



# MANIP NIRS



# Introduction

La caractérisation du niveau de dormance des bourgeons n'est actuellement possible que par l'utilisation de 2 tests biologiques :

le test bouture de nœud isolé pour les bourgeons végétatifs principalement

le test Tabuenca, pour les bourgeons floraux.

Les 2 tests sont des tests de forçage dont la mise en œuvre est longue, couteuse en matériel végétal et temps d'observation, et pas toujours facile à interpréter.

Ces méthodes ne sont donc pas adaptées à du screening sur de larges effectifs.

Comme l'évolution de l'état de dormance s'accompagne forcément d'une évolution de la composition chimique des tissus, l'idée était de tester si ces changements étaient suffisamment importants pour se traduire en spectroscopie proche infrarouge et donc de voir si cette technique pourrait constituer une alternative aux tests biologiques, en étant plus rapide et simple à mettre en œuvre.

Nous avons donc conduit au cours des hivers 2012-2013 et 2013-2014 une expérimentation sur plusieurs sites et plusieurs espèces fruitières et forestière, ceci afin d'avoir en même temps une idée de la généricité de la réponse

Une approche simplificatrice (regarder sur la tige) a été tentée également

# M et M

## Le matériel végétal prélevé

Pour chaque espèce, nous avons prélevé des bourgeons et des portions des rameaux porteurs

L'étude a porté sur 5 espèces fruitières :

Pommier (Golden, Montpellier)

Abricotier (2 variétés Bergeron et Rouge du Roussillon, Avignon)

Cerisier (Burlat, Bordeaux)

Pêcher (Redhaven, Clermont)

Noyer (Franquette, Clermont)

Et 2 espèces forestières :

Mélèze d'Europe (Clermont 2 sites et Orléans)

Mélèze du Japon (Orléans)

Hêtre (Clermont et Avignon, site du Ventoux, 3 placettes, 2 précocités par placette)

# M et M

## La préparation du matériel végétal

Pour chaque espèce, les bourgeons et fragments de tiges ont été plongés dans l'azote liquide, conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$ , puis lyophilisés.

Ensuite les spectres ont été acquis

Sur bourgeons entiers (au moins 1 site par espèce, si suffisamment de bgs)

Sur tige grossièrement découpées

Les tiges et bourgeons ont ensuite été broyés pour obtenir une poudre fine

Les tiges ont été broyées sur le robot d'Orléans,

Les bourgeons, au froid, sur le broyeur à billes de Clermont (bols refroidis à l'azote liquide).

# M et M

## L'acquisition des spectres IR

les spectres ont été acquis sur 2 équipements différents :

Le spectromètre Perkin à Transformé de Fourier d'Orléans :  
(uniquement dans le proche infrarouge)

Le spectromètre FOSS de l'INRA Clermont  
(sur le visible et le proche infrarouge : 400-2500 nm)

2 stagiaires de BTS1 du Lycée professionnel de ont travaillé sur cette étude, sur le site d'Orléans:

Chayma El Khamlichi et Steven Pelletier (financement ODS)

Financement analyses Perpheclim + PIAF + AGPF

# Résultats

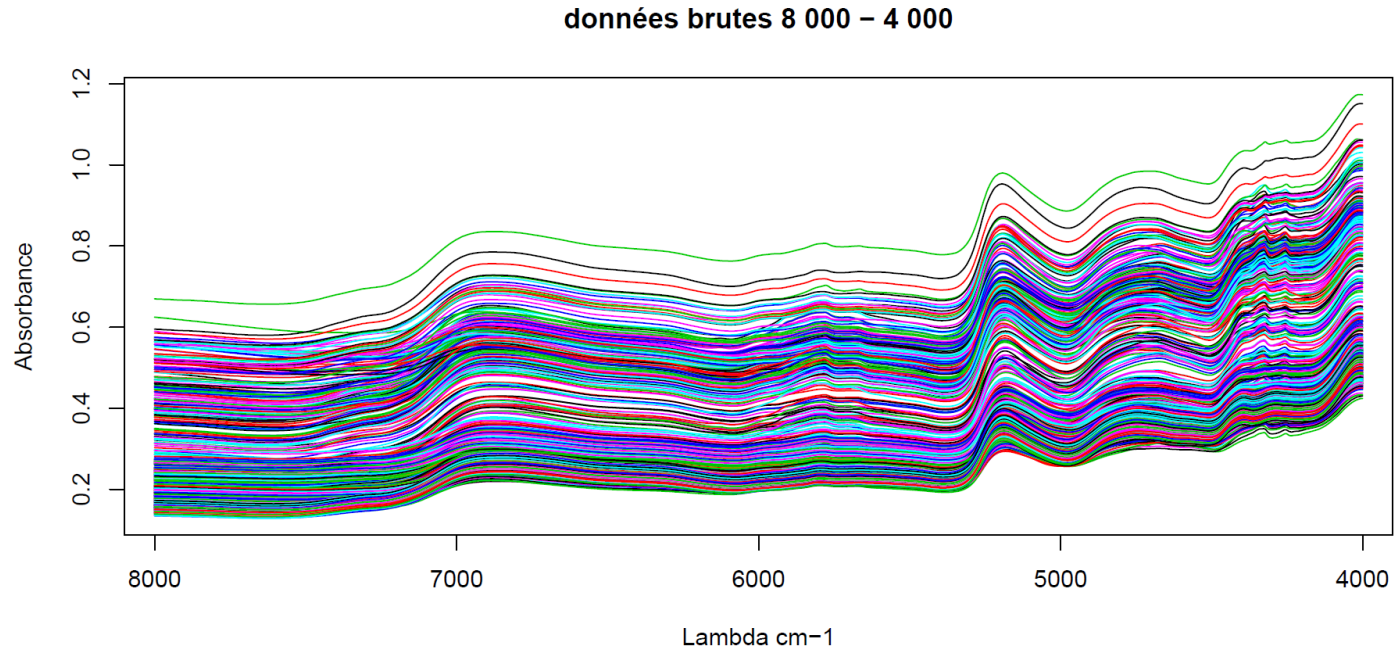
## L'analyse des spectres IR

Pour l'instant, seuls les spectres issus du spectromètre Perkin à Transformé de Fourier d'Orléans ont été analysés

L'analyse a été effectuée en utilisant un programme R développé par Vincent SEGURA d'Orléans, intégrant un module de sélection de bandes par la méthode CARS (competitive adaptive reweighted sampling, Li et al 2009, Analytica Chimica Acta 648, 77–84)

# Résultats

## L'analyse des spectres IR



# Résultats

## Spectres en FTIR sur poudres de bourgeons végétatifs

Etat	Tissu	Esp	Effectif	pretr	nbcomp	R2_train	R2_MCCV	RMSE_MCCV	RPD_MCCV	nb_outliers	nb_lambda
Broye	V	AB, CE, HE, M, NO, PE	236	der1	13	0.81	0.73	8.76	1.93	3	350
Broye	V	AB, CE, PE, PO	62	der2_norm	6	0.68	0.48	4.70	1.40	1	124
Broye	V	AB, CE, PE	51	norm	10	0.90	0.70	4.93	1.88	0	313
Broye	V	AB, PE, PO	47	der2_norm	7	0.92	0.83	2.88	2.51	1	46
Broye	V	HE, M, NO	174	der2_norm	12	0.89	0.82	7.74	2.35	3	126
Broye	V	HE	93	raw	10	0.90	0.83	7.71	2.48	0	365
Broye	V	M	62	der1_norm	10	0.96	0.91	6.15	3.37	0	117
Broye	V	HE, M, PE	80	norm	16	0.95	0.79	8.52	2.24	0	468

legende	
RPD > 3	R2 > 0.9
2 < RPD < 3	0.75 < R2 < 0.9
1.5 < RPD < 2	0.55 < R2 < 0.75
RPD < 1.5	R2 < 0.55

R2\_MCCV = R2 Monte Carlo cross validation

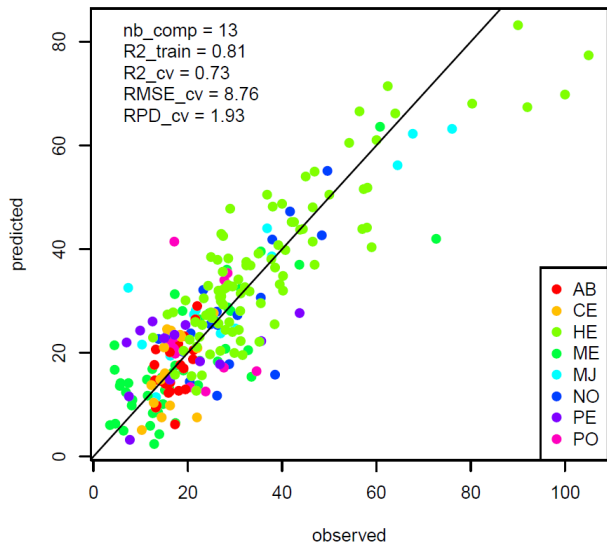
RPD = écart-type / RMSE, considéré comme bon si >3



# Résultats

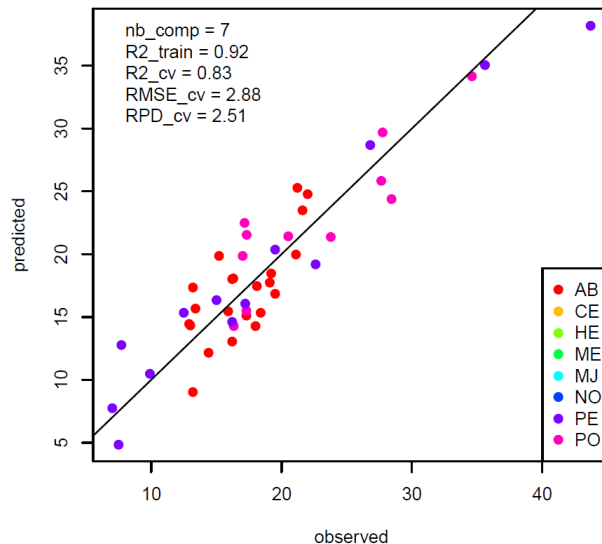
## Spectres en FTIR sur poudres de bourgeons végétatifs

der1



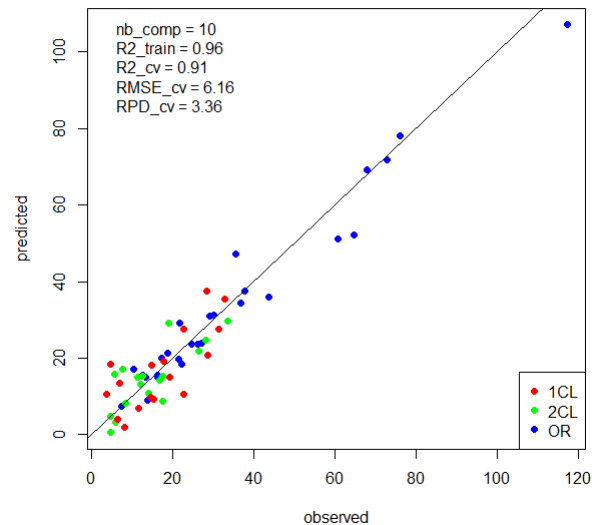
tous

der2\_norm



AB, PE, PO

der1\_norm



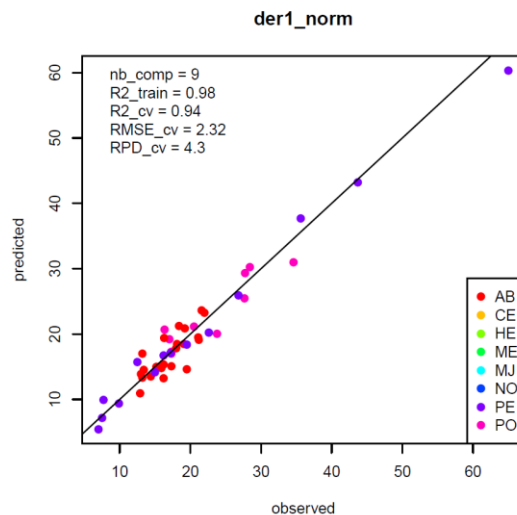
mélèze

# Résultats

## Spectres en FTIR sur poudres de bourgeons floraux

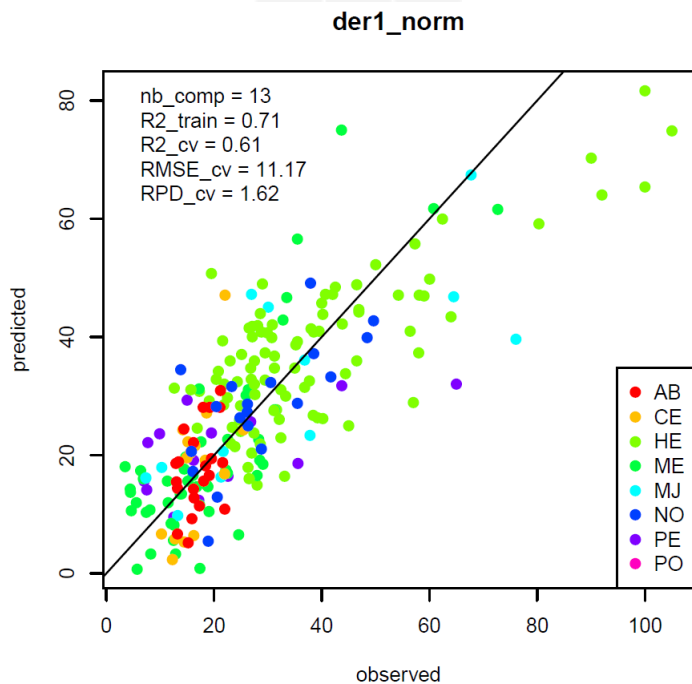
Etat	Tissu	Esp	Effectif	pretr	nbcomp	R2_train	R2_MCCV	RMSE_MCCV	RPD_MCCV	nb_outliers	nb_lambda
Broye	F	AB, PE, PO	46	der1_norm	9	0.98	0.94	2.34	4.26	0	168

legende	
RPD > 3	R2 > 0.9
2 < RPD < 3	0.75 < R2 < 0.9
1.5 < RPD < 2	0.55 < R2 < 0.75
RPD < 1.5	R2 < 0.55

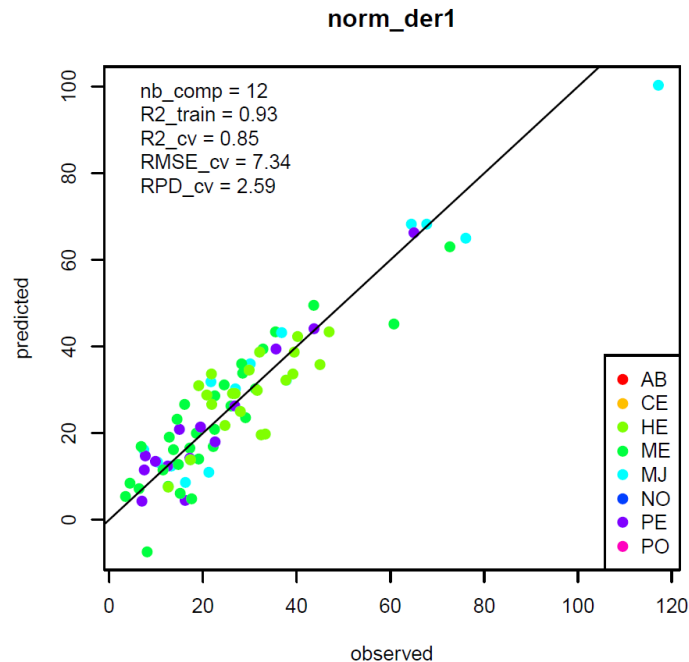


# Résultats

## Spectres en FTIR sur poudres de tiges



## Spectres en FTIR sur tiges broyées grossièrement



HE, M, PE

# Conclusions

## Tout est évidemment à consolider mais

Sur poudre, on obtient une bonne corrélation entre DMDs et Spectres

Pour les bourgeons très bonne, surtout sur bourgeons floraux

Pour les tiges presque aussi bonne, ce qui pourrait constituer une alternative intéressante

Sur bourgeons entiers

C'est pas terrible

Sur tiges grossières

On dégrade mais cela pourrait rester acceptable pour du screening car rapide et facile à faire

Le modèle semble assez générique mais il semble quand même préférable de gérer par genre (les prunus par exemple) et distinguer les résineux des feuillus

# Encore à faire

Finir les analyses et les traitements en intégrant la manip 2013-2014

Tester le modèle avec les quantités de froid reçues

Adapter le soft R au traitement des spectres du FOSS

Tester la variabilité intra espèce

Vérifier la stabilité des calibrations, valider avec les prélèvements 2014-2015

Rédiger une publi

Lien avec Protéines et méthylation ADN si projet innovant accepté



Merci de votre attention