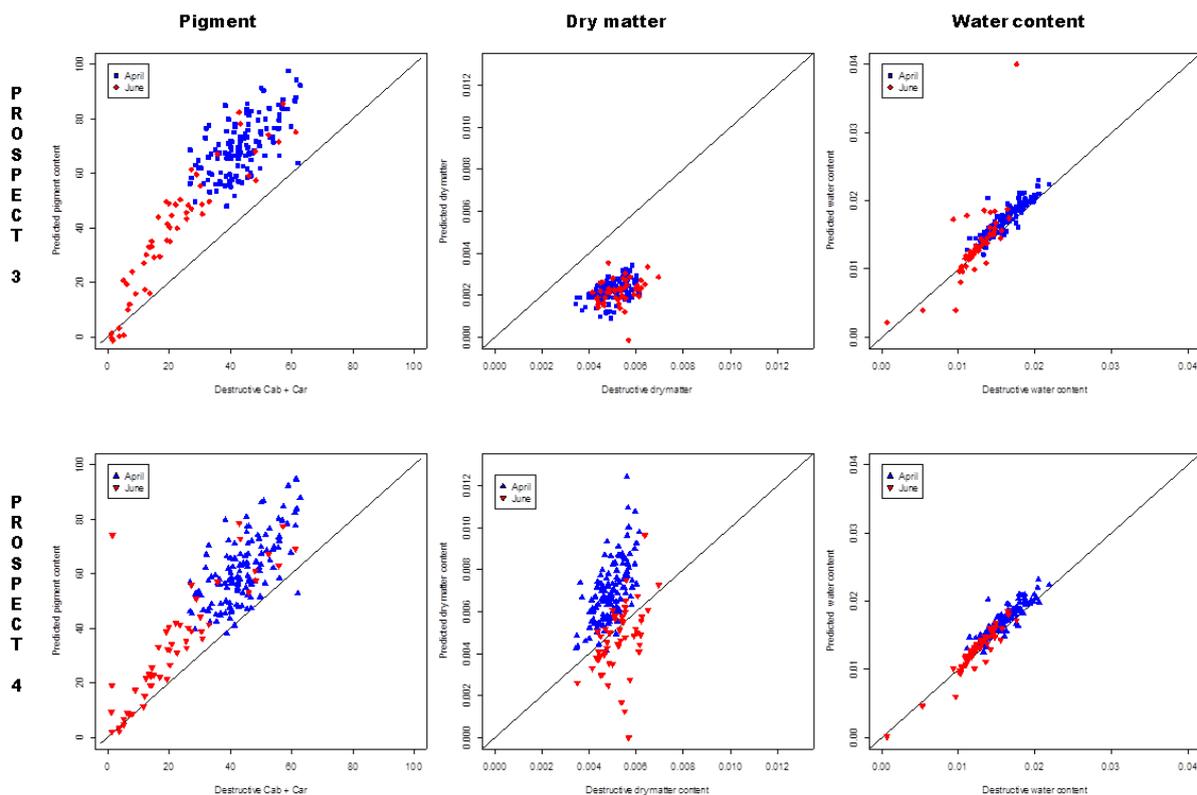


FIGURE 16: ESTIMATIONS VIA MESURES DESTRUCTIVES. LES FEUILLES MESUREES EN AVRIL (FLORAISON) SONT EN BLEU, CELLES MESUREES EN JUIN (REMPLISSAGE) EN ROUGE. CELA PERMET DE CONSTATER QUE LES ESTIMATIONS PROBLEMATIQUES SONT RARES ET LIEES A DES PATRONS DE SENESCENCES MAL PRIS EN COMPTE DANS PROSPECT.

Les principaux résultats sont résumés ci-dessous :

- La qualité de l'inversion est généralement bonne lorsque la feuille est en bonne santé. Elle se dégrade pendant la sénescence et la prise en compte des « pigments bruns » améliore la qualité de l'inversion. Ces pigments, des polyphénols, apparaissent en effet quand la feuille entre en sénescence.
- Les inversions de PROSPECT 3 et de PROSPECT 4 surestiment la teneur en chlorophylle de respectivement 50% et 30% Figure 16. Il est probable que les propriétés optiques des feuilles de blé, feuille monocotylédone, diffèrent de la majorité des feuilles de dicotylédones sélectionnées pour l'étalonnage du modèle PROSPECT (Th. Fourty et al. 1996; Feret et al. 2008). Une lecture attentive des travaux de (Feret et al. 2008) montre déjà cet effet de surestimation sur un jeu de donnée de feuilles tropicales.

- Concernant l'estimation de la matière sèche, des effets de compensations entre les différents paramètres de PROSPECT 4 empêchent d'obtenir des résultats cohérents. Cette compensation est moins forte pour PROSPECT 3. Cependant l'estimation souffre d'un biais et n'est pas très précise.
- L'estimation du contenu en eau ne semble ne pas poser de problèmes. Les figures d'absorption de l'eau sont très caractéristiques et très fortes.

Une question complexe perdure : PROSPECT permet-il de voir les mêmes différences que les mesures destructives? Deux stratégies peuvent être adoptées pour répondre à cette question :

- Une comparaison exhaustive et rigoureuse sur un grand jeu de données de la qualité des estimations, variété par variété pour voir si les biais sont identiques.
- La comparaison des différences trouvées entre variétés à la fois pour les mesures destructives que pour les mesures non destructives.

J'ai choisi la seconde stratégie qui permet de cibler la comparaison à ce qui nous intéresse in-fine : le phénotypage et l'identification des différences variétales. La Figure 17 montre des résultats encourageants : non seulement PROSPECT 4 identifie les mêmes différences que les mesures destructives et ces différences apparaissent plus significatives d'un point de vue statistique.

Chlorophyllian pigments

Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		17.4 (0.00)	9.3 (0.06)	3.4 (0.90)	8.1 (0.15)	6.3 (0.40)
Biensur	7.62 (0.03)		-8.1 (0.15)	-13.9 (0.00)	-9.3 (0.06)	-11.0 (0.01)
Caphorn	2.89 (0.84)	-4.7 (0.40)		-5.8 (0.49)	-1.2 (1.0)	-2.9 ()
Hysun	0.0 (1.0)	-7.62 (0.03)	-2.9 (0.85)		4.6 (0.72)	2.9 (0.95)
Isildur	2.3 (0.93)	-5.29 (0.27)	-0.6 (1.0)	2.3 (0.93)		-1.8 (0.99)
Soissons	1.5 (0.99)	-6.1 (0.13)	-1.3 (0.99)	1.5 (0.99)	-0.8 (1.0)	

Dry Matter

Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		0.0022 (0.00)	0.0006 (0.63)	-0.0006 (0.66)	0.0008 (0.28)	-0.0002 (0.99)
Biensur	0.0004 (0.21)		-0.0016 (0.00)	-0.0027 (0.00)	-0.0014 (0.00)	-0.0024 (0.00)
Caphorn	0.0001 (0.99)	-0.0003 (0.56)		-0.0011 (0.03)	0.0002 (0.99)	-0.0008 (0.24)
Hysun	-0.0005 (0.01)	-0.0009 (0.00)	-0.0007 (0.00)		0.0013 (0.01)	0.003 (0.96)
Isildur	0.0004 (0.24)	-0.0001 (1.0)	0.0003 (0.61)	0.0009 (0.00)		-0.0010 (0.07)
Soissons	-0.0001 (0.98)	-0.0005 (0.03)	-0.0002 (0.74)	0.0004 (0.06)	-0.0005 (0.04)	

Water

Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		0.0029 (0.00)	0.0016 (0.08)	-0.0003 (1.0)	0.0006 (0.88)	-0.0005 (0.95)
Biensur	0.0022 (0.00)		-0.0014 (0.18)	-0.0032 (0.00)	-0.0023 (0.00)	-0.0034 (0.00)
Caphorn	0.0007 (0.84)	-0.0015 (0.13)		-0.0018 (0.02)	-0.0009 (0.60)	-0.0021 (0.01)
Hysun	-0.0011 (0.41)	-0.0033 (0.00)	-0.0015 (0.03)		0.0009 (0.63)	-0.0002 (1.0)
Isildur	0.0003 (0.99)	-0.0018 (0.03)	-0.0004 (0.99)	0.0015 (0.14)		-0.0011 (0.37)
Soissons	-0.0008 (0.71)	-0.003 (0.00)	-0.0015 (0.10)	0.0002 (1.0)	-0.0012 (0.34)	

FIGURE 17: TABLEAU PRESENTANT LE TEST DES « DIFFERENCES HONNETES » DE TUCKEY, QUI VERIFIE SI LES DIFFERENCES ENTRE DEUX MOYENNES SONT SIGNIFICATIVES. ON COMPARE AINSI LES 6 DIFFERENCES POUR LES 3 TRAITS PHENOTYPIQUES POUR LES 6 VARIETES. LA DIFFERENCE EST PROPOSEE ET ENTRE PARENTHESE LA PROBABILITE CRITIQUE. L'HYPOTHESE DU TEST ETANT « LES DEUX VARIETES N'ONT PAS UNE MOYENNE SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTE ». L'OBJECTIF DE CE TABLEAU EST DE VALIDER LE FAIT QUE PROSPECT ET LES METHODES DESTRUCTIVES DETECTENT LES MEMES DIFFERENCES.

Ces résultats démontrent que la modélisation de la mesure à l'échelle de la feuille est pertinente pour identifier des différences variétales dans le cadre du phénotypage. Toutefois, la principale limitation de ces travaux réside dans le fait qu'ils ont été obtenus avec une sphère intégrante au laboratoire et ne sont donc pas haut-débit.

2.2.2 Et l'azote ?

Un débat récurrent existe sur la capacité à estimer directement le contenu en azote total des feuilles à partir d'un spectre radiométrique sur feuille fraîche dans la gamme spectrale 400 – 2500 nm ? Certains l'affirment (Ecarnot et al. 2013) lors que d'autres l'espèrent (Kokaly 2001). Ils utilisent des méthodes statistiques complexes appelées chimiométrie. Elles ont pour but d'ajuster un modèle statistique sur un jeu d'apprentissage composé de mesures de la variable cible associée à des observations multiples (typiquement un spectre). Toutefois, la portabilité des relations obtenues n'est pas toujours garantie (Grossman et al., 1995). Notons que ce débat existe également à l'échelle du couvert (Yuri Knyazikhin et al. 2012; Ollinger et al. 2008).

Nos mesures sur feuilles montrent que la corrélation entre la chlorophylle et l'azote est très forte (Figure 18). Cela s'explique par le stockage de la majorité de l'azote absorbée dans la protéine nommée RubisCo qui est impliquée dans la photosynthèse. Cette relation n'est cependant pas stable (Lawlor 2002). Or c'est la chlorophylle qui est détectable théoriquement dans le domaine du visible proche infra rouge, les liaisons caractéristiques de l'azote ne commencent à apparaître qu'après 1980nm (Paul J Curran 1989; Kokaly 2001) excepté à 1580nm en superposition avec une forte bande d'absorption de l'eau.

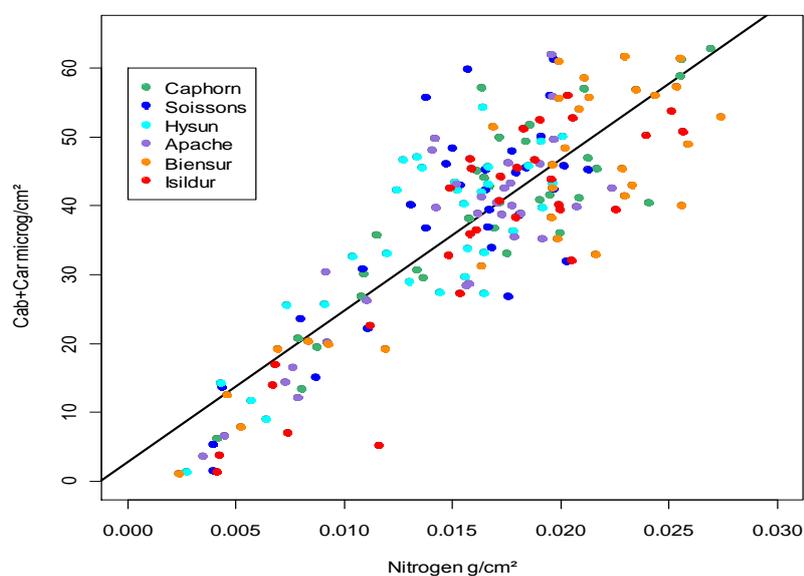


FIGURE 18: CORRELATION ENTRE CONTENU EN CHLOROPHYLLE ET CONTENU EN AZOTE MESURES DE MANIERE DESTRUCTIVE POUR 156 FEUILLES DE BLE POUR 6 VARIETES DIFFERENTES. LA CORRELATION DE LA RELATION EST FORTE : $R^2 = 0.71$

Les relations chimiométriques établies pour l'azote sont elles causales ou bien résultent t'elles de relations avec des co-facteurs, et en particulier avec la chlorophylle? Pour répondre à cette questions, notre étude se bon se propose de développer 3 modèles de PLSR permettant l'estimation du contenu en azote mais utilisant les domaines spectrales suivant:

- Visible et Proche Infra-Rouge ou VIS-NIR (400nm-850) : C'est le domaine d'absorption de la chlorophylle.

- Moyen infra-rouge ou SWIR (850-2300nm) : la chlorophylle n'absorbe pas dans ce domaine. C'est principalement l'eau et les composantes de la matière sèche (cellulose, hémicellulose, etc.) qui absorbent.
- Sur l'ensemble du spectre ou VIS-SWIR (400nm-2300nm) : C'est le domaine utilisé concrètement pour étalonner le modèle.

Le RMSE obtenu en validation croisée est de 0.0020 g/cm² à la fois pour le modèle VIS-NIR que pour le VIS-SWIR. Le modèle SWIR à un RMSE de validation croisée qui est le double 0.0037 g/cm². Le contenu en azote des feuilles variant entre 0 et 0.03 g/cm². Cela montre que l'utilisation de moyen-infra rouge n'améliore pas la prédiction du contenu en azote. C'est pourtant dans ce domaine où l'on trouve des absorptions spécifiques liées à l'azote.

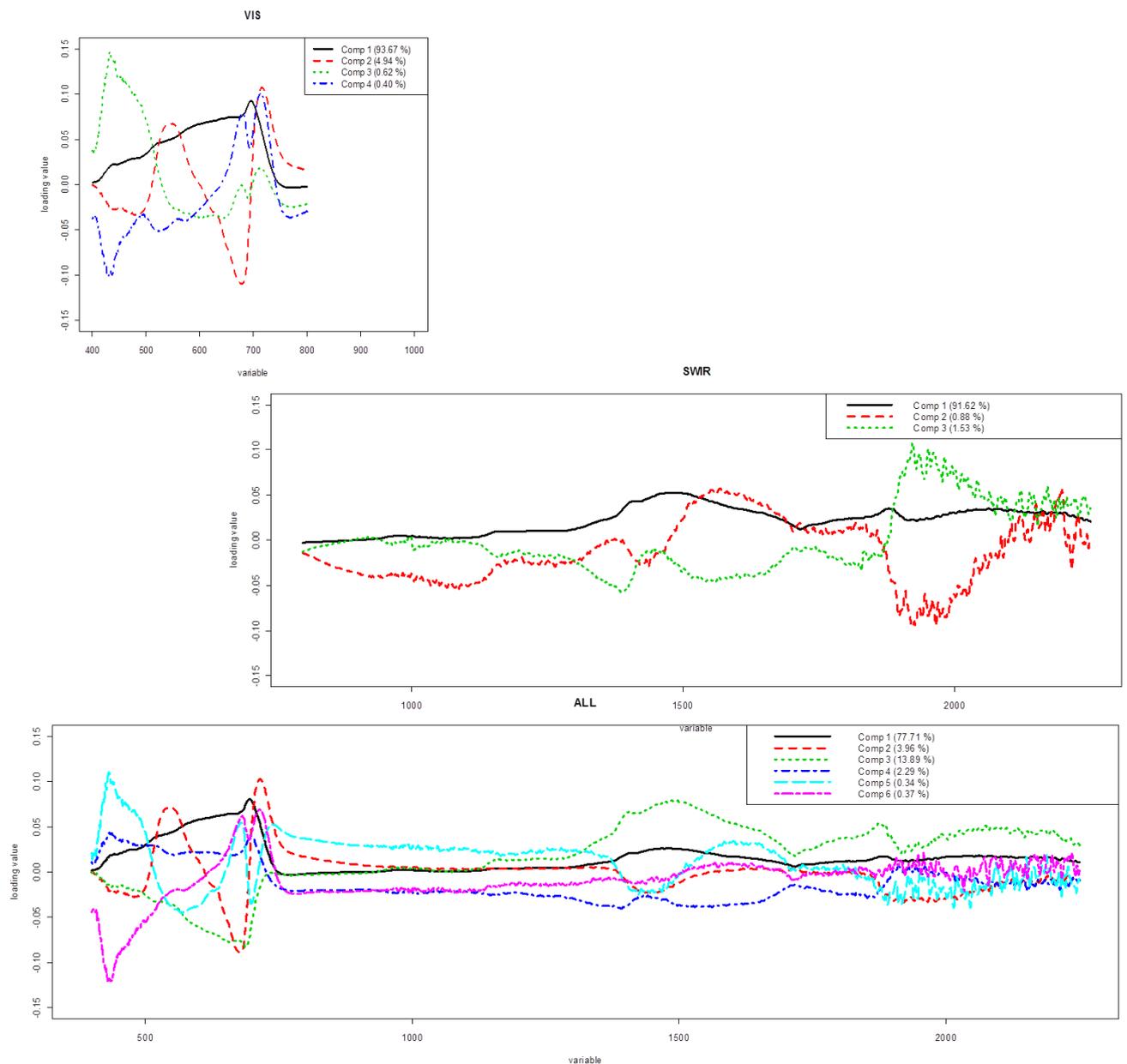


FIGURE 19: SPECTRES DES LOADINGS POUR LES 3 MODELES DE PLSR AJUSTANT L'AZOTE SE BASANT RESPECTIVEMENT SUR LE DOMAINE SPECTRAL: VIS-NIR, SWIR ET VIS-SWIR.

La Figure 19 propose de visualiser les contributions des différentes longueurs d'ondes dans l'étalonnage de la relation pour les trois modèles. Il est intéressant de noter que l'on retrouve les

patrons important pour déterminer le contenu en chlorophylle à la fois pour le modèle VIS-NIR et pour le modèle VIS-SWIR : zone du « vert » et du « Red-edge » corrélée dans le même sens et inversement corrélée à la zone du rouge. Ces patrons s'expliquent par le fait que la chlorophylle absorbe plus dans le rouge que dans le vert et le red-edge. De manière plus surprenante ce sont les patrons de l'absorption de l'eau qui sont observés dans le domaine du SWIR.

Les deux figures proposées dans ce paragraphe ne sont pas suffisantes pour démontrer formellement que les modèles de chimiométrie aboutissent à une estimation correcte du contenu en azote grâce à une subtile combinaison entre le contenu en chlorophylle, le contenu en eau et en matière sèche. Cela permet cependant de modérer l'optimisme exagéré dégagé dans certains travaux suggérant la possibilité d'obtenir directement et de manière concomitante le contenu en azote et le contenu en chlorophylle.

L'étude des relations chlorophylle/azote pour être fiable ne pourra se contenter uniquement de mesures radiométriques. Et nous préférons nous baser sur la chlorophylle qui est directement quantifiable dans le domaine spectral étudié.

2.3 L'estimation des variables phénotypiques d'intérêts à l'échelle du couvert

Les mesures sont réalisées à l'aide de spectromètres (information spectrale) et d'appareil photo numérique (information spatiale) à l'échelle du couvert dans deux configurations (Nadir et 57°) pour une surface comprise entre 0.25 et 1m². Nous tenterons ici de répondre à quelques questions utiles pour juger de la pertinence du système de mesure pour le phénotypage :

- Quelle complémentarité entre les mesures issues des images RGB et des spectrophotomètres utilisés?
- Quelles sont les variables d'intérêts phénotypiques atteignables avec le système décrit ?
- Peut-on essayer de classer ces variables non destructives en fonction de leur hérédité ?

2.3.1 Complémentarité entre mesures issues des deux types de capteurs

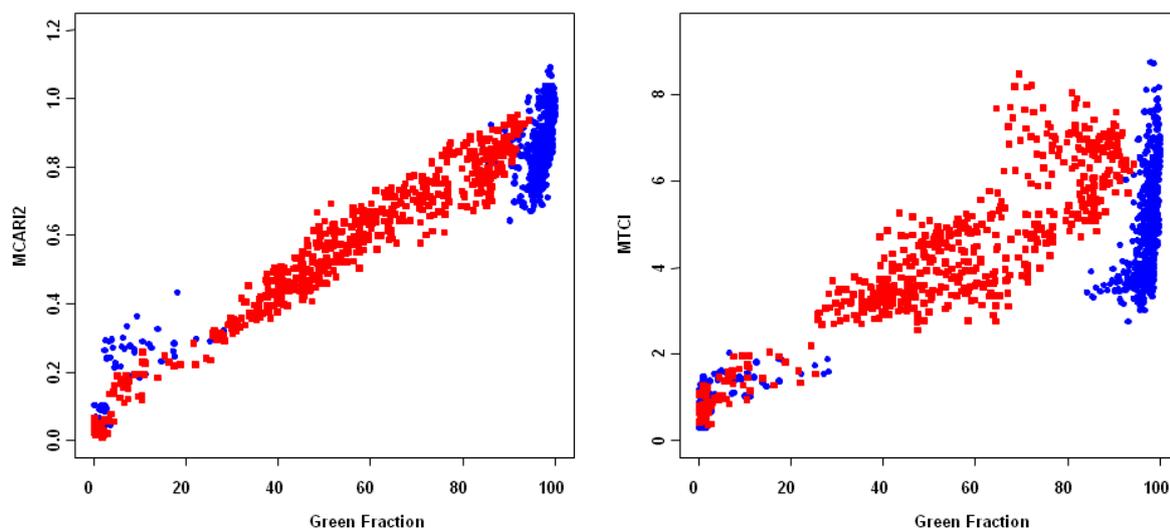


FIGURE 20: RELATION ENTRE LA FRACTION VERTE CALCULEE A PARTIR DE PHOTOS ET DES EUX INDICES SPECTRAUX UTILISES: LE MCARI2 ET LE MTCI. EN ROUGE LES MESURES EFFECTUEES EN POSITION NADIR ET EN BLEU LES MESURES A 57°.

Les capteurs utilisés échantillonnent la même surface de couvert dans le même domaine spectral mais avec des résolutions spectrales et spatiales très différentes. Nous avons donc dans un premier temps évalué le degré de complémentarité et de redondance des estimations de variables fournies.

La Figure 20 montre la très bonne corrélation entre le MCARI2 et la fraction de vert ($R^2=0.94$) à la fois pour les mesures à 0° et à 57° . Cela signifie que contrairement à ce que suggère (Haboudane et al. 2004) le MCARI2 est non pas corrélé au LAI (ou GAI) mais plus directement à la fraction de vert. La dispersion des points lorsque la fraction de vert est proche de 100% peut s'interpréter par la sensibilité accrue du MCARI2 qui intègre un bande dans le proche infrarouge. Cette variabilité du MCARI2 pour les fortes valeurs de fraction verte peut également s'expliquer par une sensibilité plus forte au contenu en chlorophylle des feuilles.

Cette sensibilité au contenu en chlorophylle est exacerbée pour le MTCI, indice spectral réputé sensible à la chlorophylle, mais qui est également très dépendant de la fraction de vert ($R^2=0.64$). Ces résultats montrent que le premier déterminant des indices spectraux est la fraction verte. La bonne cohérence entre fraction verte et MCARI2 constitue un élément de validation interne des mesures réalisées tout au long du cycle végétatif. La redondance forte entre mesures issues de capteurs différents apparaît être intéressante à conserver dans un système de phénotypage, de manière à s'assurer que les mesures acquises par chaque capteur sont d'une qualité suffisante. Il apparaît également que la richesse spectrale du spectrophotomètre contient des informations supplémentaires en particulier sur le contenu en chlorophylle, bien que nous n'ayons pas eu le temps de valider cette assertion. De même, l'imagerie RGB contient des informations spécifiques sur la structure du couvert, en particulier en combinant les deux directions de visée. Des efforts supplémentaires devront donc être fournis pour exploiter les spécificités de chacun des capteurs.

2.3.2 Les variables accessibles

La chaîne de traitement utilisée pour interpréter les mesures issues du système Arche permet d'obtenir des indices spectraux et une fraction de vert. La fraction verte à 57° permet d'obtenir une estimation du *GAI* (Baret et al. 2010) :

$$1 - FV(57^\circ) = e^{-\frac{0.5GAI}{\cos(57^\circ)}} \quad [1]$$

Nous avons également montré que la combinaison des fractions vertes à 0° et 57° permettait d'obtenir une bonne estimation du *FIPAR*, l'efficacité d'interception de la lumière par le couvert. En effet, nous avons également la relation établie à 0° entre la fraction verte et le *GAI* :

$$1 - FV(0^\circ) = e^{-G(ALA,0^\circ)GAI} \quad [2]$$

avec $G(ALA,0^\circ)$ la fonction de projection qui dépend sous hypothèses de milieu turbide de l'angle d'inclinaison des feuilles, *ALA*. En remplaçant *GAI* dans l'expression [2] par sa valeur extraite de l'expression [1], on peut donc estimer la valeur de *ALA*.

Sachant que *FIPAR* pour un angle zénithal d'incidence θ correspond à la fraction verte vue sous la même direction θ , on a donc :

$$FIPAR(\theta) = FV(\theta) = 1 - e^{-\frac{G(ALA,\theta)GAI}{\cos(\theta)}} \quad [3]$$

avec les valeurs de *GAI* et *ALA* estimées à partir des fractions vertes à 0° et 57° . Des tests réalisés à partir de simulations de modèles de transfert radiatif en milieu turbide et sur maquettes de blé générées à partir du modèle ADEL-WHEAT ont permis de valider cette approche. La figure 16 montre l'évolution du *FIPAR* de 6 variétés et 2 traitements estimé à partir des fractions vertes à 0° et 57° . La quantité de PAR interceptée par le couvert cumulée sur une période donnée peut être ainsi calculée :

$$C_{t_1-t_2}^{PAR} = \sum_{t_1}^{t_2} PAR(t).FIPAR(t) \quad [4]$$

avec $PAR(t)$ la quantité de PAR incident pour le jour t et $FIPAR(t)$ la valeur de *FIPAR* estimée pour le même jour t . La Figure 21 montre que dans notre essai il y a relativement peu de différences entre variétés sur le cumul de PAR intercepté par le couvert, quand les conditions d'alimentation azotée sont optimales. Par contre on observe des différences variétales significatives en situation de stress azoté.

Si l'on dispose de mesures de biomasse aux dates t_1 et t_2 , $M(t_1)$ et $M(t_2)$, on peut donc calculer l'efficacité photosynthétique correspondante, $\varepsilon_i^{t_1-t_2}$

$$\varepsilon_i^{t_1-t_2} = \frac{M(t_2) - M(t_1)}{C_{t_1-t_2}^{PAR}} \quad [5]$$

L'efficacité photosynthétique est une variable sans doute très importante pour la sélection variétale.

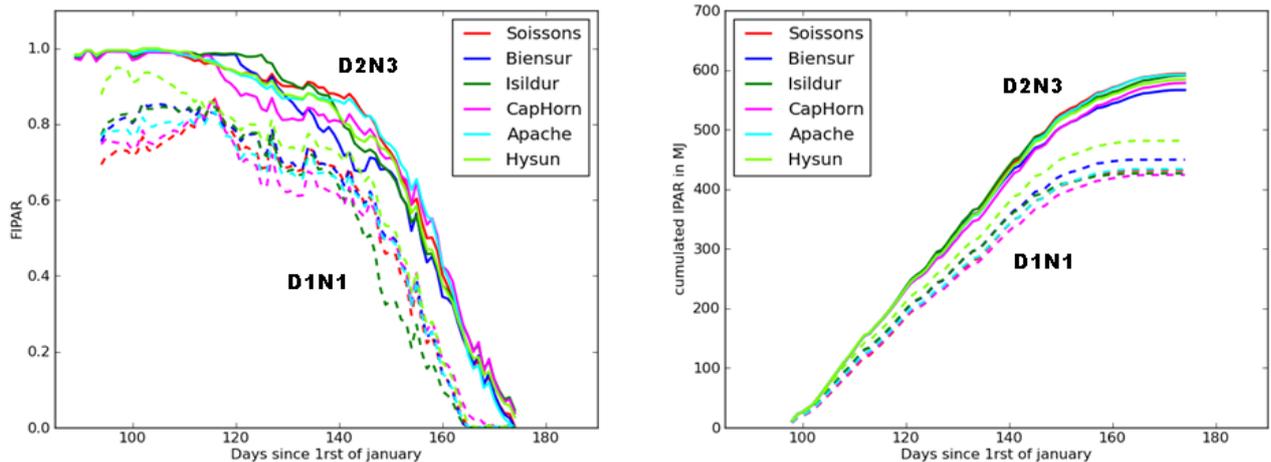


FIGURE 21: ESTIMATION DE FIPAR INTERCEPTE POUR LES DOY ET CUMULE DU PAR INTERCEPTE POUR LES 6 VARIETES SUIVANTS LES DEUX MODALITES LES PLUS EXTREMES.

2.3.3 La prise en compte de la dynamique

La dynamique du couvert est révélatrice de son fonctionnement. L'utilisation de métriques décrivant la dynamique du couvert pour la sélection variétale peut donc être très pertinente. Nous avons proposé un modèle bilinéaire très simple pour décrire la dynamique des indices spectraux mesurés par le système « arche ». Le temps est exprimé ici en °C.jour, cette échelle de temps permettant de prendre en compte en partie l'effet température sur la dynamique. Le modèle bilinéaire utilisé possède seulement 3 paramètres: pente de la période végétative α_1 , pente de la sénescence α_2 et le degré/jour T_{12} de transition entre la période végétative et la période de sénescence. La Figure 22 montre l'ajustement de ce modèle empirique pour la variété Soissons suivant les modalités forte densité de semi et carence modérée en azote. Le modèle s'ajuste donc assez fidèlement aux données.

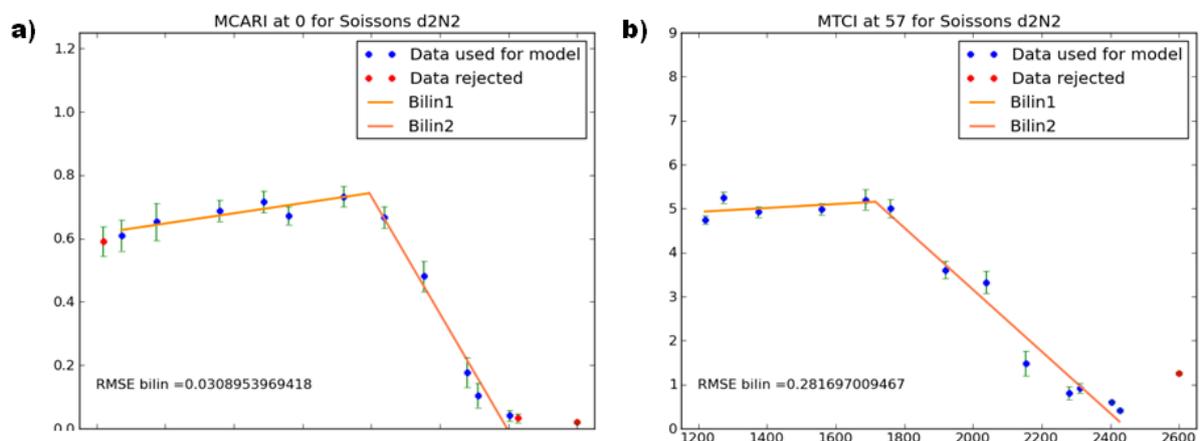


FIGURE 22: MODELE BILINEAIRE BASE SUR L'AJUSTEMENT DES INDICES SPECTRAUX (MCARI2 A), MTCI B) MODELISANT LA PERIODE VEGETATIVE ET LA SENESCENCE. UN ALGORITHME PERMET D'ELIMINER LES MESURES PARASITES LOCALISE AUX EXTREMITES : SOIT QUAND LE COUVERT N'EST PAS COMPLETEMENT MIS EN PLACE SOIT QUE LA SENESCENCE EST ACHEVEE.

A l'aide de ce modèle de dynamique des indices spectraux, 8 métriques issues des mesures de phénotypage haut débit (HTM) sont définies et présentées dans le

Tableau 2 et Figure 23.

TABLEAU 2: DEFINITION DES 8 METRIQUES ISSUES DU PHENOTYPAGE HAUT DEBIT (HTM)

Symbol	Definition	Unit
T_{12}	Time (°C.day) at transition between Periods 1 and 2 (beginning of senescence)	°C.day
T_2	Time (°C.day) at end of period 2 (end of senescence)	°C.day
α_1	Rate of change during period 1 (vegetative period)	°C ⁻¹ .day ⁻¹
α_2	Rate of change during period 2 (senescence period)	°C ⁻¹ .day ⁻¹
$VI(T_{12})$	VI value at transition between periods 1 and 2 (beginning of senescence)	-
I_1	Integrated value over periods 1	°C.day
I_2	Integrated value over periods 2	°C.day
$I_1 + I_2$	Integrated value over periods 1 and 2	°C.day

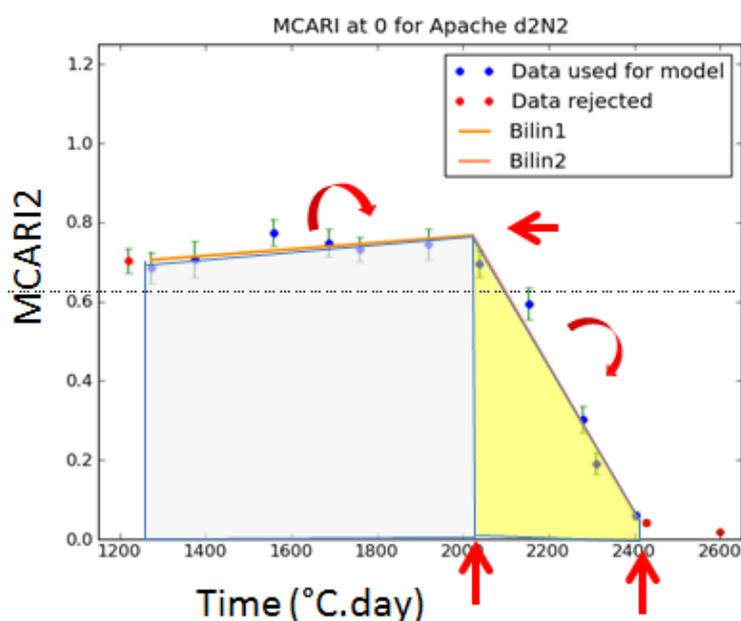


FIGURE 23: LA REPRESENTATION DES VARIABLES ISSUES DU PHENOTYPAGE HAUT DEBIT

2.3.4 Les variables issues du phénotypage haut débit sont elles hérissables ?

L'un des moyens pour valider les indices mesurés et la modélisation empirique de la dynamique du couvert végétal est de les comparer avec des mesures destructives réalisées classiquement dans les essais de phénotypage (DMH pour Destructive measurements at Harvest). Ces comparaisons ont montré des corrélations fortes entre HTM et DMH surtout pour les HTM intégrés, ce qui est à la fois réconfortant mais aussi pose des questions sur les informations supplémentaires que l'on attend des mesures de phénotypage haut-débit.

Nous avons également évalué la pertinence des mesures de phénotypage haut-débit en analysant l'hérissabilité des métriques http associées. L'hérissabilité est ici définie par la variance expliquée par le facteur 'génotype' (la variété) dans une analyse de variance prenant en compte l'effet de la variété (g), et les facteurs « environnementaux » (densité de semi, d et traitement azote, n) ainsi que les interactions simples entre facteurs:

$$HTM = \mu + g + n + d + \alpha_{gn} + \alpha_{gd} + \alpha_{dn} + \varepsilon$$

$$DMH = \mu + g + n + d + \alpha_{gn} + \alpha_{gd} + \alpha_{dn} + \varepsilon$$

Notons que la puissance statistique de ces tests est très faible compte tenu du faible nombre de variétés (6) testées et le nombre total de parcelles disponibles (36).

TABLEAU 3: RESULTAT DE L'ANALYSE DE VARIANCE POUR LES PRINCIPALES HTMS ET DMH. LE POURCENTAGE DE VARIANCE EXPLIQUANT TEL OU TEL FACTEUR EST INDIQUE, LES ETOILES REPRESENTANT LA SIGNIFICATIVITE DU POURCENTAGE. LES METRIQUES HTM ET DTM SONT CLASSEES PAR ORDRE DECREISSANT DE VARIANCE EXPLIQUEE PAR LE FACTEUR GENOTYPE (HERITABILITE).

HTM	DMH	g	N	d	α_{gn}	ε
	HI	72.27***	5.27***	0.13	16.47*	5.87
MCARI2(0°) T_{12}		66.34***	14.57***	1.28*	8.50*	9.31
MCARI2(0°) α_2		44.61***	16.07***	5.42*	18.89*	15.02
MTCI(57°) α_1		29.81***	44.21***	2.10*	8.50*	15.38
	Yield	26.68***	68.68***	0.73*	2.87*	1.04
MCARI2(0°) I_2		23.53***	63.27***	0.23*	9.06*	3.91
MCARI2(0°) (T_{12})		22.92***	59.24***	2.61*	11.52*	3.71
	CN_{grain}	21.51***	73.69***	0.27	2.85*	1.68
	fN_{grain}	19.98**	60.98*	0.00	11.30*	7.74
MCARI2(0°) α_1		17.87**	70.66*	0.04	8.75*	2.68
	AGDM	16.11***	77.22***	0.62*	3.97*	2.08
MTCI(57°) I_1		14.43***	62.43***	0.91*	15.47*	6.75
MTCI(57°) (T_{12})		12.01***	81.85***	0.16*	3.44*	2.54
MCARI2(0°) I_1		10.50***	82.77***	1.62*	2.95*	2.15
MTCI(57°) $I_1 + I_2$		7.84***	86.62***	0.02*	2.54*	2.97
MCARI2(0°) $I_1 + I_2$		7.39***	88.14***	1.32*	2.13*	1.03
	CN_{total}	4.15**	92.99***	0.07	1.45	1.33
	QN_{grain}	2.28**	94.89***	0.12	2.07*	0.64
	QN_{total}	1.38**	95.88***	0.07	2.14**	0.54

Le Tableau 3 montre que certaines variables sont plus sensibles à l'effet variété et d'autres à l'effet azote. Les variables 'HTM' montrent une héritabilité significative vis-à-vis des variables de phénotypage classique (DMH). Ce simple test permet de valider l'approche phénotypage haut-débit, même si bien sur une analyse plus aboutie effectuée sur un dispositif statistique plus conséquent permettrait de conclure plus finement.

2.4 Identification des limites du système actuel

Ces différents travaux nous permettent d'esquisser les limites des systèmes actuels pour le phénotypage haut débit. En effet, pour améliorer le débit actuel (environ 100 parcelles/heure sur une fenêtre de temps de l'ordre de 4 heures) et améliorer la qualité des variables agronomiques estimées, nous devons maîtriser l'intégralité du processus qui va de l'acquisition rapide de mesures à leur interprétation. On peut ainsi identifier trois points clefs de l'acquisition qui doivent être améliorés afin de faire du phénotypage de qualité : le vecteur, les capteurs et l'interprétation des mesures.

2.4.1 Le vecteur

Le premier facteur limitant pour accéder au haut débit de mesure est le vecteur. En effet que ce soit une pince ou une arche portée par un tracteur, ces systèmes sont relativement lents, et ne peuvent pas être entièrement automatisés. Il est ainsi nécessaire de développer un vecteur qui soit complètement automatique pour réaliser rapidement un grand nombre de mesures.

Dans ce sens avec l'aide de l'entreprise Meca 3D et Effidence, un prototype complètement automatisé a été mis au point présenté Figure 19. Il devrait être opérationnel pour les premiers tests en juin 2013.



FIGURE 24: PREMIERE PRESENTATION DE LA "PHENOMOBILE" A L'EQUIPE. ELLE DEVRA ETRE CAPABLE D'ENJAMBER LE BLE.

2.4.2 Les capteurs

Afin d'augmenter le débit et augmenter la fenêtre temporelle d'acquisitions possibles, ils doivent s'affranchir des variations de conditions d'illuminations naturelles. Ils doivent donc fonctionner de manière active en intégrant une source artificielle qui éclaire la scène échantillonnée.

Les capteurs doivent également intégrer un système d'étalonnage permettant d'assurer une très grande cohérence entre mesures prises à des temps et dates qui peuvent être très différents.

Il est nécessaire d'avoir des capteurs ayant une résolution spatiale suffisamment fine pour atteindre l'organe. En pratique une résolution millimétrique semble bin adaptée. Ces capteurs peuvent fournir des images (caméra multi-spectrale, camera RGB) ou un échantillonnage de points dans le couvert (LIDAR).

L'information sur la structure 3D du couvert nous semble également essentielle à une bonne description de son fonctionnement. Les systèmes LIDAR et stéréo-photographiques nous semblent bien adaptés au besoin du phénotypage haut-débit.

2.4.3 L'interprétation du signal des capteurs

L'interprétation des données radiométriques issues des capteurs est complexe. Nous avons proposé une méthode simple basée sur les indices pour interpréter les mesures. L'utilisation de la dynamique pour s'affranchir des artefacts potentiels des indices a permis d'obtenir des HTM (High throughput metrics) qui ont une forte valeur ajoutée. Cependant le besoin d'estimer directement les variables de structure et des variables biochimiques afin de nourrir les modèles agronomiques doit être satisfait. Comme nous l'avons montré en introduction, la construction du lien entre les variables issues du transfert radiatif du couvert et les variables d'intérêts agronomiques constitue un problème qui est mal posé. Le travail réalisé au cours de cette thèse a permis de murir cette question. L'approche à privilégier est celle qui doit permettre de caractériser la structure 3D et le contenu biochimique 'ex ante', c'est-à-dire sans l'aide de connaissances particulières sur la structure du couvert. Il nous semble que les capteurs qui doivent être déployés dans les versions futures de système de phénotypage (LIDAR, camera stéréo, LIDAR multispectral) vont nous permettre d'atteindre cet objectif en particulier grâce à un suivi de la dynamique très serré, permettant de construire l'ensemble de la structure 3D de la plante en ajoutant à chaque pas de temps la description des derniers éléments apparus.