

Mise au point d'un automate et d'une méthode d'analyse d'images pour le suivi de cinétiques d'infection par un champignon pathogène foliaire

Bénédicte FABRE¹
Pierre SANTERRE FILLEUX D'ARRENTIERE¹
Christophe BAILLY¹
Jérôme DEMAISON²
Jérémy PETROWSKI¹
Fabien HALKETT¹

Correspondance

benedicte.fabre@inrae.fr
fabien.halkett@inrae.fr

Résumé.

Progresser dans notre compréhension des interactions plantes-pathogènes nécessite de pouvoir quantifier finement les caractères liés aux processus infectieux. Parmi ces caractères, le temps de latence revêt une importance particulière ; mais la latence est souvent mal déterminée, car sa mesure repose sur des observations visuelles imprécises et trop peu fréquentes. Pour pallier ces défauts, nous avons mis au point un automate permettant de suivre l'infection et la croissance des lésions par prise de photographies zénithales, en conditions contrôlées. Une chaîne d'analyse d'images codée sous ImageJ et R permet d'identifier les lésions et estimer leur croissance. Cette méthode permet de suivre individuellement chaque lésion et de quantifier trois caractères liés au potentiel infectieux : l'efficacité d'infection, la taille des lésions et le temps de latence. Cette méthode a été développée pour suivre les infections causées par un champignon biotrophe responsable de la rouille du peuplier, *Melampsora larici-populina*, sur un dispositif miniaturisé de boîtes à puits (suivi simultané de 1536 échantillons). Notre méthode peut être facilement adaptée à un contexte varié de situations, y compris un suivi de croissance de champignons en boîtes de Petri.

Mots-clés

Automate de prise de photographies, traitement d'images, caractère d'agressivité, latence

1 Université de Lorraine, INRAE, UMR 1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux, France.

2 INRAE, UR Biogéochimie des écosystèmes forestiers, F-54280 Champenoux, France.

Development of an automated picture-taking system and an image analysis method for monitoring infection kinetics in a foliar pathogenic fungus

Bénédicte FABRE¹
Pierre SANTERRE FILLEUX D'ARRENTIERE¹
Christophe BAILLY²
Jérôme DEMAISON²
Jérémy PETROWSKI¹
Fabien HALKETT¹

Correspondence

benedicte.fabre@inrae.fr

fabien.halkett@inrae.fr

Abstract.

To understand plant-pathogen interactions, we need efficient quantification of the traits associated with the infectious process. Among these traits, the latent period is of particular importance, yet, it is often poorly assessed because its measure relies on imprecise and over-infrequent visual observations. To overcome these limitations, we have developed an automated system for monitoring infection and lesion growth by taking zenith photographs under controlled conditions. An image analysis pipeline coded in ImageJ and R is used to identify lesions and estimate their growth. This method enables us to monitor each lesion individually and to quantify three characteristics linked to infectious potential: infection efficiency, lesion size and latency. This method was developed to monitor infections caused by a biotrophic fungus responsible for poplar rust, *Melampsora larici-populina*, on a miniaturized well-box device (simultaneous monitoring of 1536 samples). Our method can be easily adapted to a variety of situations, including the monitoring of fungal growth in Petri dishes.

Keywords

Automated picture-taking system, image analysis, aggressiveness, latency

¹ Université de Lorraine, INRAE, UMR 1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux, France.

² INRAE, UR Biogéochimie des écosystèmes forestiers, F-54280 Champenoux, France.

Introduction

Un des thèmes de recherche développés dans l'équipe d'écologie des champignons pathogènes forestiers de l'unité « Interactions Arbres-Microorganismes » du centre INRAE Grand Est-Nancy est l'étude des caractères quantitatifs du champignon pathogène *Melampsora larici-populina*, responsable de la rouille foliaire du peuplier (Fabre et al., 2021). Parmi les différentes composantes de l'agressivité, le temps de latence est un caractère crucial pour quantifier la dynamique d'infection (Pariaud et al., 2009). Il se définit comme l'intervalle de temps compris entre l'infection d'une feuille par une spore du champignon pathogène et le début de la production de nouvelles spores par cette infection. Le temps de latence est un élément clé du cycle infectieux d'un champignon pathogène. Ce trait d'histoire de vie s'apparente à l'âge de reproduction chez les organismes supérieurs et détermine donc en grande partie le succès reproducteur du champignon parasite. L'étude du temps de latence est donc primordiale pour mieux comprendre l'évolution du pouvoir pathogène et la dynamique des épidémies causées par les champignons parasites foliaires.

Différentes méthodes existent pour mesurer le temps de latence chez un agent pathogène, en association avec la méthode d'inoculation contrôlée choisie. Bien souvent, en phytopathologie, est inoculée une suspension de milliers de spores. L'expérimentation revient alors à suivre une cohorte d'infections qui se développent conjointement. Le temps de latence peut être considéré comme l'intervalle de temps compris entre l'infection et la date à laquelle la première lésion commence à sporuler, ou bien comme le temps nécessaire pour l'apparition de la moitié des lésions sporulantes (T50) (Pariaud et al., 2009). Une autre méthode, plus précise et plus couramment utilisée consiste à suivre la dynamique d'apparition des lésions sporulantes et de modéliser cette dynamique par une courbe sigmoïde dont le point d'inflexion donne une estimation du temps de latence moyen de la cohorte des lésions (Shaner, 1980). Quelle que soit la méthode choisie, la mesure du temps de latence s'avère coûteuse en temps et en main-d'œuvre. En effet, les échantillons étudiés doivent être contrôlés à la loupe binoculaire une à plusieurs fois par jour durant le cycle infectieux. Cette mesure est également entachée d'erreurs expérimentales, car elle nécessite une notation experte qui peut être sujette à des variations d'interprétation selon les notateurs. Ce dernier point limite également la portabilité de la méthode et la comparaison des résultats entre laboratoires.

Il nous est donc apparu nécessaire de développer une nouvelle méthode, à la fois efficace et standardisée, de détection automatisée de la sporulation des lésions sur disques foliaires infectés. Pour améliorer le suivi de la cinétique d'infection, nous avons mis au point un automate de prise de photos : nous avons fabriqué et programmé un automate afin d'obtenir le suivi de l'infection et de la croissance des lésions par prise d'un grand nombre de photographies zénithales, en conditions contrôlées. Puis nous avons développé une méthode automatisée d'analyse des images produites par l'automate. L'analyse d'images a déjà été utilisée dans de nombreux cas pour l'étude d'infection d'un végétal par un agent pathogène (Czedik-Eysenberg et al., 2018 ; Bousset et al., 2019 ; Divilov et al., 2017 ; Khiook et al., 2013). Les gains de temps, d'argent et d'efficacité engendrés (Bock et al., 2008) en font une méthode adaptée à la mesure de caractères d'agressivité d'un agent pathogène sur des disques foliaires infectés. Mais les analyses d'image conduites sont limitées par leur capacité : le nombre d'échantillons analysables en simultané (Czedik-Eysenberg et al., 2018), la nécessité de déplacer ou apporter des modifications aux échantillons avant l'analyse (Khiook et al., 2013), la nature de la feuille (Divilov et al., 2017) (nervures, jaunissement avec l'âge) qui fausse l'analyse d'images. Afin d'obtenir une mesure automatisée du temps de latence par analyse d'images, nous avons donc développé une chaîne d'analyses codée sous ImageJ et R. Cette méthode a été éprouvée et validée lors d'une expérimentation à grande échelle menée en 2018. Dans cet article, nous présenterons dans une première partie l'automate de prise de photographies, puis nous détaillerons les processus de traitements des images conduisant à la mesure des caractères d'agressivité.

Principe de la méthode et des matériels utilisés

La méthode générale se résume au suivi automatisé et simultané d'un grand nombre de lésions causées par un champignon pathogène de plantes, pour leur caractérisation par analyse d'images en conditions contrôlées. Notre modèle d'étude est le champignon *Melampsora larici-populina*, un parasite foliaire biotrophe du peuplier. Le dispositif repose sur l'inoculation contrôlée de disques foliaires de peuplier, mis en survie par flottaison dans des boîtes à puits (Figure 1). Dans le cas présenté ici, la technique d'inoculation choisie est l'inoculation monospore : dépôt d'une seule spore dans une goutte d'eau gélosée préalablement disposée au centre d'un disque foliaire.

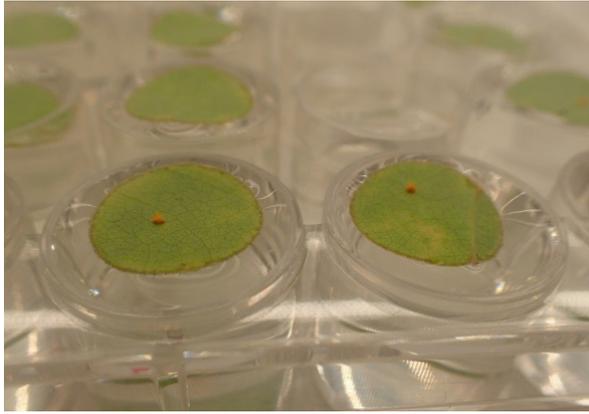


Figure 1. Photographie rapprochée d'une boîte à puits contenant des disques foliaires de peuplier de 12 mm de diamètre en flottaison, face inférieure au-dessus. Les deux disques foliaires au premier plan présentent une lésion sporulante du champignon *Melampsora larici-populina*.

Description de l'automate de suivi des infections par prise de photographies

La première étape a été de concevoir un automate permettant le suivi automatique d'infections sur un très grand nombre de disques foliaires. Dans notre configuration, l'automate peut ainsi assurer le suivi simultané d'au plus 64 boîtes contenant chacune 24 puits, soit 1536 échantillons. L'automate prend ces boîtes en photographie à une fréquence régulière, permettant l'étude du développement de lésions du champignon durant une période donnée (Figure 2).



Figure 2. Photographie d'une paillasse équipée pour le suivi automatisé des infections sur disques foliaires. Sur celle-ci, sont placées des boîtes à puits en cours de suivi.

Les boîtes sont réparties sur deux paillasse (150 cm x 70 cm) en salle d'incubation climatisée (Figure 2). Chaque paillasse est équipée d'une structure métallique qui supporte l'ensemble de l'automate ainsi qu'un plafond lumineux. Chaque dispositif lumineux est composé de six rails LED à spectre visible complet et d'un indice de rendu couleur de 95 (Colasse SA, Kits Rails LED Horticoles Vegeled®). Un variateur permet de régler l'intensité lumineuse. Afin d'assurer une réflexion de la lumière sur les bords de la paillasse, des parois en PVC blanc sont installées autour de la structure (celle de devant étant amovible afin d'accéder plus facilement aux boîtes contenant les échantillons).

Chaque paillasse est équipée d'un dispositif de prise de vue indépendant, composé de deux appareils photo fixés côte à côte sur un chariot. Il s'agit d'appareils « Nikon® D5200 » équipés d'objectifs macro Nikon® 60 mm Micro Nikkor à focale fixe (Figure 3A). Ceux-ci sont alimentés sur le secteur et sont directement reliés par un câble USB à l'ordinateur de contrôle pour l'enregistrement des photographies. La gestion des appareils photo (réglages et stockages des photos) sur l'ordinateur de contrôle se fait à l'aide du logiciel digiCamControl (digiCamControl, 2018). Les photographies sont nommées par la date et l'heure de la prise de vue, suivies du nom de l'appareil photo. Un autre câble de télécommande raccorde les appareils photo à une carte de contrôle pour permettre un déclenchement automatique des prises de vue.

Le chariot se déplace le long d'un rail grâce à une courroie crantée entraînée par un moteur à courant continu (Murzins Video Equipment). L'alimentation du moteur est aussi raccordée à la carte de contrôle pour l'automatisation des déplacements du chariot. Pour chaque automate, huit arrêts des appareils photo sont possibles. À chaque arrêt se trouve un capteur de déplacement qui détecte un aimant placé sur le chariot des appareils photo (Figure 3B). L'arrivée du chariot à proximité du capteur déclenche un signal électrique qui est traité par la carte de contrôle.

Enfin, pièce centrale de l'automate, une unique carte de contrôle reliée à l'ordinateur gère les deux dispositifs; elle est programmable à l'aide de l'éditeur ConTEXT (ConTEXT Programmers Editor, 2018). La carte contrôle à la fois les déplacements des appareils photo (mise en marche avant-arrière du moteur et arrêt lors de la rencontre avec un capteur marquant un emplacement de prise de vue) et le déclenchement de la prise d'images.



A



B

Figure 3. A : Photographie du chariot portant les appareils photo.
B : Les éléments en rouges sur la grille correspondent aux capteurs de déplacement.

Réglage des emplacements de prise de vue et des appareils photo

Pour chaque paillasse, l'automate effectue huit arrêts, qui correspondent chacun à deux emplacements de prise de vue. Les réglages choisis des appareils photo permettent la visualisation de deux boîtes à 24 puits par appareil (ce qui définit un emplacement).

Il est important d'obtenir pour un même emplacement une photographie strictement identique (au niveau du cadrage) à chaque passage des appareils photo. L'empilement étant parfait entre boîtes à 24 puits, les emplacements sont matérialisés par des boîtes vides fixées à la paillasse, sur lesquelles sont posées par encastrement les boîtes contenant les disques foliaires (Figure 5).



Figure 5. Photographie de l'empilement d'une boîte à 24 puits contenant les disques foliaires sur une boîte vide.

Au début de l'expérimentation, pour les deux appareils photo de l'automate, un focus automatique est réalisé sur des boîtes à 24 puits contenant des disques foliaires à l'aide du logiciel digiCamControl. Puis, l'autofocus est désactivé de manière à conserver les mêmes réglages durant l'expérimentation. La profondeur de champ autorise des variations de quelques millimètres. Il n'est donc pas nécessaire que

tous les disques soient au même niveau de flottaison pour être dans le même plan focal. Tous les deux ou trois jours il est tout de même nécessaire de compenser l'évaporation par ajout manuel d'eau dans les puits.

Analyse des images

Les images prises par l'automate sont stockées dans un même dossier sur l'ordinateur de contrôle. Une fois l'expérimentation terminée, les images sont triées grâce à un algorithme réalisé en langage Batch. Celui-ci répartit les images dans des dossiers correspondant aux différents emplacements de prise de vue. Les images sont ensuite analysées directement depuis ces dossiers par un script d'analyse d'images utilisant le logiciel ImageJ/FIJI (Schneider *et al.*, 2012; Schindelin *et al.*, 2012; Rueden *et al.*, 2016). Le script permet d'analyser sans aucune intervention de l'utilisateur les 16 emplacements d'une paillasse (soit 768 échantillons) et de produire automatiquement des tableaux de données finaux. Les étapes du script sont détaillées ci-dessous. Ces scripts sont disponibles sous recherche Data Gouv :

<https://doi.org/10.57745/XU7SKK>.

Entrées du script d'analyse d'images

Au lancement du script d'analyse d'images, une boîte de dialogue s'ouvre (Figure 6). Quelques paramètres sont à renseigner comme le nom du dossier où sont stockées les images, le nombre de disques foliaires à analyser par boîte à puits et le nombre d'emplacements de prise de vue à considérer. Ces informations vont permettre notamment une numérotation automatique des échantillons pour les tableaux de résultats finaux.

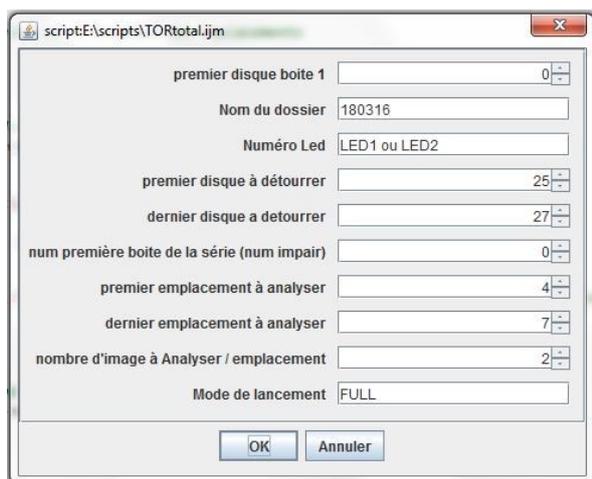


Figure 6. Présentation de la boîte de dialogue qui s'affiche au lancement du script.

Détourage automatique

La première étape de l'analyse d'images consiste à isoler chacun des 48 puits présents sur un emplacement de prise de vue (deux boîtes à 24 puits par emplacement), représentant 48 échantillons distincts. Une option de détourage automatique a été développée. Pour chaque emplacement de prise de vue, l'utilisateur enregistre dans le fichier MakeRectangle.txt les coordonnées d'un point de repère sur l'image (dans notre expérimentation est utilisée la lettre « C » gravée sur une des boîtes à 24 puits). À partir de ces coordonnées, le script peut situer les 48 puits de l'image via une fonction d'extraction des coordonnées. Après avoir obtenu les 48 images correspondant chacune

à un des 48 puits de l'emplacement, le script procède à leur enregistrement en encodant à la suite du nom de l'image initiale : le numéro de l'emplacement de prise de vue, le numéro de la boîte à 24 puits, l'identifiant de l'échantillon, et son emplacement dans la boîte.

Division de l'image en trois zones caractéristiques

Une fois l'image d'un emplacement détournée en 48 images contenant chacune un puits s'en suit la détection de la présence d'un disque foliaire dans chaque puits ainsi que la présence éventuelle d'une lésion (infection par le champignon) sur ce disque foliaire. Cette étape est réalisée à l'aide du plug-in Codicount (Perez *et al.*, 2017). Celui-ci permet de trier automatiquement les pixels d'une image RGB en trois classes : ce qui est infecté (la lésion orange), ce qui ne l'est pas (le disque foliaire) et ce qui appartient au fond (le puits en lui-même) (Figure 7). Son utilisation nécessite au préalable une calibration faite sur plusieurs images (disques jeunes, disques sénescents, disques avec nervures, disques sans nervures, etc.) à partir desquelles nous avons sélectionné les pixels représentatifs des trois classes décrites ci-dessus. Avant chaque expérimentation, une calibration de l'automate doit être réalisée ; aucune modification ne doit y être apportée jusqu'à la fin de l'analyse d'images. Le plug-in Codicount génère ensuite une ligne de code qui est insérée dans le script d'analyse d'images.

À la fin de cette étape, le script d'analyse d'images produit, pour chaque image de puits analysée, une ligne de tableau contenant les aires en nombre de pixels des

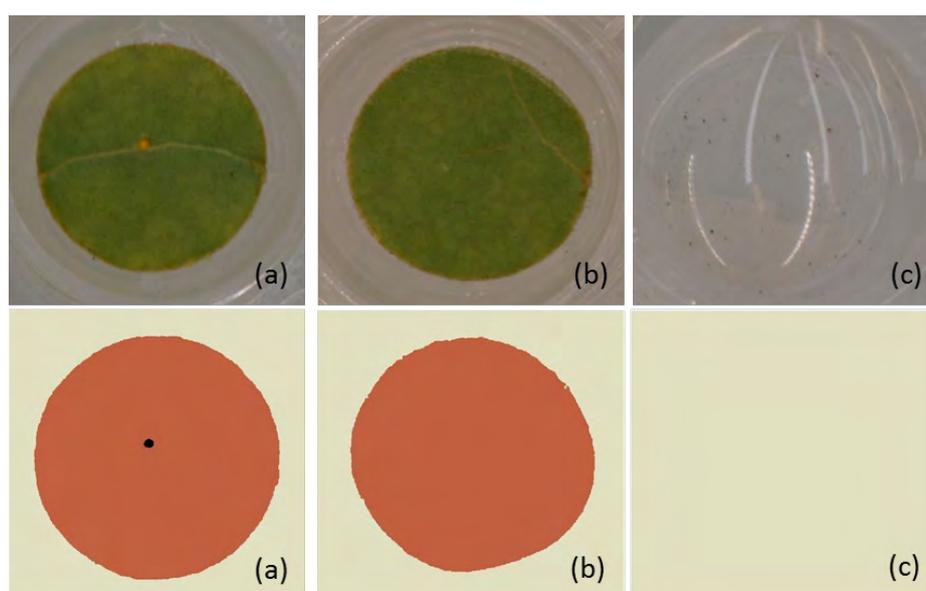


Figure 7. En haut, trois images issues du détourage automatique : (a) un disque foliaire infecté, (b) un disque foliaire non-infecté, (c) un puits vide. En bas, ces trois mêmes images analysées par le plug-in Codicount : le disque foliaire sain est coloré en orange et la lésion en noir, le fond est coloré en beige.

classes « infectée » (lésion) et « non infectée » (disque sain) et procède à l'enregistrement des images générées.

Analyse de particules

Les images en couleurs générées par le plug-in Codicount sont ensuite converties en noir et blanc : les pixels noirs restent noirs, les pixels beiges et orange deviennent blancs. Cette modification permet la réalisation de la commande « Analyse Particules » d'ImageJ. Cette analyse de particules mesure des caractéristiques fines de la lésion détectée (pixels noirs) : la circularité de la lésion, son aire et son périmètre, qui sont transcrits dans un tableau.

Production de tableaux de données pour l'analyse statistique

Le script d'analyse d'images génère deux tableaux par emplacement soit un tableau par boîte à puits. Chacun d'eux fait environ 5000 lignes si l'automate est programmé pour prendre une photographie de chaque emplacement toutes les deux heures pendant sept jours. Des scripts et fonctions sous R (R Core Team, 2018) ont ensuite été développés pour rendre exploitables ces tableaux de données (doi.org/10.57745/XU7SKK).

Mise en forme des tableaux de l'analyse d'images

Lors de l'analyse d'images, des métadonnées ont été encodées dans le nom des images. Des commandes R sont utilisées pour extraire ces informations des tableaux issus du traitement des images par le plug-in Codicount et les inclure dans de nouvelles colonnes. Puis, les tableaux générés par l'analyse d'images sont fusionnés afin de rassembler les résultats du plug-in Codicount et de l'analyse de particules pour une même image.

Détection et élimination des faux positifs

Malgré la réalisation d'une calibration fine pour l'utilisation du plug-in Codicount, des pixels de couleur jaune ne correspondant pas à une lésion (chlorose du disque foliaire, nervures) peuvent être comptabilisés dans la classe « infectée » lors de l'analyse d'images. Deux filtres successifs sont alors appliqués au jeu de données afin d'éliminer ces objets détectés sur les disques foliaires et étiquetés comme des lésions. Le premier filtre est un filtre « qualitatif », il s'appuie sur les caractéristiques fines

des objets générées par l'analyse de particules. Ici, un objet est considéré comme une « vraie » lésion si son aire totale est supérieure à 70 pixels et si sa circularité est d'au moins 0,62. Le deuxième filtre est un filtre « temporel », il s'appuie sur l'évolution du comportement dans le temps de l'objet détecté. Les deux principaux critères de ce filtre sont :

- la croissance de la taille des lésions. L'aire mesurée de la lésion doit croître dans le temps. En termes de filtre, cela signifie que l'aire d'infection mesurée pour un disque foliaire au temps n doit être inférieure à l'aire mesurée au temps $n + 1$ dans au moins x % des cas, x étant à définir selon le cas d'étude ;
- le nombre d'images où l'objet est détecté. Pour qu'un disque foliaire soit considéré comme infecté, il faut que la lésion ait été détectée sur au moins x images au cours du temps, x étant à définir selon le cas d'étude ;

Une fois le tableau général nettoyé, il peut être fusionné au tableau de données générales du plan d'expérience pour la réalisation des analyses statistiques.

Mesure de caractères d'agressivité

Les données obtenues par l'automate permettent ainsi d'obtenir la mesure fiable de plusieurs caractères d'agressivité en simultané pour 1 536 échantillons.

Deux premiers caractères correspondent à ceux mesurés par une observation visuelle classique. Il s'agit de :

- l'efficacité d'infection : la détection automatique de la présence de lésions sur les disques foliaires permet de calculer un pourcentage de succès d'infection,
- le temps de latence qui est défini comme l'intervalle de temps entre la date d'inoculation et la première date à laquelle une lésion est détectée sur un disque foliaire.

L'analyse de l'augmentation de la taille de lésion permet de définir deux autres caractères qui sont propres à cette analyse d'images. En effet, en appliquant une régression linéaire sur l'évolution du nombre de pixels jaune orangé qui sont détectés (et qu'on peut appeler à l'augmentation de la taille de la surface sporulante) on peut définir deux autres caractères :

- un proxy de la date de début de sporulation, qui est définie comme la valeur d'intercepte de la droite de régression avec l'axe des abscisses, et
- un proxy de la sporulation (quantité de spores produites au cours du temps) via la valeur de la pente de la droite de régression.

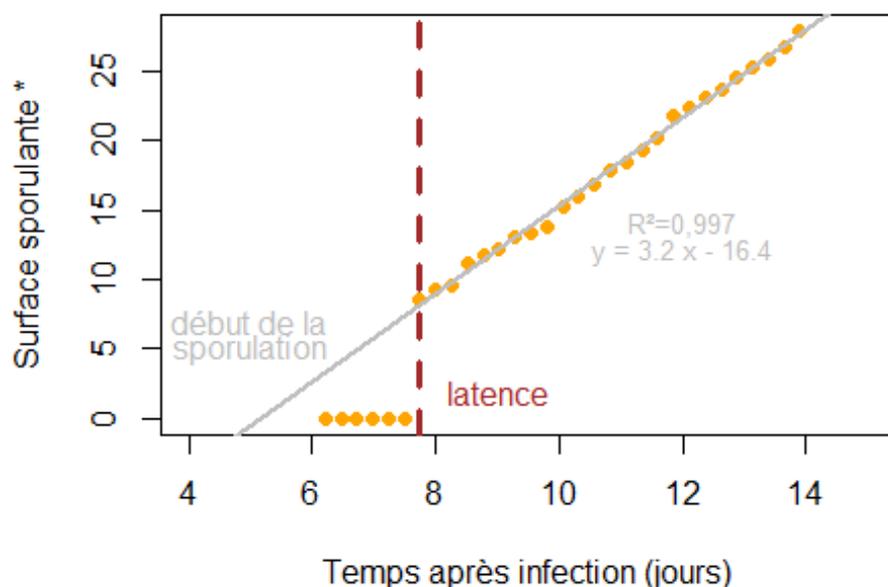


Figure 8. Illustration de la mesure des caractères d'agressivité par l'étude de la régression linéaire sur l'augmentation de la surface sporulante* quantifiée par l'analyse d'image. Ce graphique illustre l'augmentation de la quantité de pixels attribués à l'aire d'une lésion au cours du temps (points oranges). Outre la latence (date de première apparition de la lésion sporulante en rouge brique), l'ajustement d'une droite de régression (en gris) permet de déterminer la date de début de sporulation (valeur d'intersection avec l'axe des abscisses) et de quantifier la sporulation (pente de cette droite)

*NB : nous avons linéarisé les données d'augmentation de la surface sporulante par une transformation racine-carrée (voir les détails de l'analyse dans le document word déposé dans l'archive contenant les scripts Image J et R).

Conclusion

Nous avons développé une nouvelle méthode couplant acquisition et analyse d'images lors d'une cinétique d'infection, dans le but de pouvoir quantifier finement différents caractères d'agressivité, notamment le temps de latence. La chaîne d'analyse que nous avons développée permet le traitement des images d'un emplacement de prise de vue en moins d'une heure, ce qui permet d'obtenir en quatre jours d'analyse des tableaux de résultats pour l'ensemble des 32 emplacements de l'automate, soit 1536 échantillons. Cette méthode est non seulement efficace, mais aussi plus précise. Les mesures de caractères d'agressivité sont affranchies d'un effet « expérimentateur », limitant ainsi les erreurs

expérimentales et augmentant la reproductibilité des mesures et la puissance statistique lors de leur analyse. De plus, la prise en photographie des échantillons permet un retour en arrière sur les mesures et de nouvelles analyses, qui ne sont pas possibles lors de mesures manuelles. Selon le plan d'expérience envisagé, cet outil peut être utilisé pour définir des normes de réaction (spectre de réponses d'un génotype de l'agent pathogène pour une gamme de variation environnementale, par exemple le degré de maturité foliaire) (Maupetit *et al.*, 2018), quantifier l'héritabilité des caractères d'agressivité (variabilité génotypique des agents pathogènes) (Maupetit *et al.*, 2021) et tester l'adaptation aux différents cultivars de peuplier (quantification des interactions GxGxE). ■

Références

- Bock C.H., Parker P. E., Cook A.Z., et al. (2008). Visual rating and the use of image analysis for assessing different symptoms of citrus canker on grapefruit leaves. *Plant Disease*, 92 (4), 530-541.
- Bousset L., Palerme M., Leclerc M., et al. (2019). Automated image processing framework for analysis of the density of fruiting bodies of *Leptosphaeria maculans* on oilseed rape stems. *Plant Pathology*, 68 (9), 1749-1760.
- ConTEXT Programmers Editor (2018). ConTEXT: control and automation by simple text.
- Czedik-Eysenberg A., Seitner S., Guldener U., et al. (2018). The "PhenoBox", a flexible, automated, open-source plant phenotyping solution. *New Phytologist*, 219 (2), 808-823.
- digiCamControl (2018). The free tethered shooting solution.
- Divilov K., Wiesner-Hanks T., Barba P., et al. (2017). Computer vision for high-throughput quantitative phenotyping: A case study of grapevine downy mildew sporulation and leaf trichomes. *Phytopathology*, 107 (12), 1549-1555.
- Fabre B., Bastien C., Husson C., Marçais B., Frey P., Halkett F. (2021). Un effet papillon dans les peupleraies françaises : les répercussions d'un contournement de résistance sur les méthodes de sélection variétale. In: Lannou C., Roby D., Ravigné V., Hannachi M., Moury B., Eds. L'immunité des plantes : Pour des cultures résistantes aux maladies. Editions Quae, Versailles, 329-339. Réf. HAL: [hal-03324138](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03324138).
- Khiok I.L.K., Schneider C., Heloir M.C., et al. (2013). Image analysis methods for assessment of H₂O₂ production and *Plasmopara viticola* development in grapevine leaves: Application to the evaluation of resistance to downy mildew. *Journal of Microbiological Methods*, 95 (2), 235-244.
- Maupetit A., Larbat R., Pernaci M., et al. (2018). Defense compounds rather than nutrient availability shape aggressiveness trait variation along a leaf maturity gradient in a biotrophic plant pathogen. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1396.
- Maupetit A., Fabre B., Pétrowski J., et al. (2021). Evolution of morphological but not aggressiveness-related traits following a major resistance breakdown in the poplar rust fungus, *Melampsora larici-populina*. *Evolutionary Applications*, 14 (2), 513-523.
- Pariaud B., Ravigne V., Halkett F., et al. (2009). Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology*, 58 (3), 409-424.
- Perez G., Burte V., Baron O., (2017) Une méthode d'analyse d'image automatique pour quantifier rapidement les nombres d'œufs et les taux de parasitisme chez *Trichogramma* sp. *Cahier des Techniques de l'INRA*, numéro spécial, 135-142.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/>
- Rueden C., Dietz C., Horn M. et al. (2016). ImageJ Ops. <http://imagej.net/Ops>.
- Shaner G. (1980). Probabilities for analyzing latent period data in studies of slow rusting resistance. *Phytopathology*, 70, 1179-1182.
- Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E. et al. (2012). Fiji: an open source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9 (7), 676-682.
- Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9 (7), 671-675.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA). <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>.

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « NOV'AE », la date de sa publication et son URL.