

Détection des spores de mildiou et d'oïdium en temps réel à haute résolution spatiale

Tessa BASSO¹, Michaël TRAN¹, Vittorio PINI¹, Sylvain SCHNÉE², Pierre-Henri DUBUIS², Jérôme KASPARIAN^{1,3} et Jean-Pierre WOLF¹

¹ Département de physique appliquée, Université de Genève, chemin de Pinchat 22, 1211 Genève 4, Suisse

² Agroscope Changins, route de Duillier 50, 1260 Nyon, Suisse

³ Institut des sciences de l'environnement, Université de Genève, boulevard Carl-Vogt 66, 1211 Genève 4, Suisse

Renseignements: Jean-Pierre Wolf, e-mail: jean-pierre-wolf@unige.ch



Station de mesure des spores dans l'air installée dans le vignoble de Dardagny (GE). A l'arrière, un impacteur sur filtre.

Introduction

Le mildiou (produit par *Plasmopara viticola*) et l'oïdium (produit par *Erysiphe necator*) sont deux maladies cryptogamiques fréquentes de la vigne, pouvant non seulement affecter gravement la quantité et la qualité de la récolte, mais aussi affaiblir la plante l'année suivante en cas de forte défoliation précoce. Le nombre de traitements fongicides varie de six à quatorze selon les régions, les types de culture et les conditions climatiques de l'année. L'opinion publique

et les politiques se préoccupent de l'impact négatif de ces traitements sur l'environnement et de la présence possible de résidus de fongicides dans les vins. Ces enjeux environnementaux, sanitaires, économiques (Lechenet *et al.*, 2017) et politiques poussent à réduire l'usage des produits phytosanitaires. Les efforts dans cette direction incluent l'usage de variétés résistantes aux maladies, le développement de produits alternatifs moins problématiques pour l'environnement et la santé humaine, et les outils d'aide à la décision visant à réduire le nombre de traitements. En particulier, il semble naturel de ne traiter les cultures que quand et où les conditions phytosanitaires l'imposent, grâce à des mesures et des modèles à fine résolution spatiale et temporelle. Citons notamment la détection de haute sensibilité et sélectivité des pathogènes dans l'air, l'échantillonnage des feuilles en vue d'une analyse au laboratoire, la modélisation basée sur les données météorologiques et la connaissance de leurs liens avec la biologie et le développement des pathogènes, ainsi que l'imagerie hyperspectrale aérienne des cultures, par drones ou satellites.

Les trois dernières approches butent essentiellement sur la représentativité des informations. En effet, les conditions tant physiques que biologiques sont très hétérogènes à l'échelle de la parcelle, et très variables dans le temps. Il en est de même des modèles reposant sur les données météorologiques (température de l'air, humidité relative de l'air, précipitations, humectage du feuillage). Les réseaux de mesures météorologiques ne sont en effet pas assez denses pour rendre compte des conditions locales liées à la topographie: cours d'eau, végétation avoisnante, relief ont une influence sur l'humidité, l'ensoleillement ou la turbulence de l'air, et donc les sources et conditions d'infection ainsi que la dispersion des pathogènes. Les modèles mécanistiques tels que Viti-Meteo-Plasmopara (Dubuis *et al.*, 2012) permettent

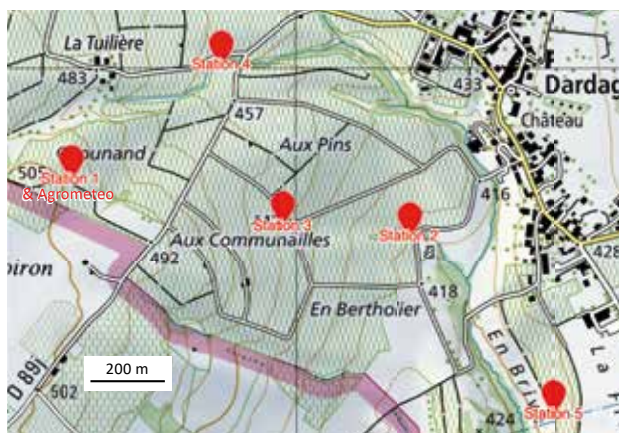


Figure 1 | Implantation des cinq stations de mesure et de la station de référence Agrometeo sur le vignoble de Dardagny (GE). Fond de carte Swisstopo.

de savoir quand les conditions pour une infection sont réunies, mais ils ne disent rien de la présence ou non du pathogène. L'historique des traitements et les observations de la présence des maladies doivent aussi être pris en compte.

Les drones équipés de caméras hyperspectrales fournissent au contraire des données à haute résolution spatiale sur des surfaces importantes, mais il est impossible de répéter les mesures à une fréquence suffisante. De plus, cette approche détecte les maladies ou le stress une fois qu'ils sont apparus, mais ne peut pas fournir d'information prédictive.

Dans ce contexte, il est crucial d'étudier systématiquement les hétérogénéités spatiales des agents infectieux (Fall *et al.*, 2015). Nous avons mis au point des stations autonomes capables de mesurer les spores dans l'air ainsi que les conditions météorologiques de l'air et du sol en temps réel et mises en réseau à l'échelle de la parcelle. L'intégration des données de présence de spores de pathogènes dans les modèles de prévision des risques basés sur les données météo déjà existants ou des procédures d'apprentissage automatique pourront identifier le risque avec plus d'exactitude. Ces nouveaux outils d'aide à la décision permettront ainsi de traiter sélectivement les vignes uniquement lorsqu'une intervention est nécessaire.

Matériel et méthodes

Stations de mesure et réseau

La mesure des spores de mildiou a été réalisée depuis 2018. Cinq stations de mesure autonomes ont été réparties sur les 50 ha du vignoble de Dardagny (GE), avec une distance moyenne entre stations de 400 m environ

Résumé Réduire l'usage des produits phytosanitaires nécessite de traiter de manière sélective, tant dans l'espace que dans le temps, ce qui requiert une connaissance fine du risque d'infection à l'échelle de la parcelle. Nous présentons un réseau de stations de mesure en temps réel de la présence des spores de mildiou et d'oïdium dans l'air, grâce à une méthode de détection par laser. En identifiant la présence de spores avant qu'elles n'infectent les vignes et avec une précision de quelques centaines de mètres, ces instruments permettent de récolter de précieuses informations quantitatives sur le développement de l'infection. Cette quantification de la présence de spores pourrait être intégrée dans les modèles de prévision afin de disposer de nouveaux outils d'aide à la décision pour optimiser les mesures de lutte contre les maladies fongiques.

(fig. 1). Les emplacements des stations sont représentatifs des diverses conditions d'exposition, de vent, d'humidité et de topographie. Deux stations de mesure ont en outre été installées dès 2019 à Pully (VD) sur le domaine expérimental d'Agroscope, l'une dans un témoin non traité (Chardonnay) et l'autre distante de 60 m dans une parcelle traitée (Gamay).

Chaque station était équipée d'un compteur optique de particules, fournissant la concentration et la distribution de taille des aérosols (particules) aéroportées, grâce à la diffusion d'un faisceau laser. Ces stations mesuraient également la température et l'humidité relative (HR) de l'air et du sol, ainsi que l'humidité des feuilles et le rayonnement solaire. Les mesures sont enregistrées toutes les deux secondes, puis agrégées sur les durées souhaitées.

Les stations ont été inter-comparées et étalonnées avec des appareils de référence (compteurs optiques de particules Grimm 1.109 et Grimm 1.365, hygromètre-thermomètre Testo 635) avant leur déploiement sur le terrain. Les données ont été collectées sur un serveur en vue de leur analyse. Des mesures de référence étaient en outre fournies par une série de filtres d'impaction sur un ruban adhésif. Ces échantillons étaient observés par microscopie multimode et multi-photonique (Bellow *et al.*, 2012; Kilin *et al.*, 2017) après une exposition de sept jours. Cette approche fournit des images des spores en trois dimensions et à très haute résolution spatiale (500 nm) et spectrale (32 canaux),

permettant une identification univoque par apprentissage automatique des spores de *Plasmopara viticola* (PV) et *Erysiphe necator* (EN) sur les filtres.

Station de référence Agrometeo et modélisation

Les mesures de spores dans l'air ont été comparées aux prévisions de risque d'infection produites et les prévisions de sporulation par le modèle VitiMeteo-Plasmopara (Dubuis *et al.*, 2012) pour le mildiou. Pour l'oïdium de la vigne, la comparaison a été faite avec l'indice de risque du modèle VitiMeteo-Oidium (Dubuis *et al.*, 2014), calculé uniquement sur la base des données météo sans tenir compte de la résistance ontogénique des grappes. Les deux modèles se basent sur des données météo du réseau Agrometeo, disponible sous www.agrometeo.ch. A Pully, une station Agrometeo (Campbell CR1000) est localisée à 50 m de la parcelle d'essai. A Dardagny, la station 1 (fig. 1) a été implantée à côté d'une station Agrometeo (Campbell CR10X).

Suivi de l'oïdium à Pully (VD)

La présence d'oïdium a été évaluée à quatre reprises à Pully (VD) sur un témoin non traité de 36 m² dans une parcelle de Chardonnay. La fréquence, c'est-à-dire le pourcentage moyen de feuilles infectées, a été calculée en observant 3 x 100 feuilles. L'intensité moyenne de l'infection a été calculée en estimant la surface lésée par une note de 0 à 5 pour chaque feuille observée (0 = absence de symptômes, 1 = 0–2,5%, 2 = 2,5–10%, 3 = 10–25%, 4 = 25–50%, 5 ≥ 50% de la surface atteinte).

Résultats et discussion

La figure 2 montre l'évolution de la concentration de spores de PV mesurée sur des filtres impactés sur une durée d'une semaine à la station 5 (fig. 1). Cette concentration varie fortement au cours du temps, les variations pouvant atteindre un facteur 10 en deux semaines seulement. La concentration des spores mesurée dans l'air et l'intensité de sporulation sur les feuilles prévues par le modèle VitiMeteo-Plasmopara (Dubuis *et al.*, 2012) sur la base des conditions météorologiques varient de manière semblable en août, mais différente en septembre. Les différences pourraient s'expliquer, pour une part, par la variabilité spatiale des conditions météorologiques, du vent, de la turbulence et de la topographie (proximité d'un cours d'eau, etc.). D'autre part, le modèle calcule la formation de sporanges à la surface des feuilles en l'absence de traitement. Il faut ensuite que ces spores soient mises en suspension dans l'air. La quantité de spores est également affectée par les traitements effectués dans la parcelle concernée, paramètre non pris en compte par le modèle.

Hétérogénéité spatiale et temporelle

L'hétérogénéité spatiale et temporelle des conditions de diffusion des spores de PV a été caractérisée en s'appuyant sur les mesures des compteurs optiques de particules, dans la classe de taille de notre compteur correspondant aux spores de PV (16–20 µm). Ces valeurs quotidiennes peuvent varier de deux ordres de grandeur en quelques jours (fig. 3). Les concentrations de particules captées corrént bien avec la durée d'humectage du feuillage et en partie avec les jours de pluie. La corrélation avec les sporulations calculées par le modèle VitiMeteo-Plasmopara est moins bonne. La localisation de la station de mesure 5 en bas de coteau proche de la rivière, avec des conditions plus humides et vraisemblablement des rosées et un humectage du feuillage plus importants qu'à la station Agrometeo située en haut de coteau (station 1, fig. 1), peut expliquer une partie de ces différences, de même que des interférents dans la catégorie de taille considérée.

Les épisodes de forte concentration ne sont que peu, voire pas corrélés, même entre stations proches, comme illustré par la figure 4 dans le cas du mois d'octobre 2018, où les données des cinq stations sont disponibles simultanément. Même le nombre d'événements diffère d'une station à l'autre. Ainsi, la station 3 ne mesure qu'un épisode d'un jour sur la période de quinze jours considérée, tandis que la station 4 en mesure 3, pour une durée cumulée de huit jours. Cependant, des motifs comparables semblent se reproduire dans certains cas avec quelques jours de décalage entre stations voisines, ce qui pourrait être lié au transport des spores. Ces résultats confirment la forte hétérogénéité de la présence des spores dans les cultures.

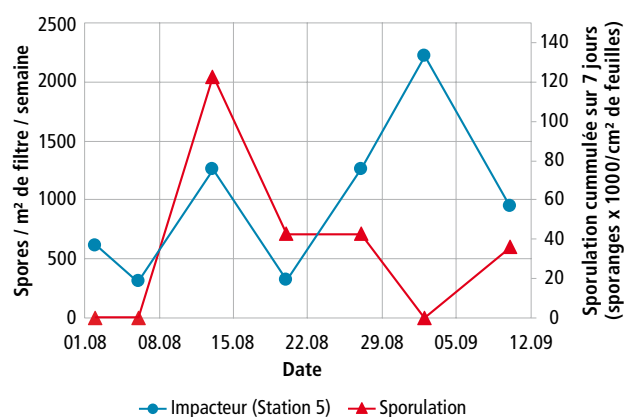


Figure 2 | Comptage (Station 5, fig. 1) des sporanges de *Plasmopara viticola* sur un impacteur après sept jours d'exposition (en spores par mètre carré sur le filtre d'impaction) et comparaison avec la prévision de sporulation issue du modèle VitiMeteo-Plasmopara (Agrometeo), cumulée sur une semaine (en sporanges x 10³ / cm² de feuilles).

Comme rapporté par Carisse *et al.* (2015), les données météorologiques n'étant pas disponibles à des résolutions de quelques centaines de mètres, les modèles de développement des pathogènes basés sur les conditions environnementales ne peuvent pas reproduire cette variabilité spatiale.

Caractériser utilement l'inhomogénéité des spores à l'échelle d'un vignoble nécessite de réaliser des mesures de haute résolution à la fois spatiale et temporelle. Un réseau dense d'impacteurs sur filtres fournit une haute résolution spatiale, mais une résolution temporelle médiocre, tandis que des détecteurs embarqués sur un drone peuvent fournir des données à haute cadence, mais ne permettent pas la mesure simultanée sur une grande superficie. Notre réseau dense de capteurs à coût modéré offre une approche prometteuse pour cumuler fréquences spatiale et temporelle. Une telle surveillance simultanée des conditions météorologiques et de la présence de spores peut réduire l'usage de fongicides de 40% (Carisse *et al.*, 2009). Un déploiement à grande échelle nécessite cependant une mesure automatique en temps réel, ce

qu'offrent les méthodes optiques (Kilin *et al.*, 2019), à l'inverse des pièges collectés puis transportés au laboratoire pour y être analysés.

Comparaison avec les observations d'infection

La figure 5 compare l'évolution du risque d'infection par l'oïdium prévu par Agrometeo, les observations de l'épidémie d'*Erysiphe necator* sur une parcelle témoin non traitée à Pully (VD) et les mesures optiques des spores dans l'air dans cette même parcelle et dans une parcelle traitée normalement, à une distance de 60m. Dans le témoin non traité, il y a une bonne corrélation entre la progression de l'infection et le comptage des spores d'oïdium. En particulier, le nombre de spores captées suit de très près la sévérité sur feuille au mois de juillet. Par contre, l'apparition des symptômes ainsi que la détection des spores dans l'air sont décalées d'une dizaine de jours par rapport au risque d'infection calculé par le modèle VitiMeteo-Oidium. Cela s'explique par le temps nécessaire pour *Erysiphe necator* pour coloniser les feuilles et produire des spores suite aux premières infections. Dans la parcelle traitée, le nombre de spores détectées est plus faible jusqu'au début de septembre. Cela confirme la forte disparité spatiale au sein d'un vignoble. En septembre, le nombre de spores captées est similaire pour les deux stations. Cela peut s'expliquer par l'apparition d'oïdium tardif sur le feuillage de la parcelle traitée, suite à l'arrêt des traitements début août.

Mesures optiques à haute sélectivité

Les compteurs optiques de particules sont peu spécifiques, car ils prennent mal en compte la morphologie des spores. Celles-ci peuvent donc être confondues entre elles, ou avec d'autres particules de fond. Afin d'augmenter la spécificité des mesures de spores, nous

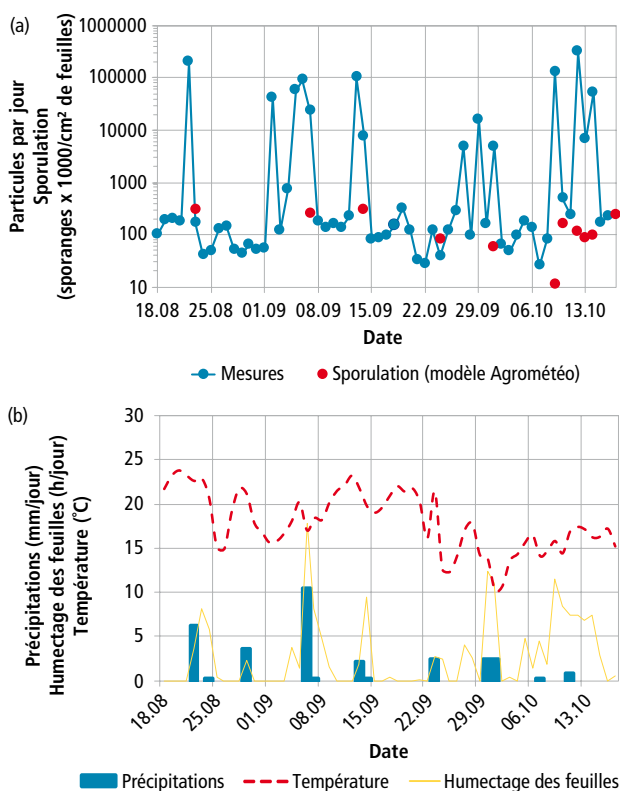


Figure 3 | a) Variations quotidiennes de la charge d'aérosols de la taille des spores de *Plasmopara viticola* (sphéroïdes de 16 à 20 μm) mesurées par les compteurs optiques de particules à la station 5 (fig. 1) entre août et octobre 2018, et comparaison avec la densité de sporulation prédite par le modèle VitiMeteo-Plasmopara Agrometeo. b) Conditions météorologiques correspondantes.

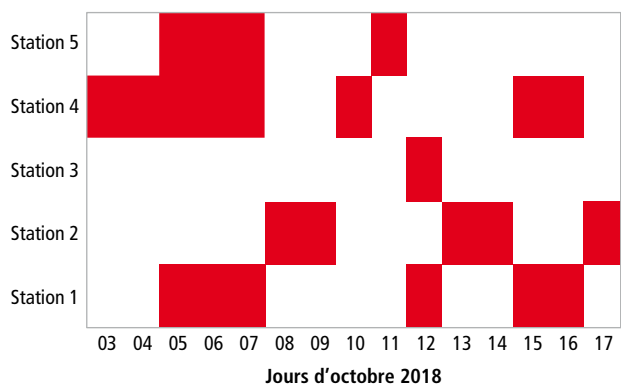


Figure 4 | Périodes de forte concentration de particules de la taille des spores de *Plasmopara viticola* (sphéroïdes de 16 à 20 μm), sur les cinq stations de mesure de Dardagny (GE) (fig. 1).

avons intégré aux stations de mesure une analyse en trois dimensions par laser (Kilin *et al.*, 2019), qui permet d'analyser de plus grandes surfaces d'impaction et donc de plus grands volumes qu'en imagerie directe, tout en conservant une haute résolution. L'usage d'une méthode optique et un changement automatique de support d'impaction permettent de réaliser des mesures à une fréquence horaire. Dans des tests préliminaires, le comptage des spores individuelles montre de nouveau de fortes et rapides variations temporelles. Ces variations sont différentes selon le pathogène considéré (mildiou ou oïdium), ce qui illustre la sélectivité de la méthode. De plus, elles ne sont pas toutes prévues par les modèles de prévision. La mesure *in situ* et en temps réel des spores devrait donc permettre d'améliorer la prévision locale du risque d'infection.

Conclusions

- Face à la nécessité écologique, sociale et sanitaire de réduire l'impact des traitements phytosanitaires, la prévision du risque d'infection est essentielle pour cibler les traitements aussi précisément que possible dans le temps et l'espace.
- Un réseau dense de stations optiques peut fournir une mesure des spores d'oïdium et de mildiou en temps réel et à une échelle spatiale suffisamment

fine pour anticiper l'apparition des maladies et cibler les traitements seulement sur les parcelles nécessaires, et uniquement en cas de risque avéré d'infection et en présence de spores.

- La mesure des spores en temps réel pourrait affiner les modèles de prévision des infections basées sur les données météorologiques. Le couplage de ces derniers avec les mesures fournirait alors une visibilité optimale sur le risque d'infection, afin de ne traiter qu'en cas de risque avéré. ■

Remerciements

Les auteurs remercient Stéphane Gros et les vignerons de Dardagny de leur accueil et de leur soutien tout au long du projet, ainsi que le groupe de viticulture d'Agroscope pour l'entretien des parcelles de Pully et Vasily Kilin pour son aide lors de la campagne 2019.

Ce travail a été financé par le Fonds national suisse de la recherche (FNS, NCCR MUST) et le Geneva Creativity Center (GCC).

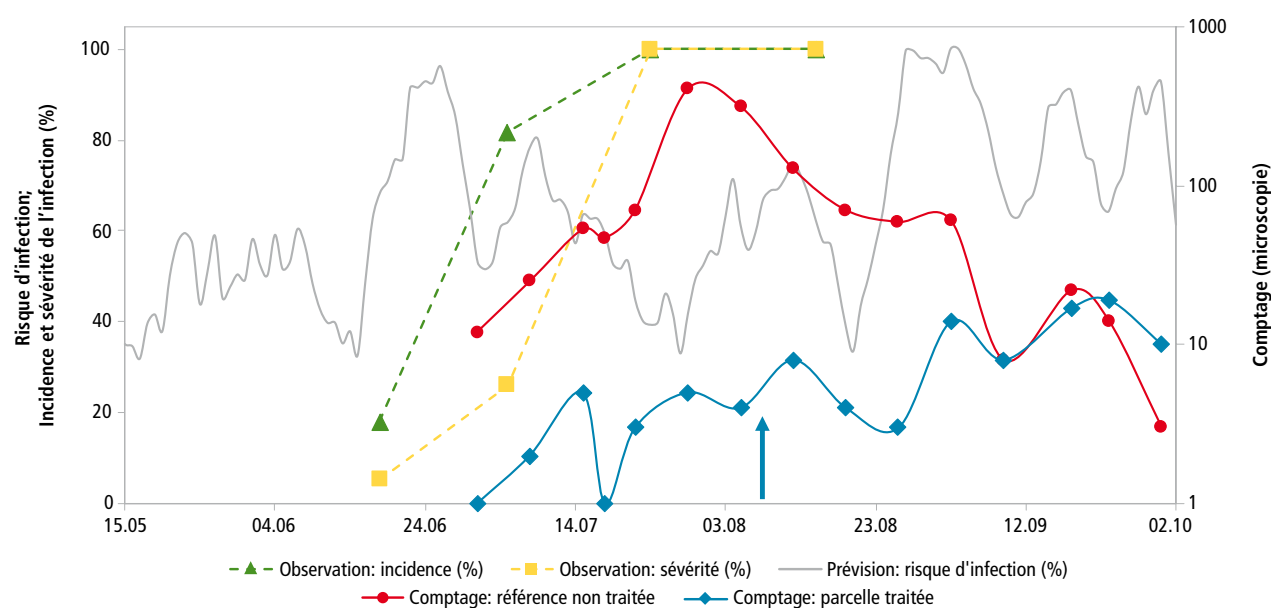


Figure 5 | Comparaison de la concentration de spores mesurée dans l'air, avec le risque d'infection modélisé sans tenir compte de la résistance ontogénique des grappes (VitiMeteo-Oïdium) et l'observation visuelle de l'infection sur une parcelle témoin non traitée. La flèche bleue définit la date d'arrêt des traitements.

Summary

Reducing the use of plant protection products entails a more selective spray application in both space and time.

This, in turn, requires knowledge of the infection risk of common grapevine diseases on a fine scale. We present a network of measurement stations that monitor airborne powdery and downy mildew spores in real-time by means of a laser system. By detecting the presence of spores before they infect the vines, and by acquiring data with a precision of a few hundred meters, these stations aim at providing essential information on the quantitative development of the infection. Information on the presence of spores could be integrated into forecasting models to obtain new decision-making tools to optimize strategies in the management of fungal diseases.

Key words: Spore detection, laser, microscopy, downy and powdery mildew, grapevine.

Zusammenfassung

Die Reduktion vom Pflanzenschutzmitteln Einsatz erfordert eine selektive Behandlung sowohl in räumlicher als auch in zeitlicher Hinsicht.

Dafür braucht man eine detaillierte Kenntnis des Infektionsrisikos auf Parzellenebene. Wir präsentieren ein Netz von Stationen zur Echtzeit-Messung des Vorhandenseins von falscher sowie echter Mehltau-Sporen in der Luft mit Hilfe eines Lasers. Durch die Detektion von Sporen, bevor sie die Reben infizieren, und mit einer Genauigkeit von wenigen hundert Metern, könnten diese Messstationen wertvolle Informationen über die quantitative Entwicklung der Infektion liefern. Diese Quantifizierung von Sporen könnte in Prognosemodelle integriert werden, um neue Entscheidungshilfen zur Optimierung von Maßnahmen zur Bekämpfung von Pilzkrankheiten zu erhalten.

Riassunto

La riduzione dell'uso di agenti fitosanitari richiede che questi vengano utilizzati soltanto dove e quando sono necessari.

A tal fine, è necessario conoscere accuratamente il rischio d'infezione delle comuni malattie delle vigne. In questo lavoro, presentiamo una rete di stazioni di misure volta al monitoraggio in tempo reale delle spore di oidio e plasmopara viticola tramite l'utilizzo di sistemi laser. La rilevazione delle spore in un raggio di alcune centinaia di metri permette di ottenere informazioni sullo sviluppo e la propagazione di queste malattie. Questa tecnologia potrebbe essere integrata nei tradizionali modelli predittivi ottenendo, di conseguenza, un nuovo strumento scientifico capace di fornire indicazioni circa la reale necessità dell'utilizzo di agenti fitosanitari.

Bibliographie

- Bellow S., Latouche G., Brown S.C., Poutaraud A. & Cerovic Z.G., 2012. In vivo localization at the cellular level of stilbene fluorescence induced by *Plasmopara viticola* in grapevine leaves. *J. Exp. Bot.* **63** (10), 3697-707.
- Carisse O., Bacon R. & Lefebvre A., 2009. Grape powdery mildew (*Erysiphe necator*) risk assessment based on airborne conidium concentration. *Crop Protection* **28** (12), 1036-1044.
- Carisse O., van der Heyden H. & Morissette-Thomas V., 2015. Quantitative relationships between *erisyph necator* airborne inoculum density above grape canopy and weather variables. *Acta Hort.* **1068**, 179-188.
- Dubuis P. H., Viret O., Bloesch B., Fabre A. L., Naef A., Bleyer G., Kassemeyer H. H. & Krause R., 2012. Lutte contre le mildiou de la vigne avec le modèle VitiMeteo-Plasmopara, *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture* **44** (3), 192-198.
- Dubuis P. H., Bloesch B., Fabre A. L. & Viret O., 2014. Lutte contre l'oidium à l'aide du modèle VitiMeteo-Oidium, *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture* **46** (6), 368-375.
- Fall M. L., van der Heyden H., Brodeur L., Leclerc Y., Moreau G. & Carisse O., 2015. Spatiotemporal variation in airborne sporangia of *Phytophthora infestans*: characterization and initiatives towards improving potato late blight risk estimation. *Plant Pathology*. **64** (1), 178-190 (2015).
- Kilin V., Mas C., Constant S., Wolf J. P. & Bonacina L., 2017. Health state dependent multiphoton induced autofluorescence in human 3D in vitro lung cancer model. *Sci. Rep.* **7** (1), 16233.
- Kilin V., Kasparian J. & Wolf J. P., 2019. System and method for detecting the presence of spores in fields. Patent EP19170073, pending.
- Lechenet M., Dessaint F., Py G., Makowski D. & Munier-Jolain N., 2017. Reducing pesticide use while preserving crop productivity and profitability on arable farms. *Nat. Plants*. **3** (3), 6