



HAL
open science

Phénotypage haut débit des interactions entre plantes et micro-organismes : exemple des légumineuses

Christophe Salon

► To cite this version:

Christophe Salon. Phénotypage haut débit des interactions entre plantes et micro-organismes : exemple des légumineuses. Conférence "Structure Fédérative de Recherche QUASAV" Toulouse Phénotypage, May 2014, Toulouse, France. hal-02791946

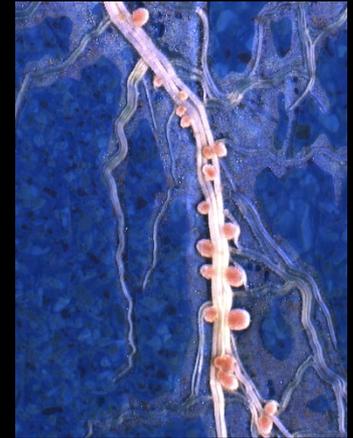
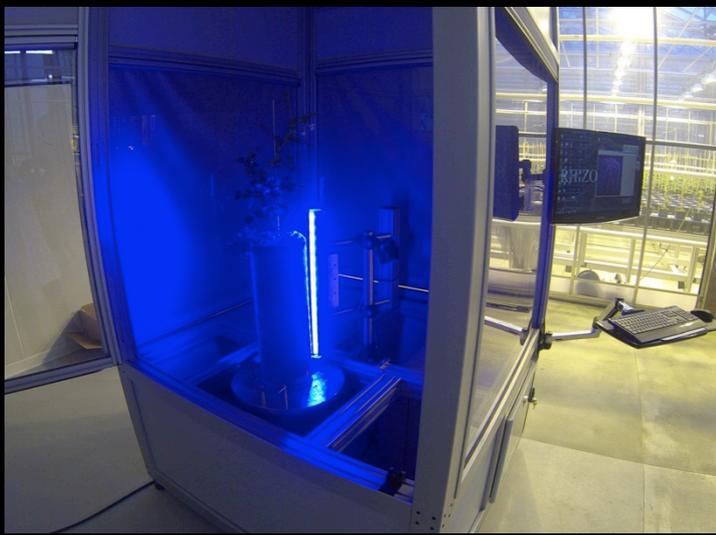
HAL Id: hal-02791946

<https://hal.inrae.fr/hal-02791946>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



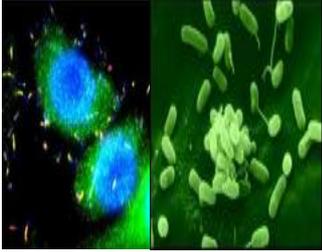
Phénotypage haut débit des interactions entre plantes et micro-organismes : exemple des légumineuses

Christophe SALON
UMR 1347-AgroSup/INRA/uB
17 rue Sully - BP 86510 - 21065 Dijon - France



UMR Agroécologie → Systèmes de Culture innovants

Exploiter et caractériser la variabilité génétique, les interactions entre organismes

EcoDur	GEAPSI	IPM	MERS
			
<p>Légumineuses Céréales Colza Adventices Associations</p>	<p>Légumineuses Adventices Associations Medicago Arabidopsis</p>	<p>Légumineuses Vigne, Tabac Tomate Medicago Arabidopsis</p>	<p>Listeria et Tissus racinaire</p>

Spécificités : une gamme définie d'objets d'étude, interactions plantes/micro-organismes

Outils et méthodes

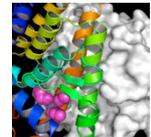


Variabilité génétique



Conception d'Idéotypes de plantes

Mécanismes et bases moléculaires



Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
		Fluxomique			
		PPHD			
		Rhizotrons			
		Rhizobox			

Dispositifs de culture

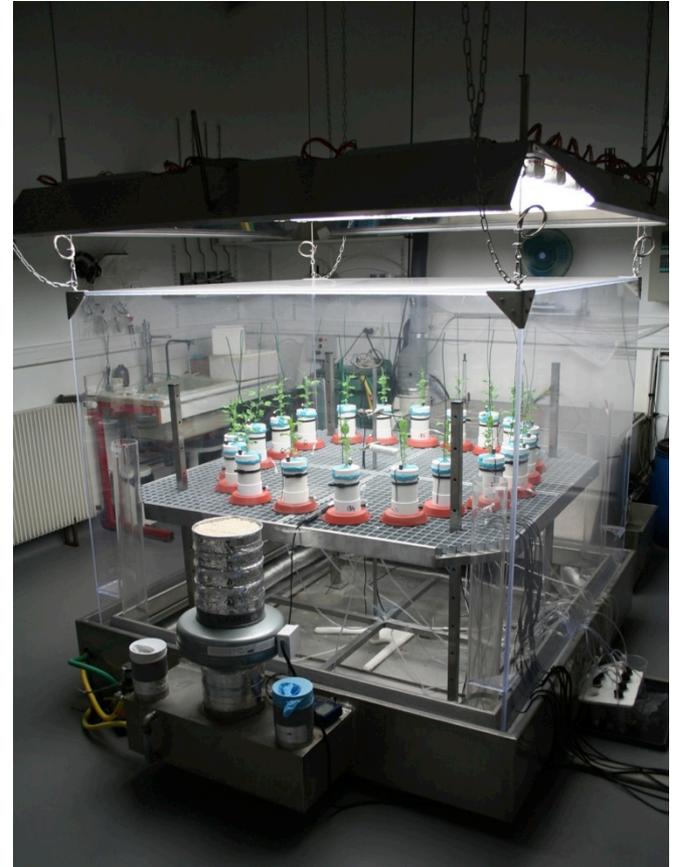


Poches, hydroponique



Split root isotopique N₂

Mesures des C, N, S



Chambre de marquage
¹³C/¹⁵N/³⁴S

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
		Fluxomique			
		PPHD		Equipements	
		Rhizotrons		Shoot roots etc...	
		Rhizobox		Comme au cinéma..	

Plateforme de Phénotypage Haut Débit



Bâtiment,
Serres (240+110m²),
Chambres climatiques (80m²)
Robots et caméras technologie « Lemnatec »

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
----------	----------	--------	----------	---------	------------

Fluxomique
PPHD
Rhizotrons
Rhizobox

Equipements
Shoot roots etc...
Comme au cinéma..

Architecture aérienne




20 unités/h

Plantes des agrosystèmes

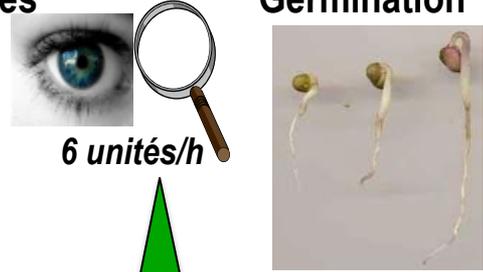
Organes (graines...)




Petites plantes



Germination

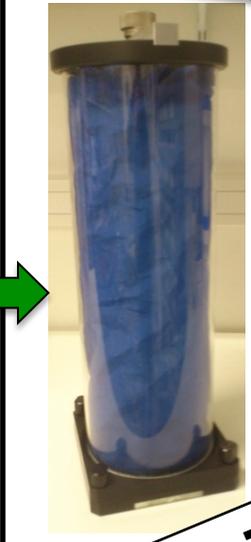


6 unités/h

2 unités/h




Racines



120 unités/h




100 unités/h



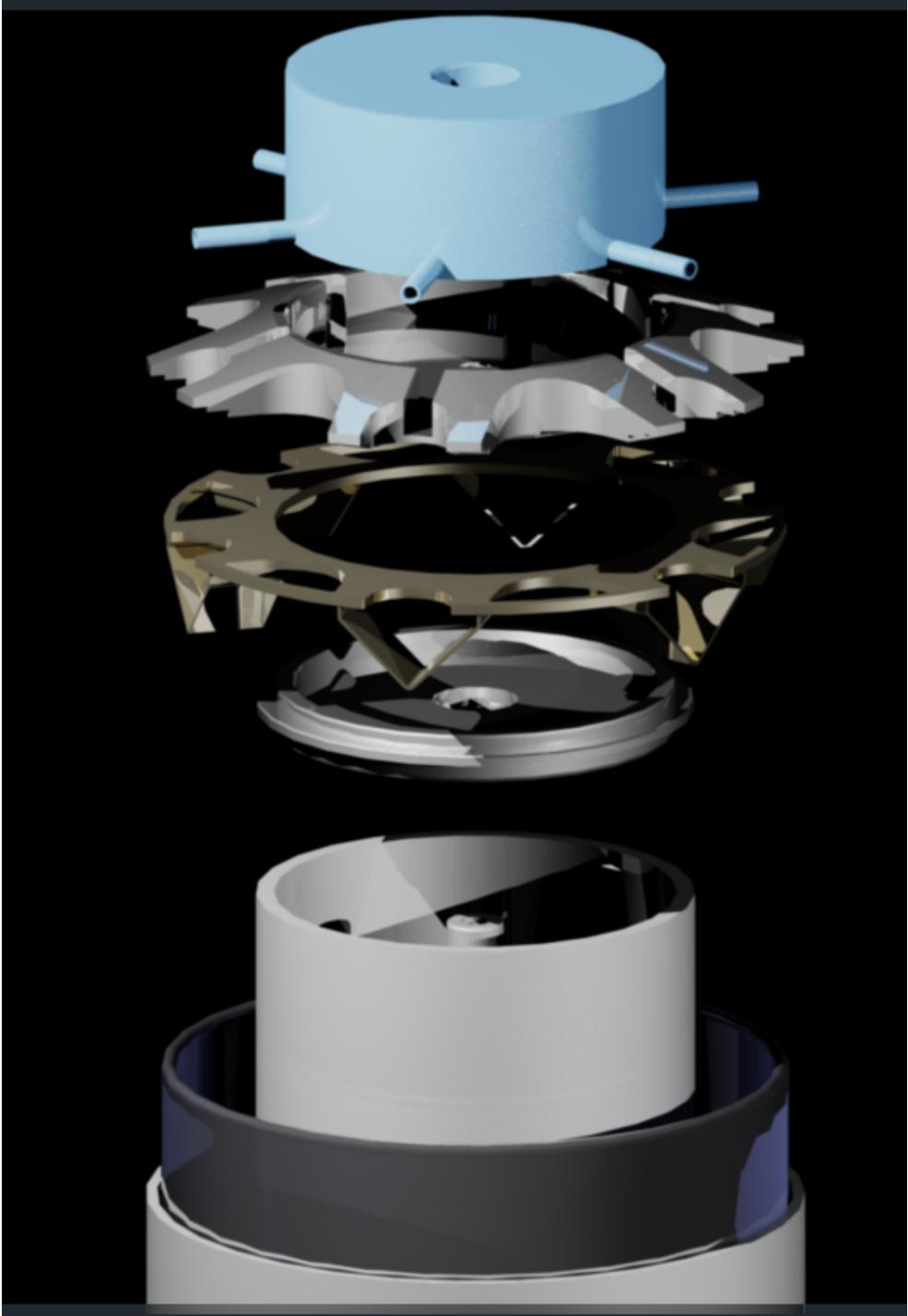
Capacité ≈ 1800 plantes

Très large capacité

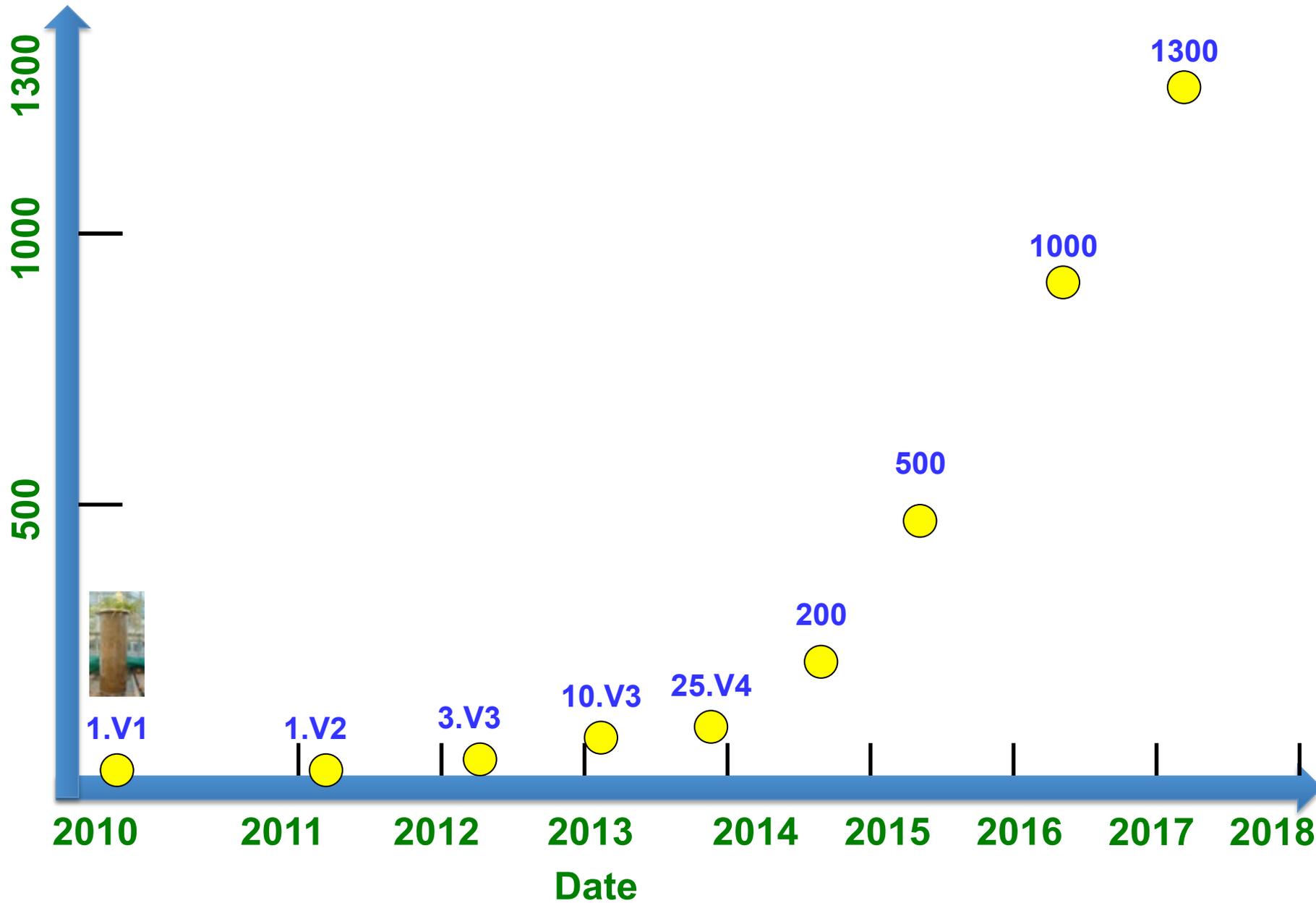
Cabines de phototypage avec caméras et robots

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
		Fluorimétrie			
		PPHD	Equipements		
		Rhizotrons	Shoot roots etc		



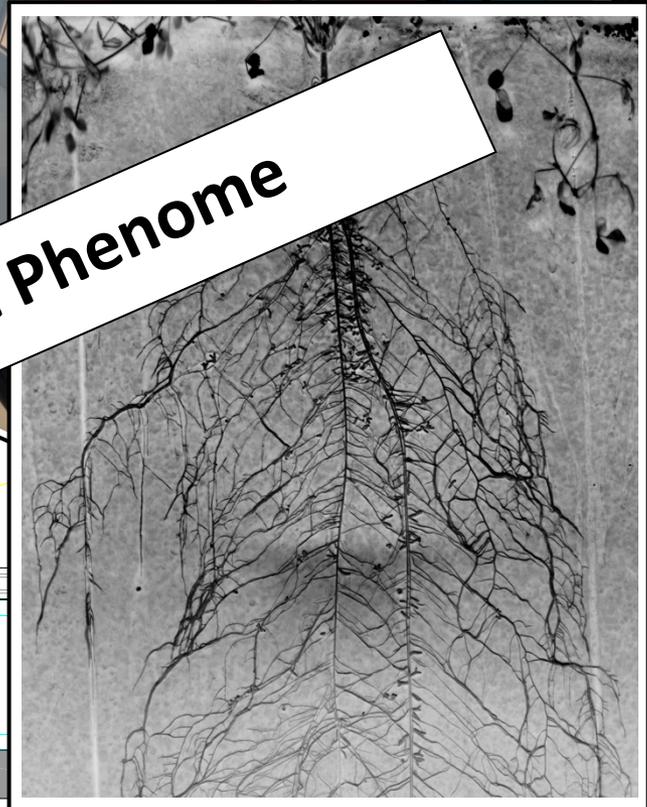
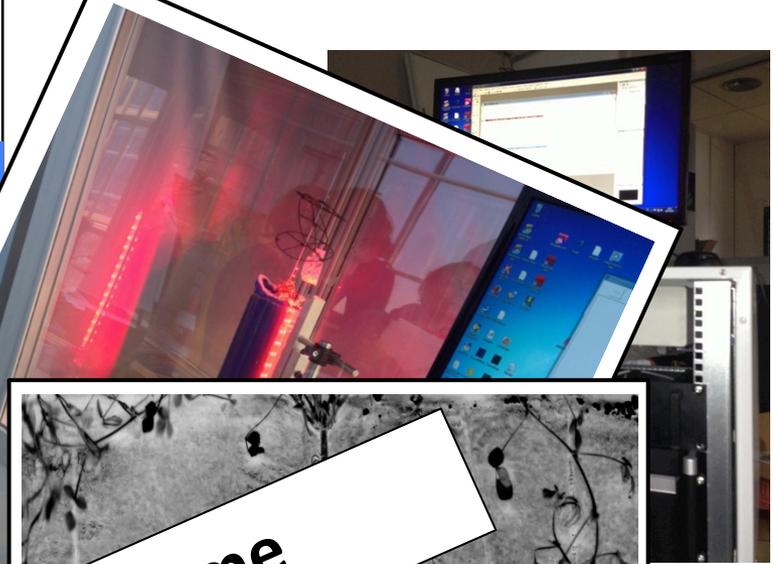
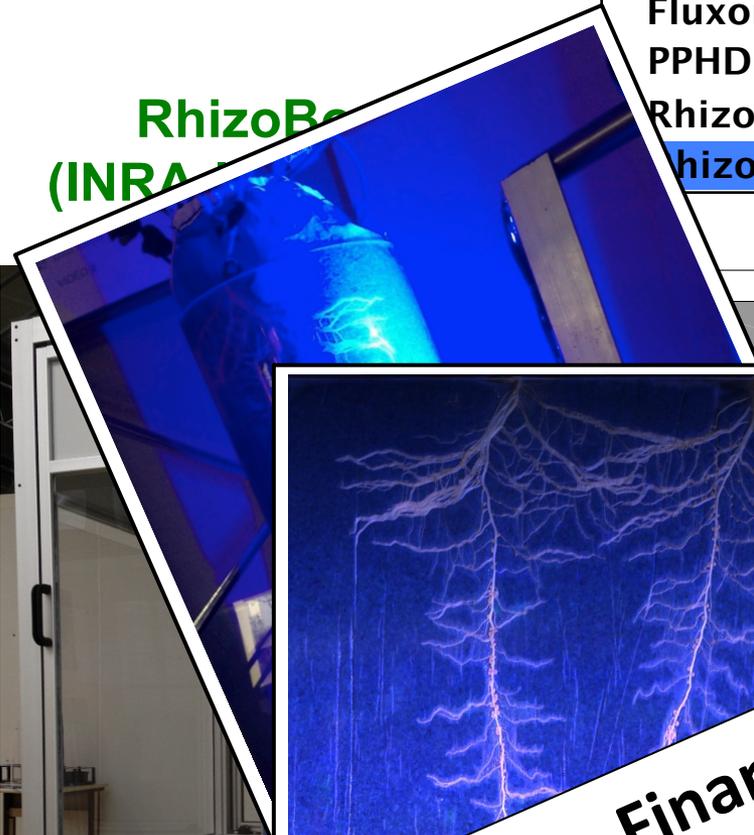


Rhizotrons



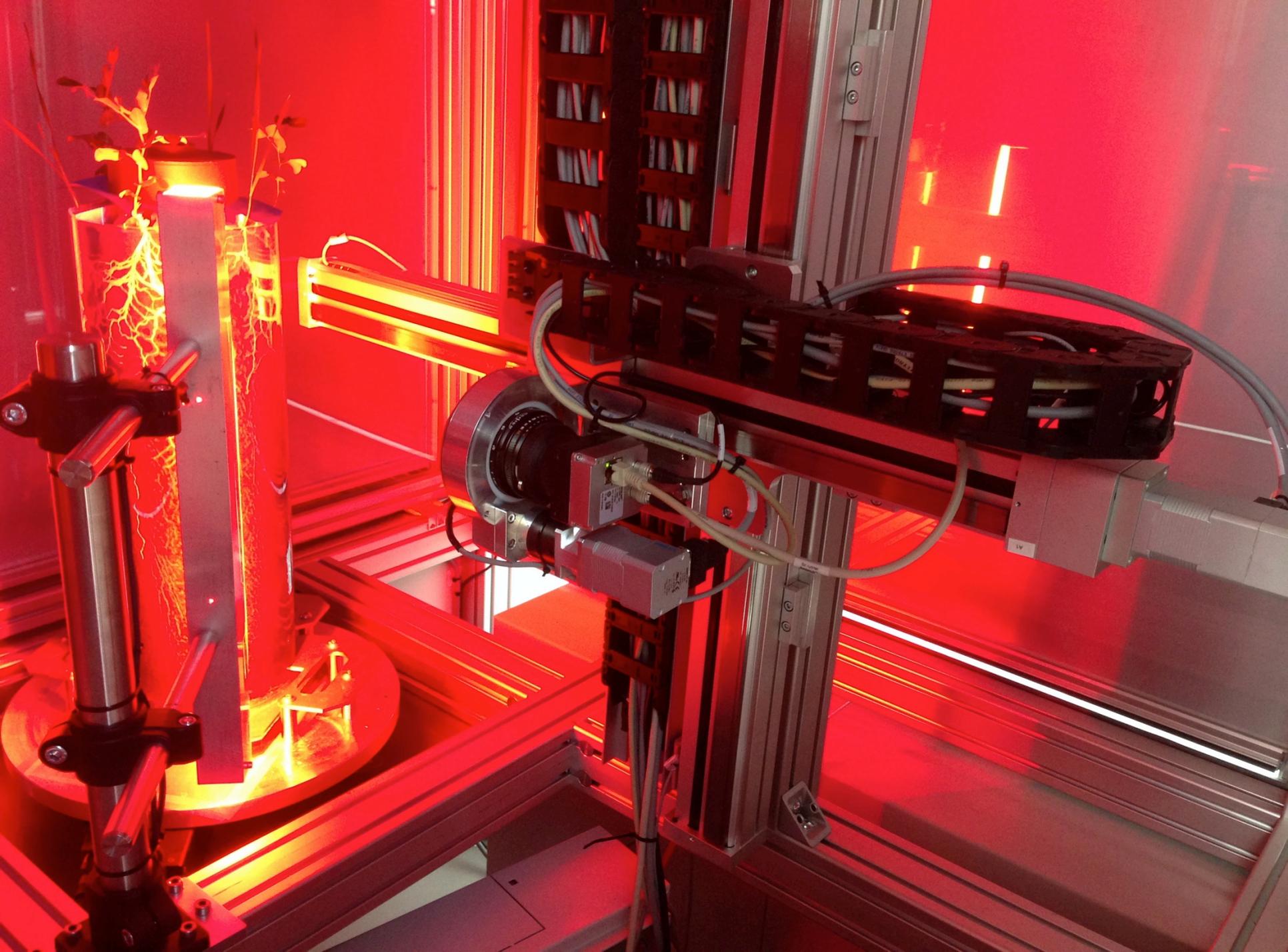
		Fluorimétrie PPHD Rhizotrons Rhizobox			
--	--	------------------------------------------------	--	--	--

RhizoBox
(INRA)



Financement Phenome

**Capteur 12MP, 3 LEDs RVB, précision 50µm
Caméra : BASLER racer**



Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs
			Légumineuses		Détection maladie

Détecter les maladies en viticulture

Problèmes majeurs en viticulture →
maladies cryptogamiques (oïdium,
pourriture grise) de la vigne

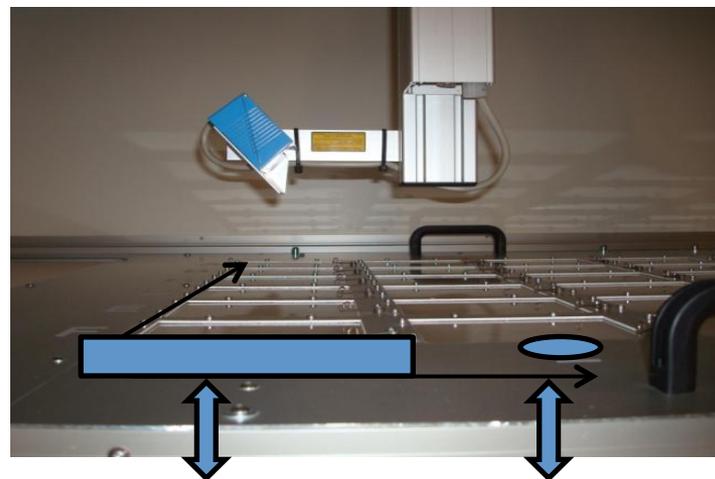
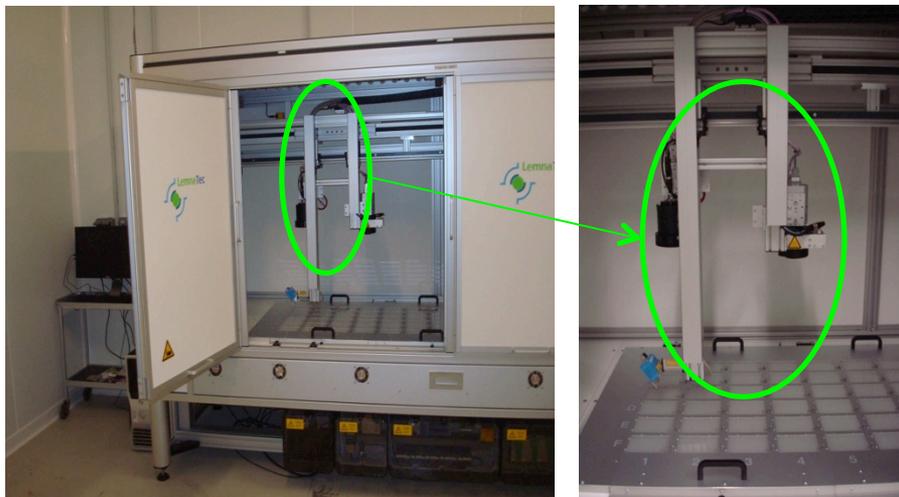


Approches:

1) ↓ nombre de fongicides
traitements et ↓ quantités appliquées
(règles de décisions) + images
(thermographie IR...)

2) stratégies alternatives aux
fongicides

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs
			Légumineuses		Détection maladie

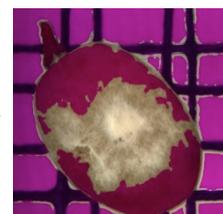
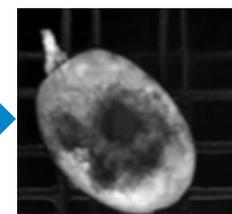


Microplaques, boîte de pétri

HTS (petites unités biologiques)

Couleur/texture, espaces hybrides

- images RVB dans des espaces colorimétriques qui intègrent la texture,
- objets à couleurs similaires peuvent avoir des textures différentes

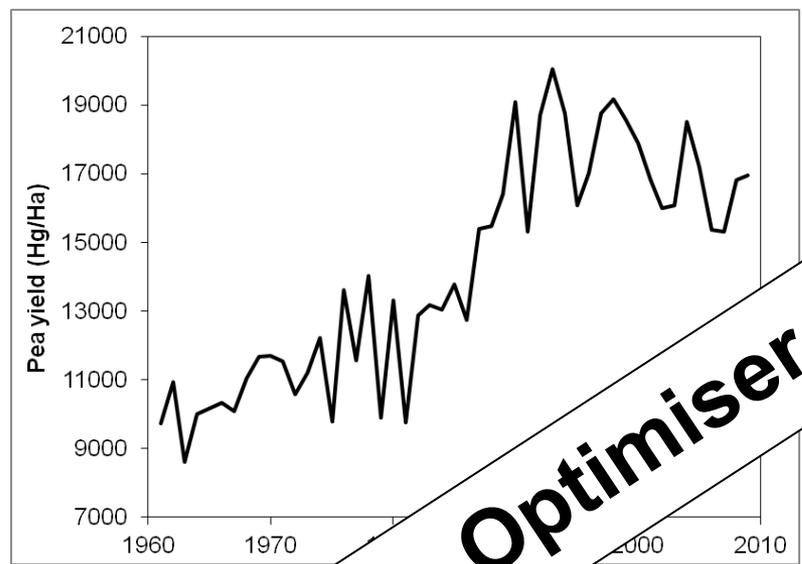


Détection/évaluation de l'intensité des maladies sur la vigne, les baies

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
et ensuite ?

- Deux voies de nutrition azotée
- Fixation symbiotique et durabilité:
 - ↓ engrais, énergie fossile, émission GES, irrigation



Mais...

Rendement... constituants

Optimiser la nutrition azotée

Sensitivité de la fixation symbiotique N_2 aux conditions environnementales



Régulation de la fixation symbiotique N_2 et assimilation NO_3^- , déterminisme, constituants de la plasticité, ratio optimal racines/ nodosités?

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		
			Légumineuses		Objectifs
					Diversité Génét.
					Ident. Strategies
					Traitements Image
					Et ensuite ?

Outils et méthodes



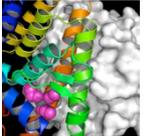
Variabilité génétique




Conception d'Idéotypes de plantes



Mécanismes et bases moléculaires



Vigne
Légumineuses

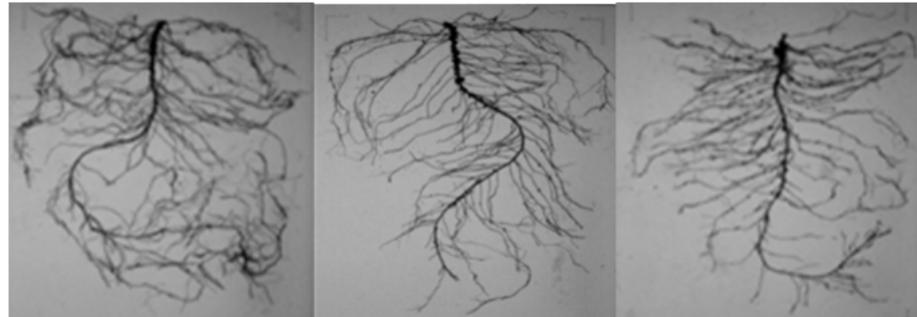
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Variabilité génétique naturelle

Collection nationale de pois, féverole et lupin (10000 accessions)



Diversité génétique de l'architecture racinaire



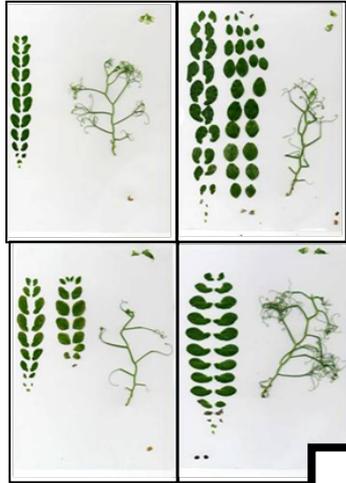
Bourion et al. Annals Bot. 2007

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Lignées Recombinantes (1400 RILs)

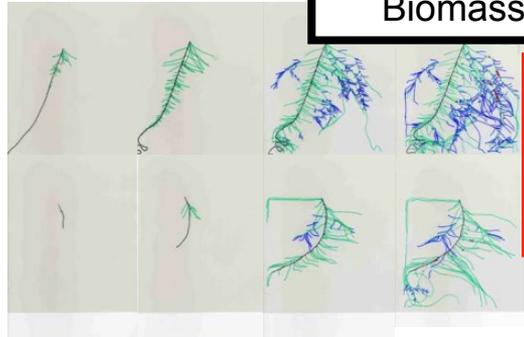
STRUCTURE



Parties aériennes :
 Hauteur
 Biomasse
 Surface foliaire

Racines:
 Nombre
 Longueur
 Biomasse

Nodosités:
 Nombre
 Surface
 Biomasse



FONCTION

Efficiéce
 d'acquisition de C



Efficiéce
 d'acquisition de N



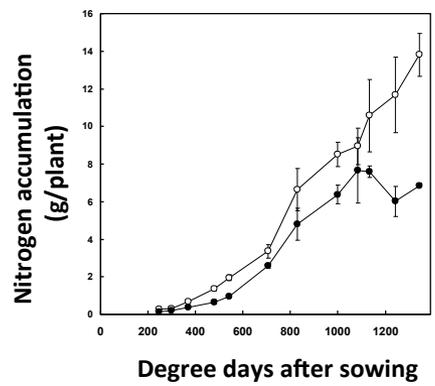
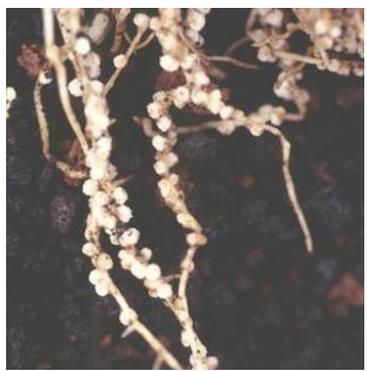
Bourion et al. TAG 2010

Variabilité génétique induite

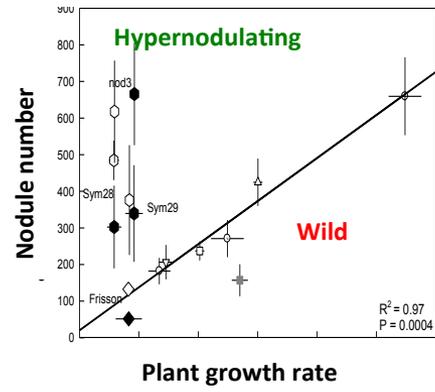
Identifier/caractériser les gènes impliqués dans la nodulation, et l'architecture racinaire

Développement des nodosités

Architecture racinaire



Salon et al. Agr 2001

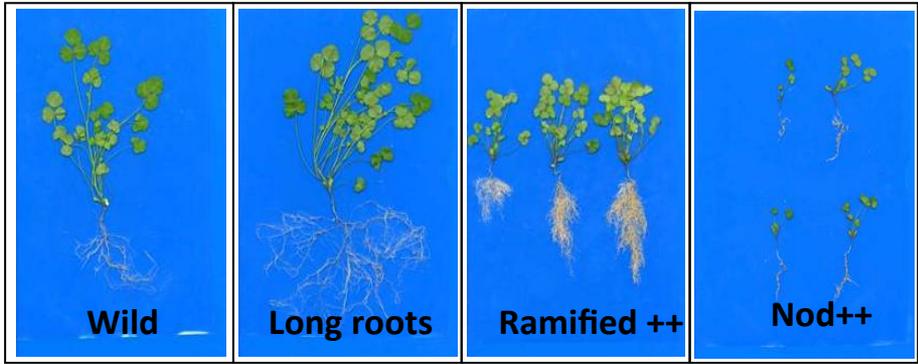


Voisin et al. Plant Soil 2010

Duc et al. 1998

Cazenave et al. Plant Soil 2013

Medicago truncatula, Tnt1



Porceddu et al. BioMed 2008

Pea, EMS



Coll. KK Sidorova

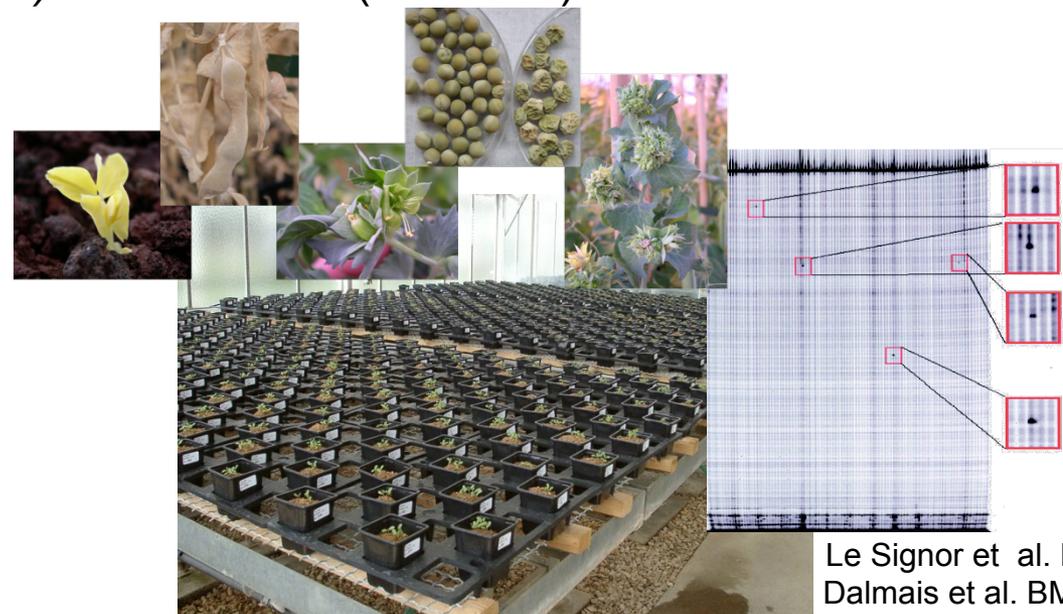
Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Collection de mutants

Rechercher un mutant sur un gène cible, analyser l'effet de la mutation

Medicago truncatula Jemalong A17 (9000 M2) et pois (*Pisum sativum*) var. Caméor (5000 M2)



Le Signor et al. Plant Biotechnol 2009
 Dalmais et al. BMC Genome Biol 2008

✓ Plateforme HTP TILLING : ABI 3730 (Contact: lesignor@dijon.inra.fr)

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		
			Légumineuses		
				Objectifs	
				Diversité Génét.	
				Ident. Strategies	
				Traitements Image	
				Et ensuite ?	

Outils et méthodes

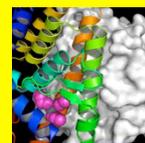


Variabilité génétique



Conception d'Idéotypes de plantes

Mécanismes et bases moléculaires

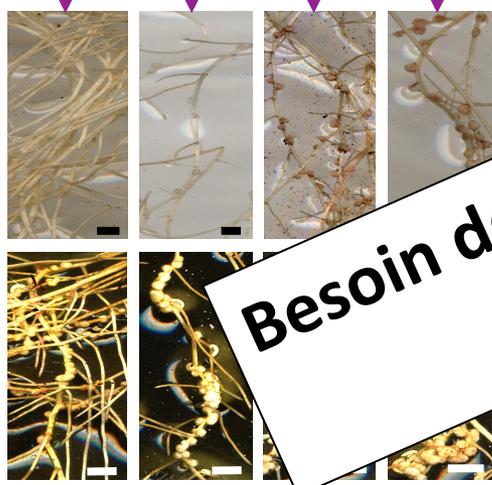
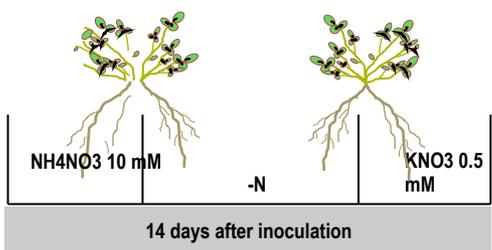


Vigne
Légumineuses

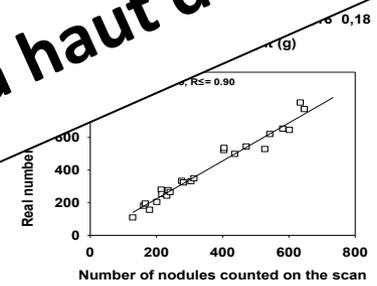
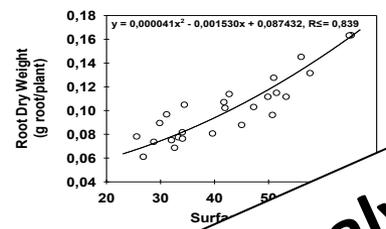
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Quelle est la stratégie d'une légumineuse en réponse à une contrainte azotée?

Caractérisation phénotypique "bas" débit du système racinaire nodulé



Besoin de rhizotrons et d'analyse d'image à haut débit



Stratégie structurale versus fonctionnelle



Split roots

Nombre, taille et apparence des nodosités

Ruffel et al. (2008), Plant Physiol. 146: 2020-2035.
 Salon et al. (2009), CRAS, 332 :1022-1033.
 Jeudy et al. (2010), New Phytol, 185:817-828.

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Surface projetée de racine

Thèse Simeng Han

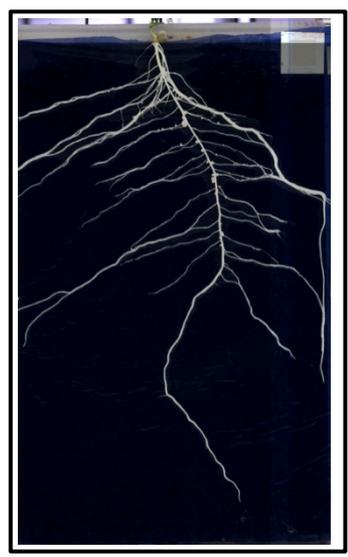
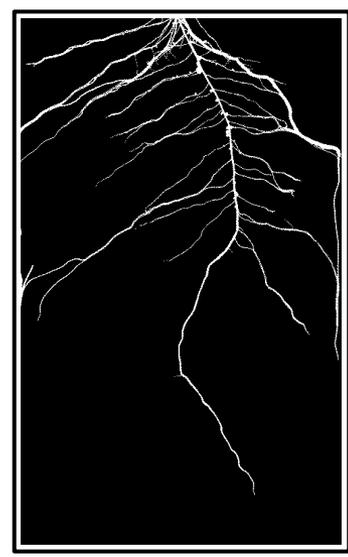
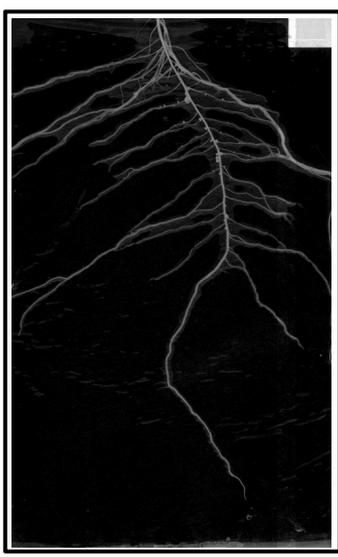
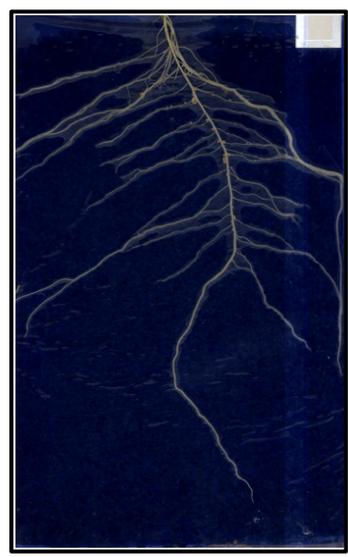


Image origine
(A)

Meilleure bande

Image binaire
(B)

Superposition
(B/A)

Longueur de racines

Thèse Simeng Han

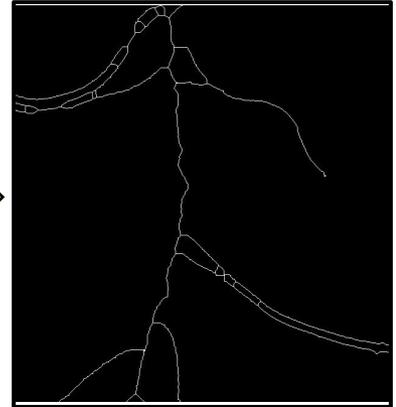
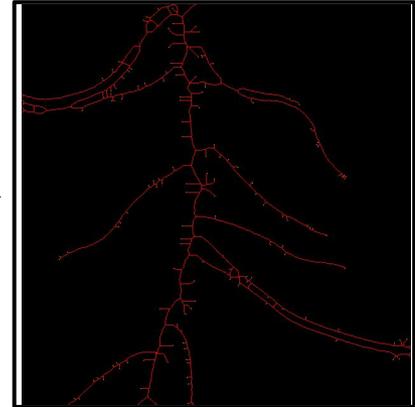
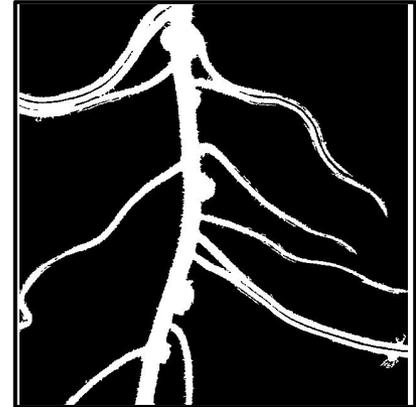


Image origine

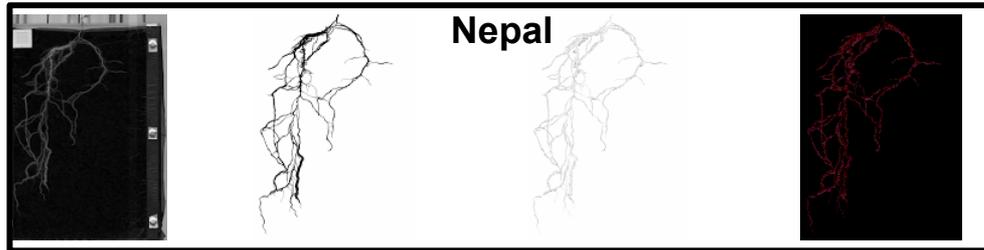
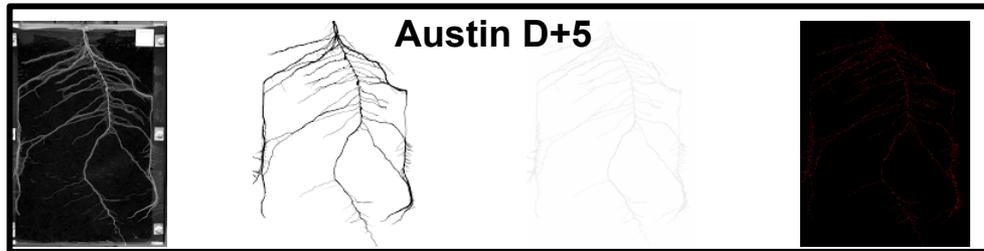
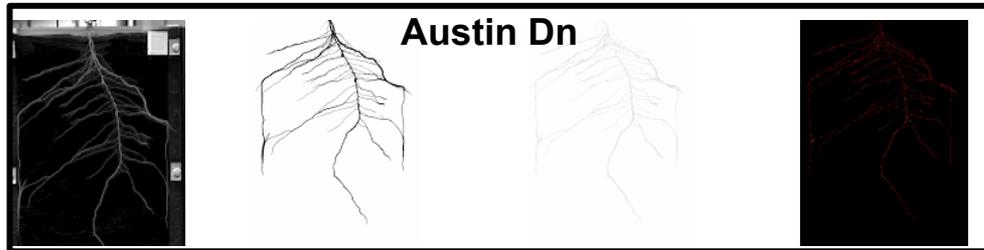
Binarisation

Squelettisation

Connectivité

Résultats sur 4 images

Thèse Simeng Han



Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

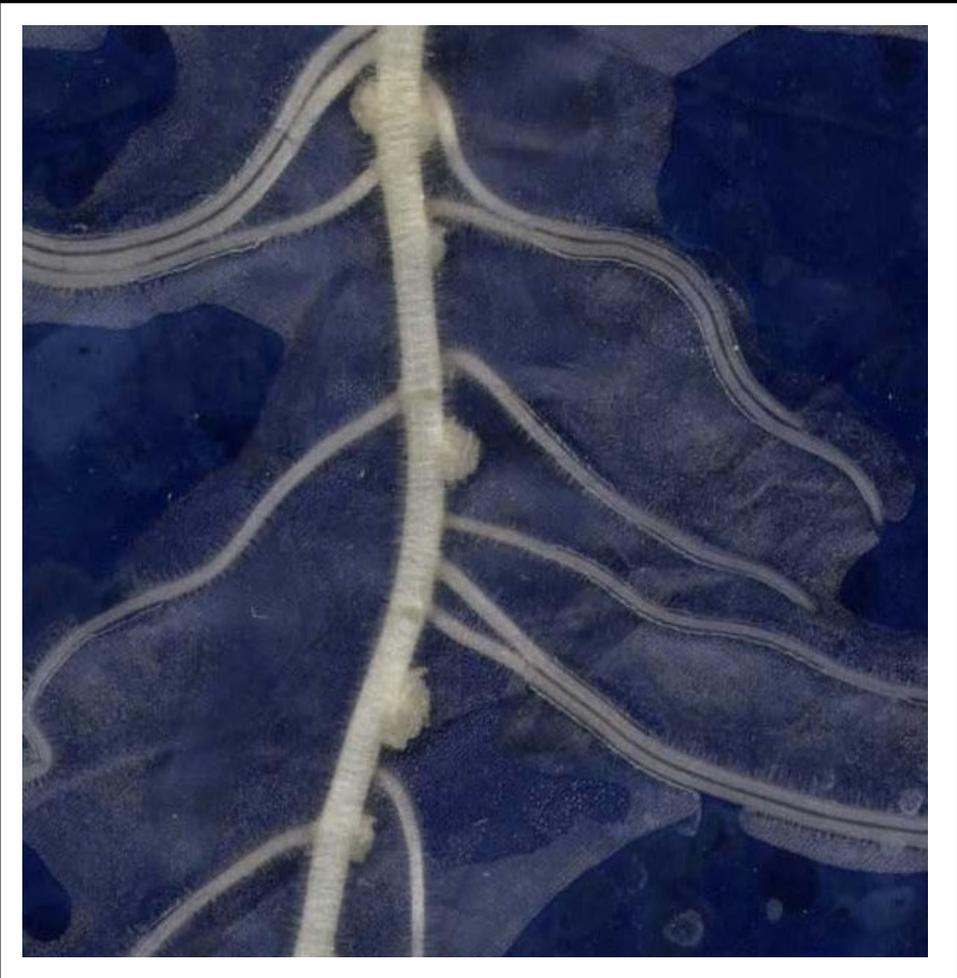


Nom	Surface	Longueur
Austin Dn	38 cm ²	38cm
Austin Dn+5	58 cm ²	40cm
L1073	105 cm ²	40cm
Nepal	39 cm ²	35 cm

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Détection de nodosités

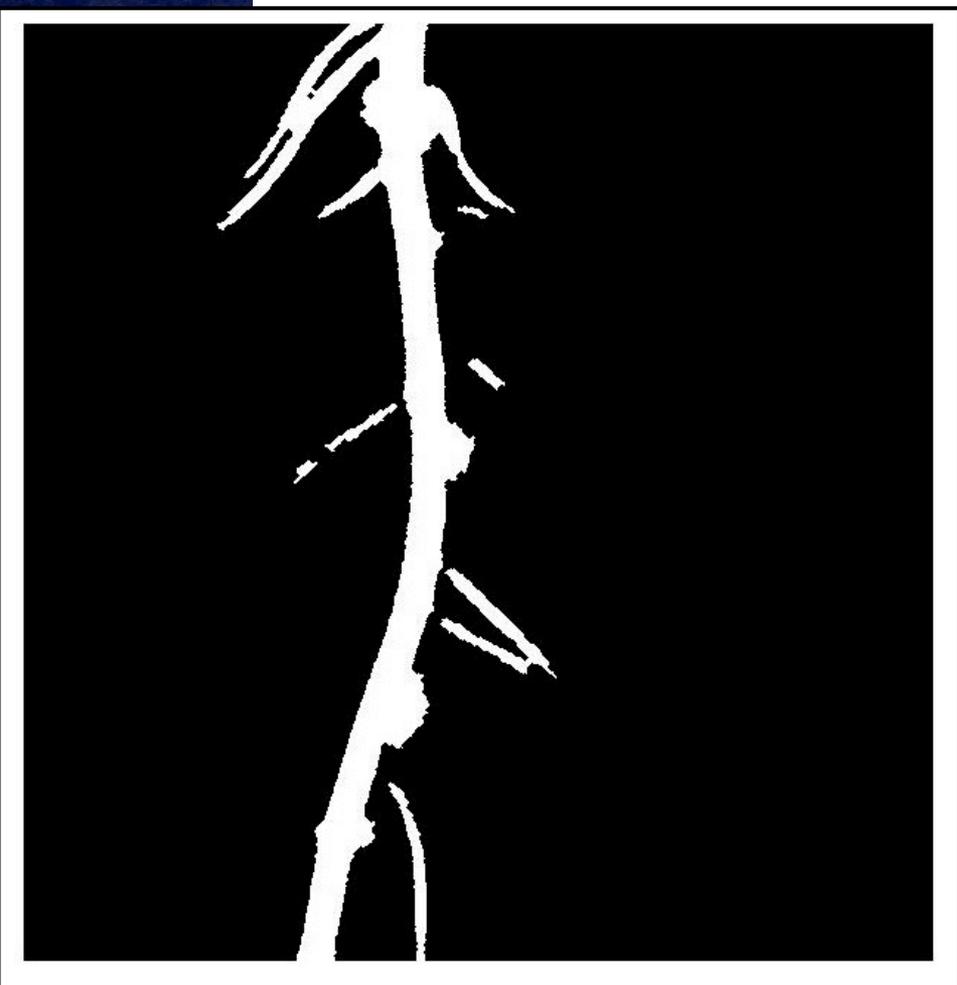


Jeune plante

Thèse Simeng Han (unpublished)

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?



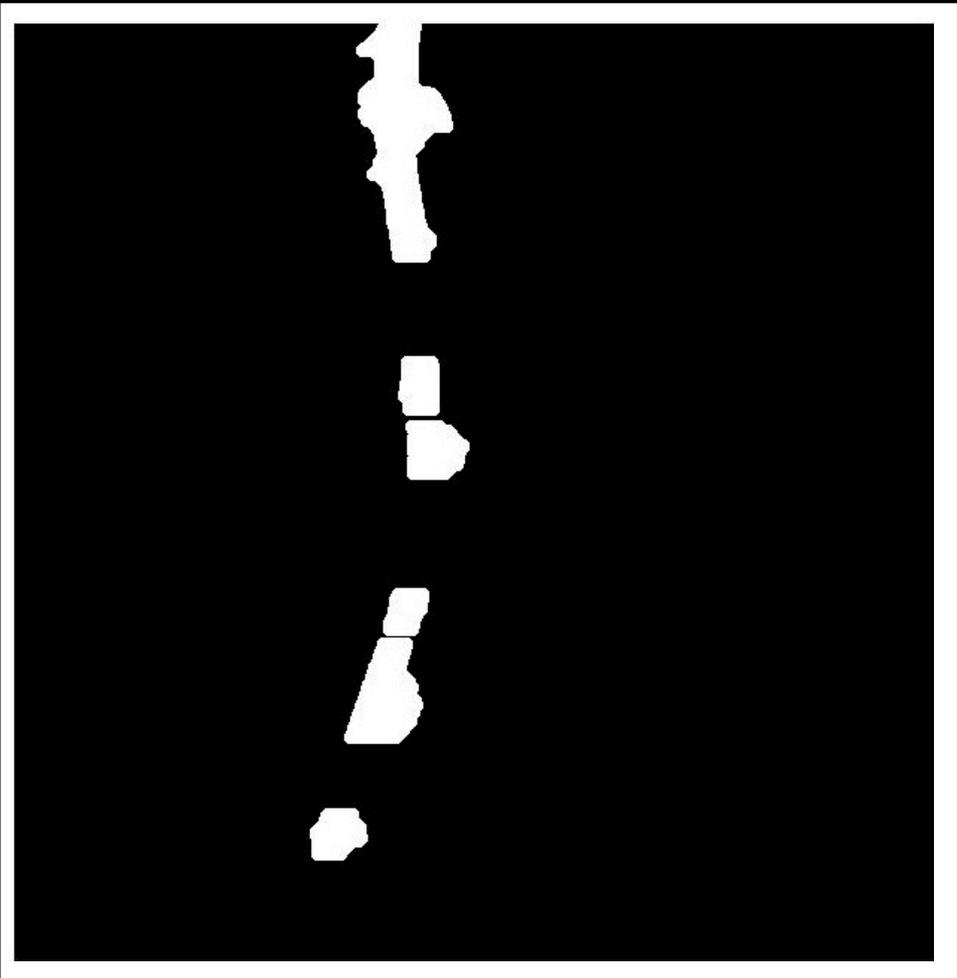
**Seuillage,
image
binaire**

Jeune plante

Thèse Simeng Han (unpublished)

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?



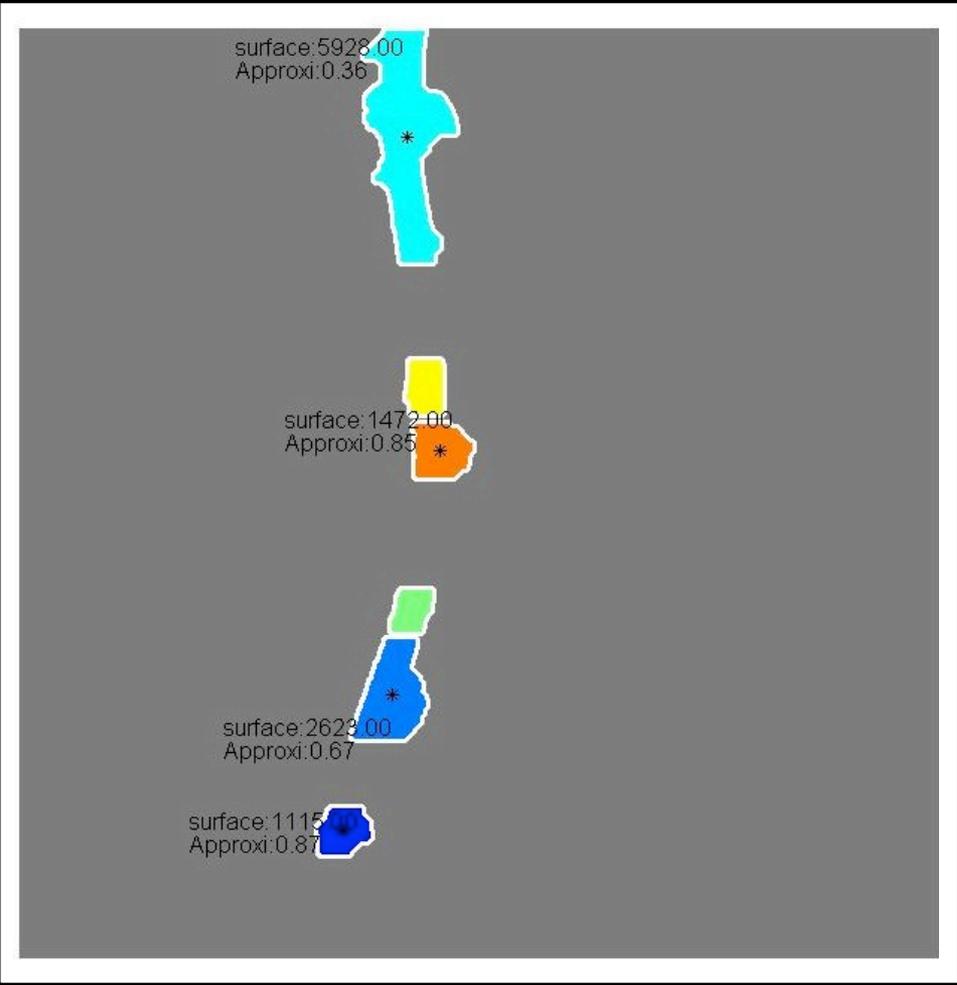
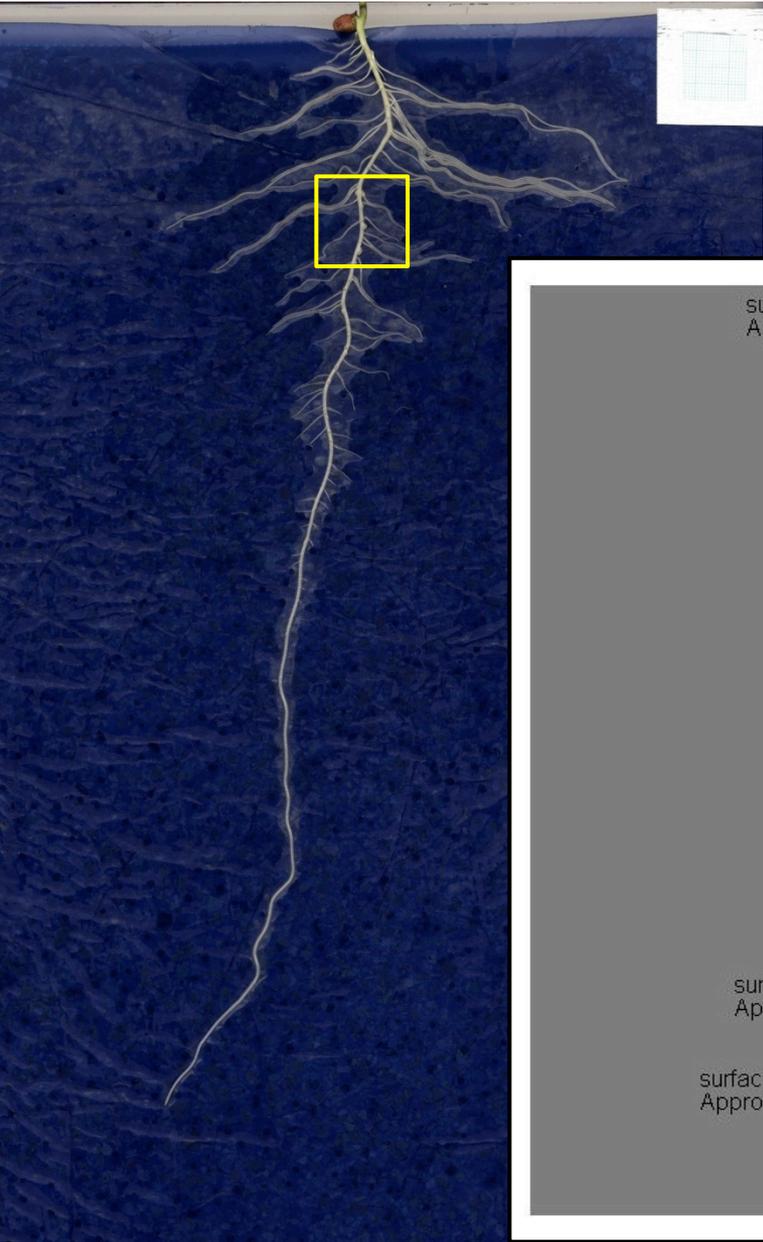
Lisser l'image

Jeune plante

Thèse Simeng Han (unpublished)

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?



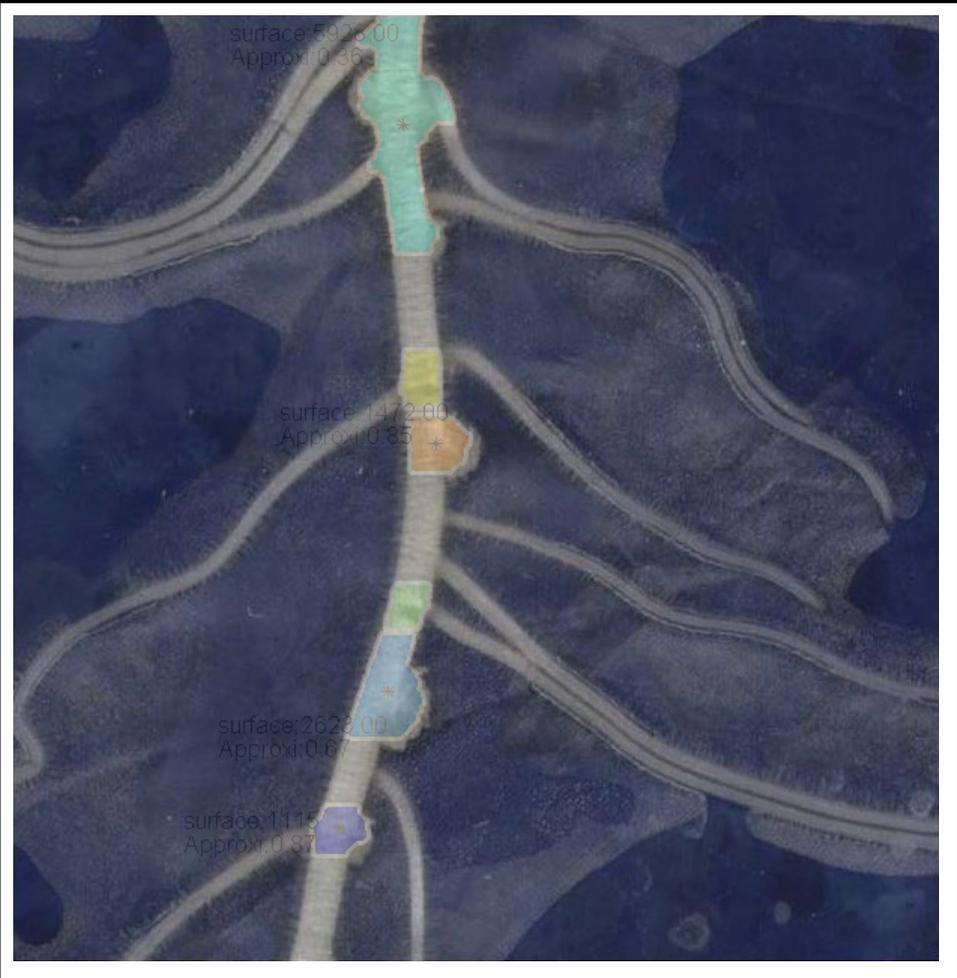
Compter les nodosités

Jeune plante

Thèse Simeng Han (unpublished)

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?



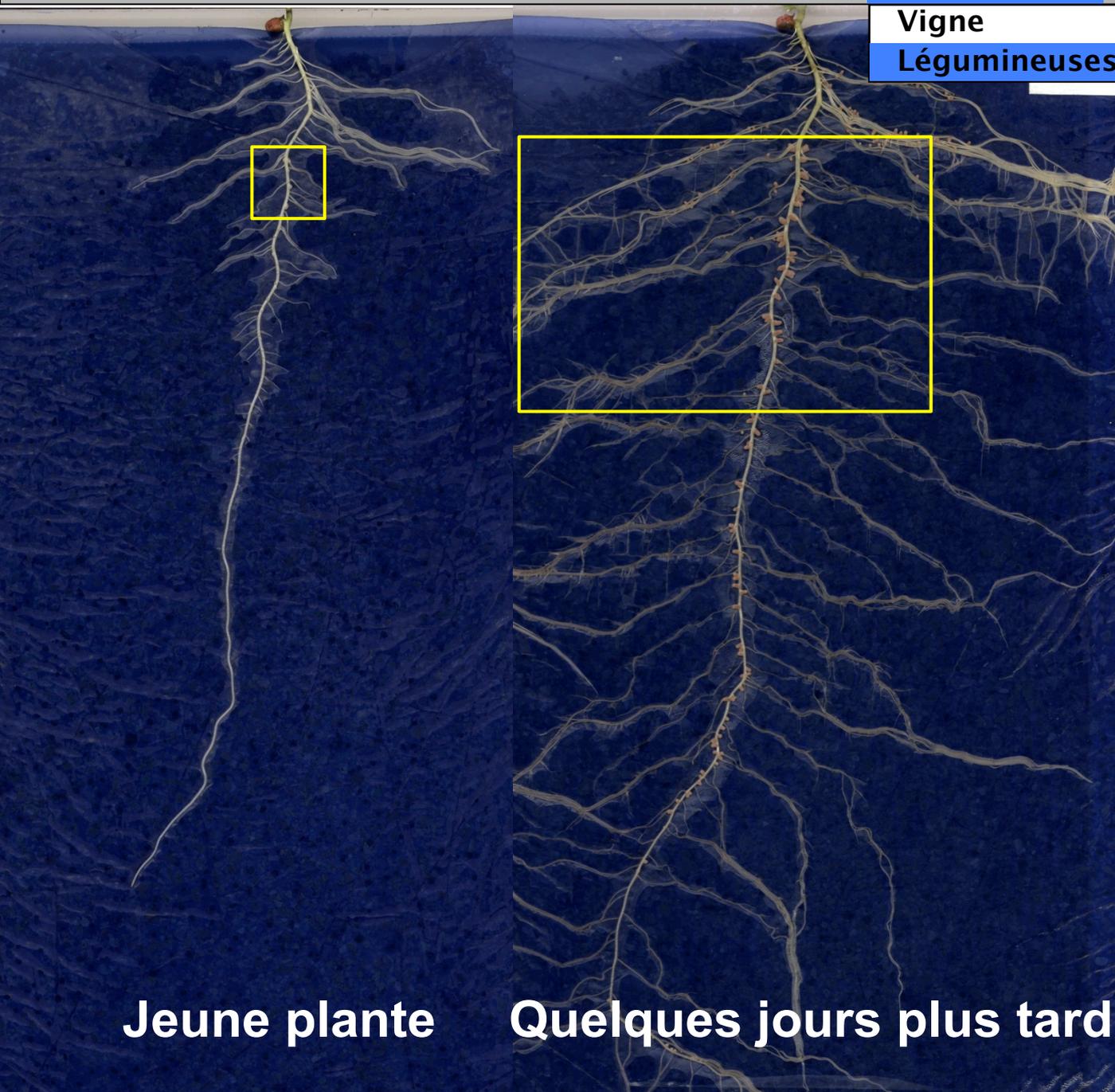
**Original image
+ nodosités
superposées**

Jeune plante

Thèse Simeng Han (unpublished)

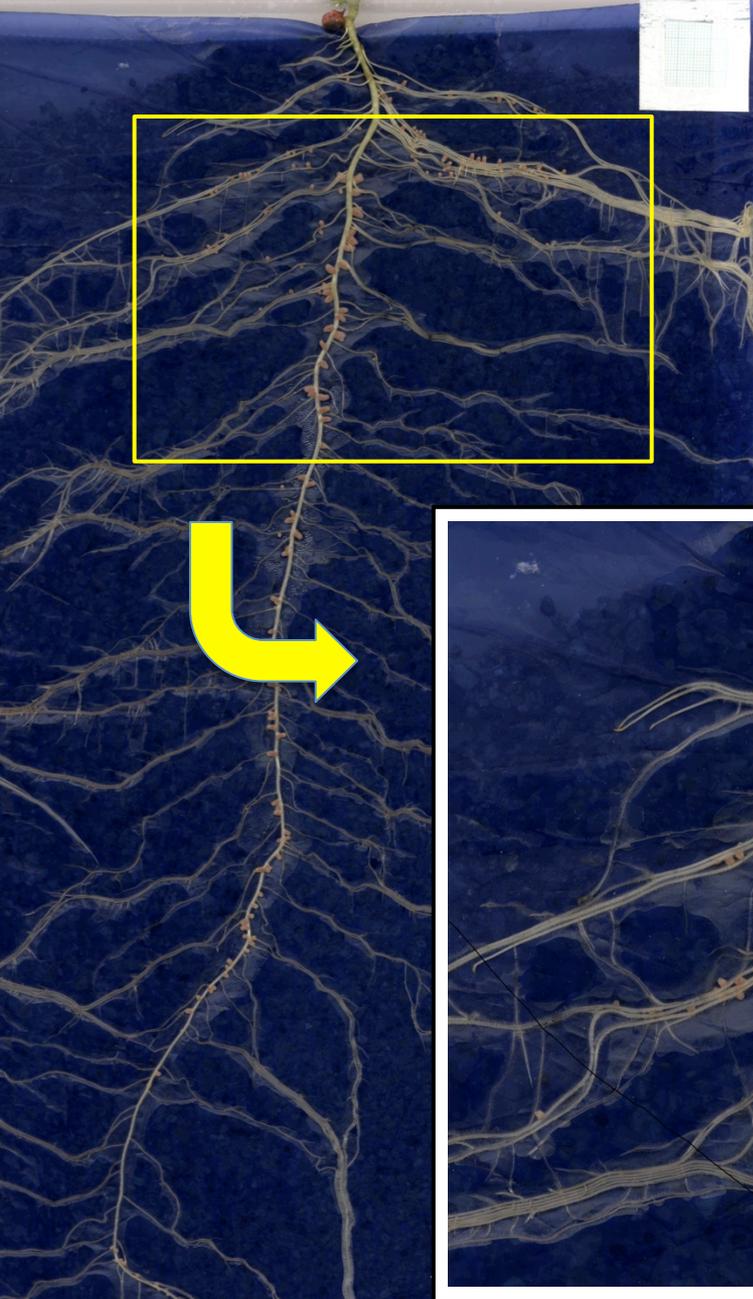
Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

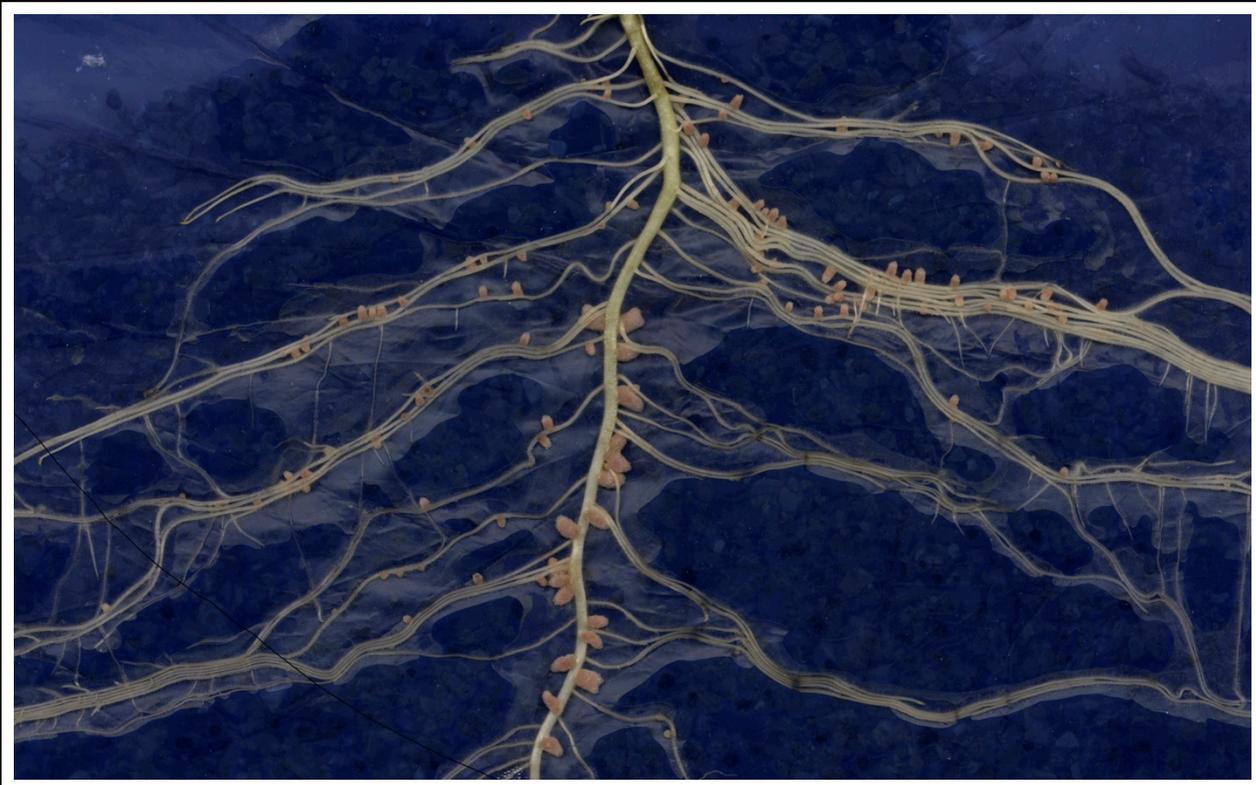


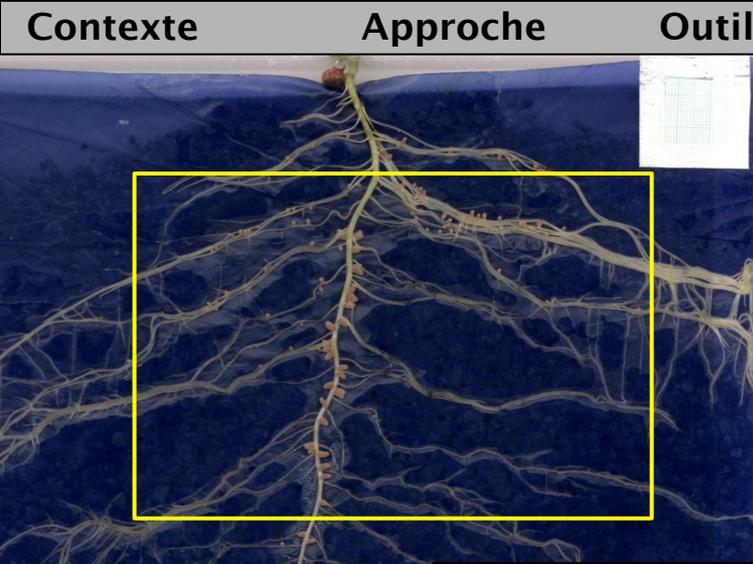
Jeune plante

Quelques jours plus tard.

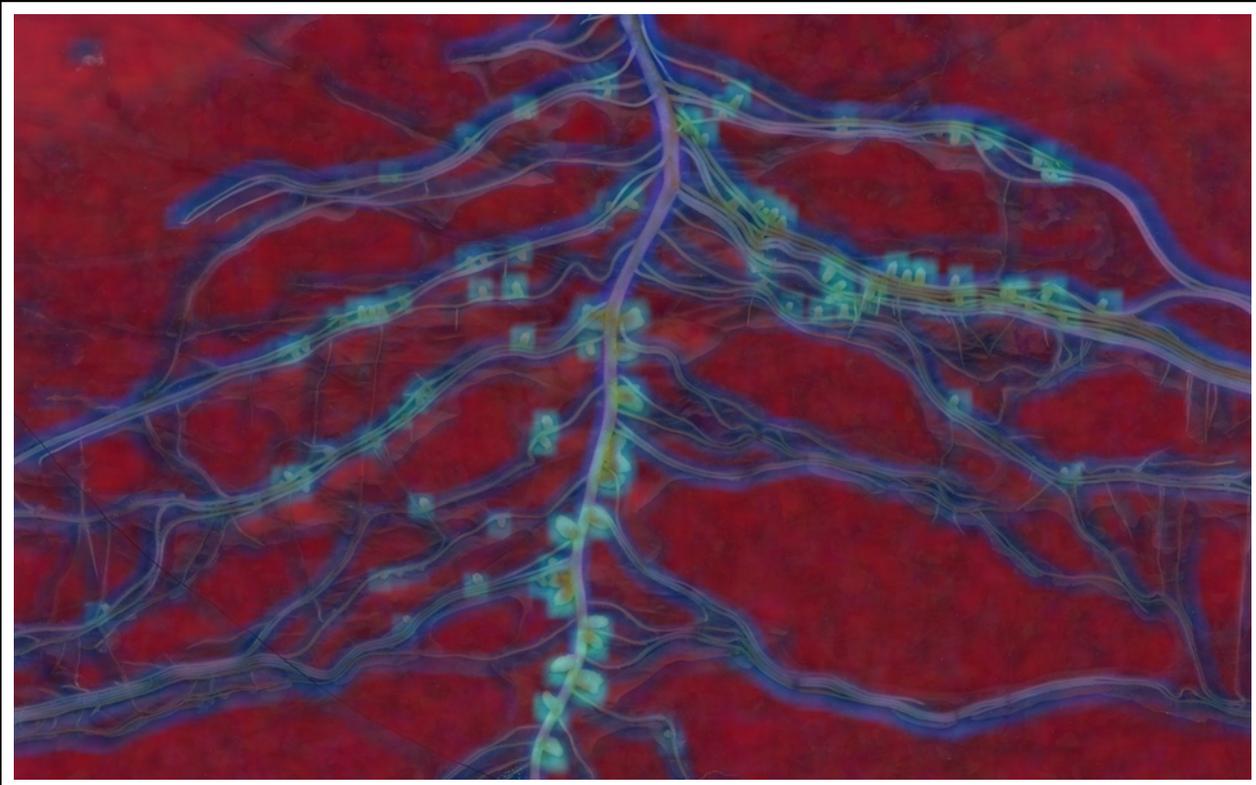
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?
			Légumineuses		

Focus sur image



Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?
			Légumineuses		

Espace hybrides (couleur + texture)
 Cointault et al, 2008)



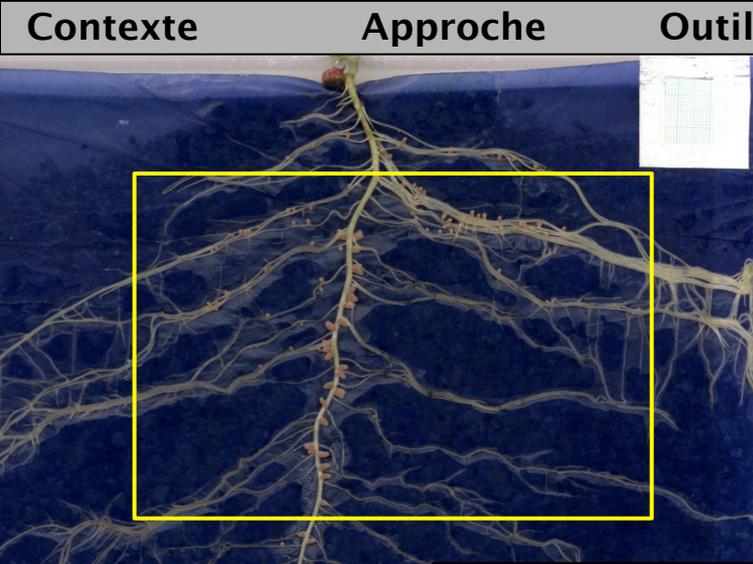
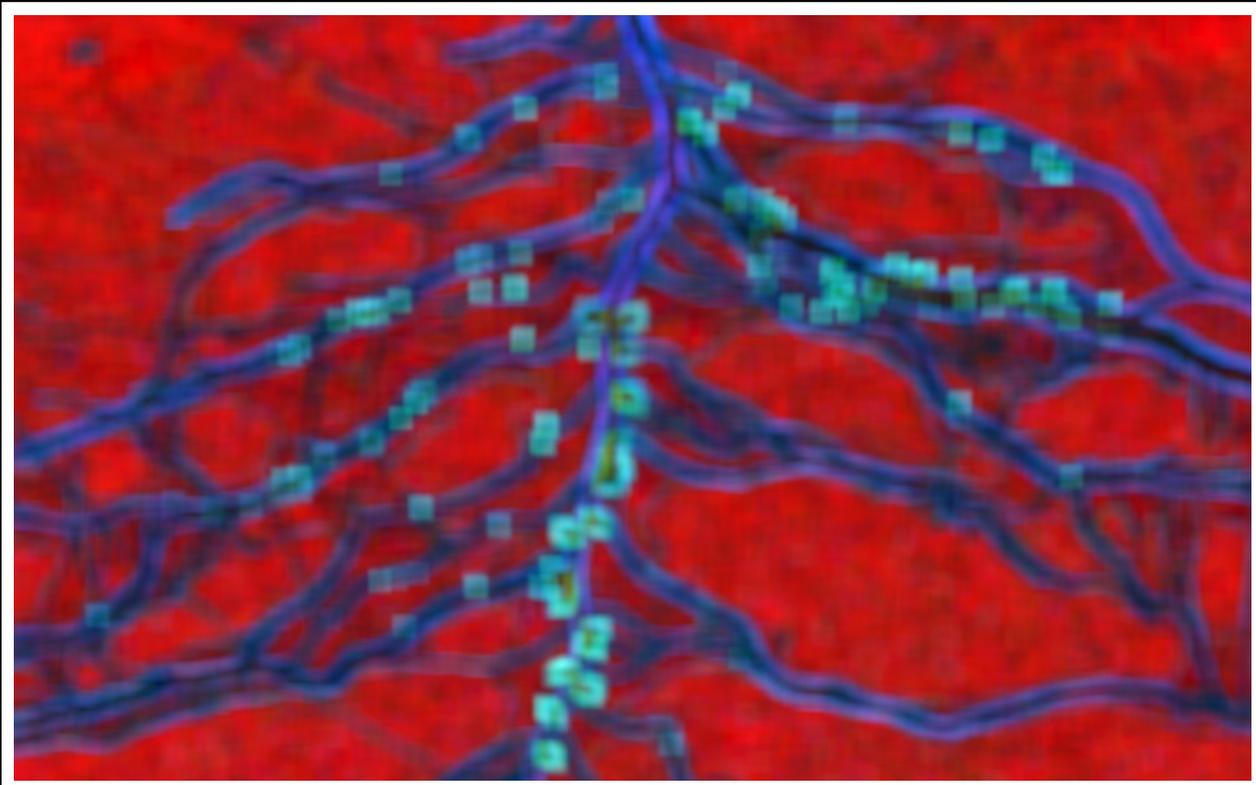
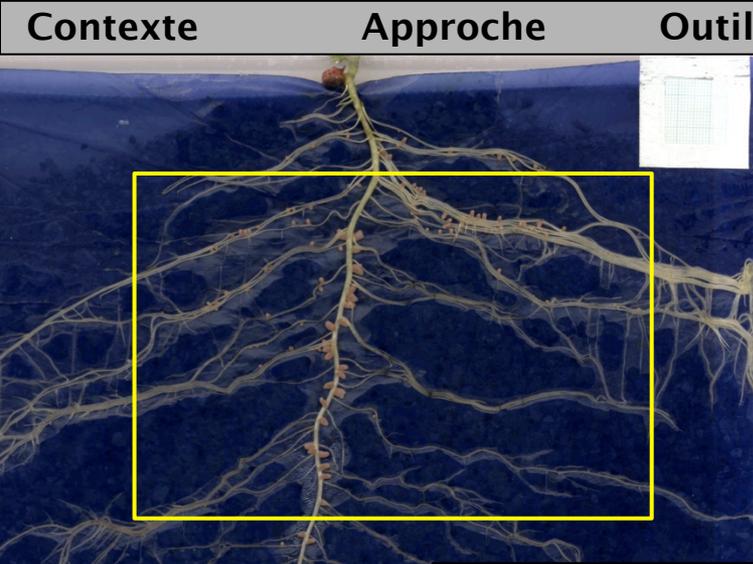
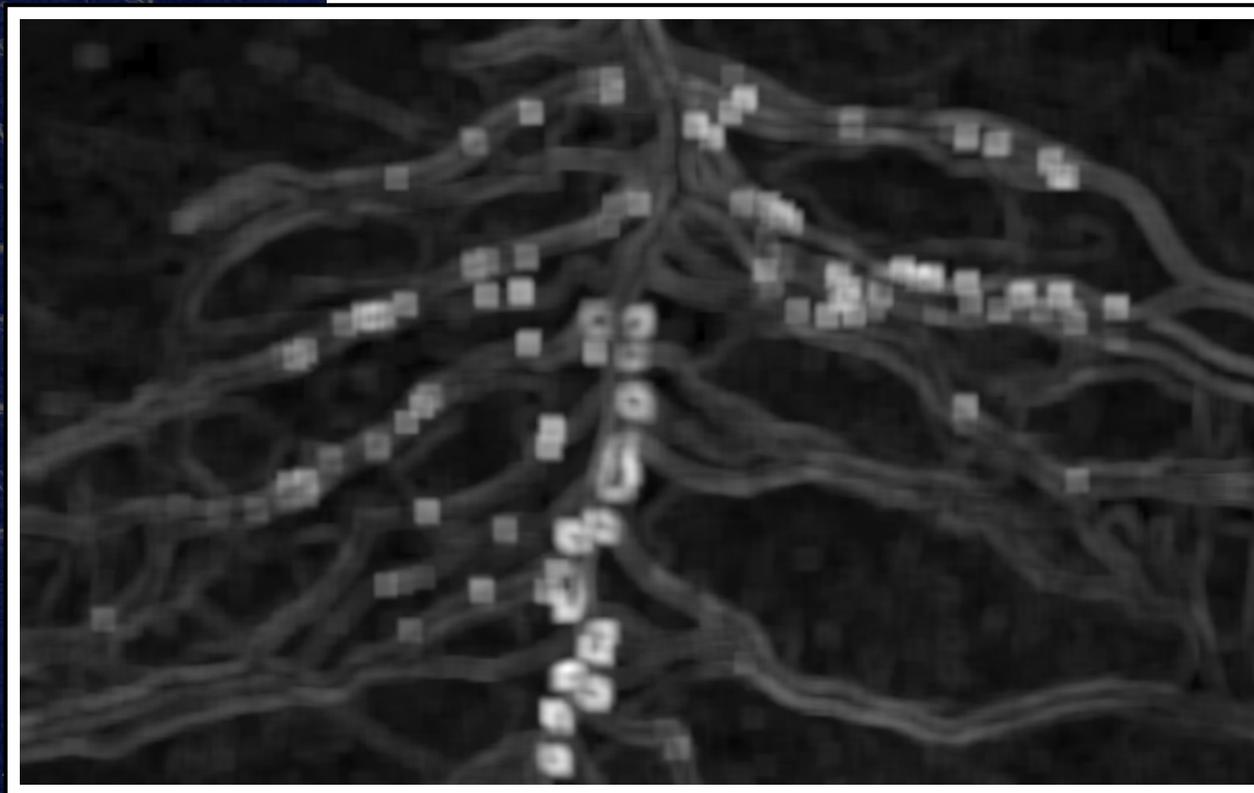
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?
			Légumineuses		

Image RVB de nodosités



Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		
			Légumineuses		Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?

Bande d'image RVB



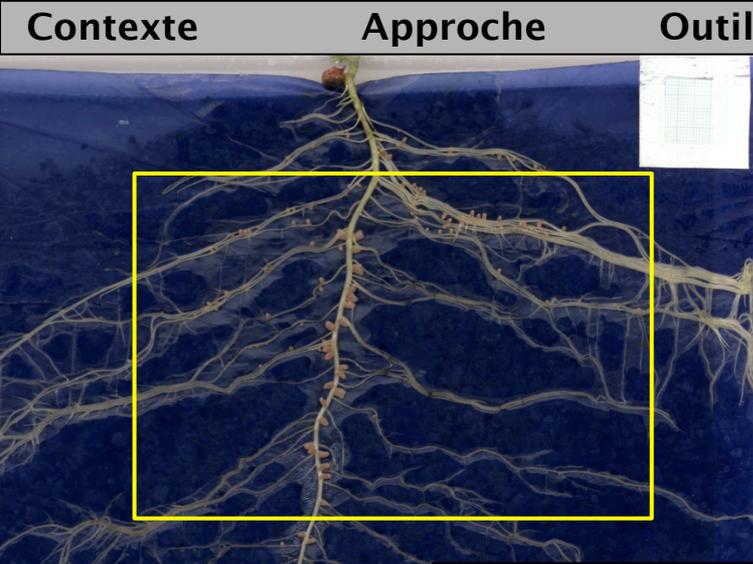
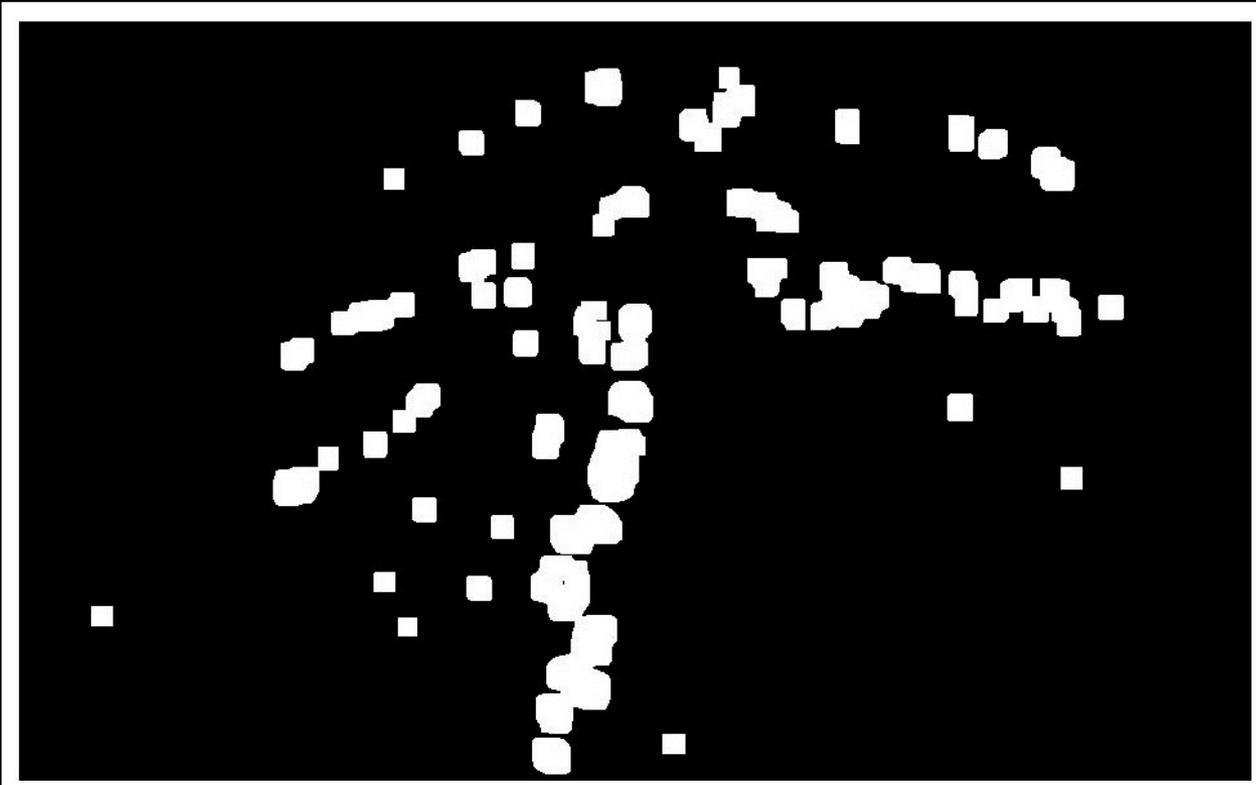
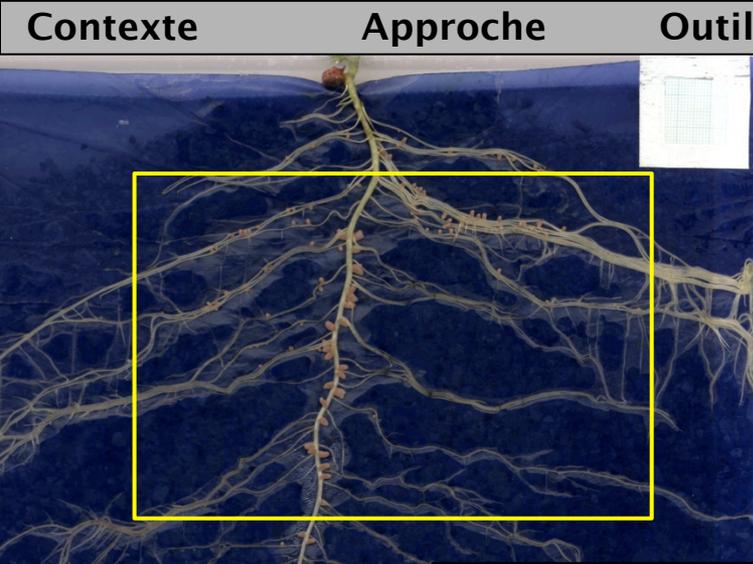
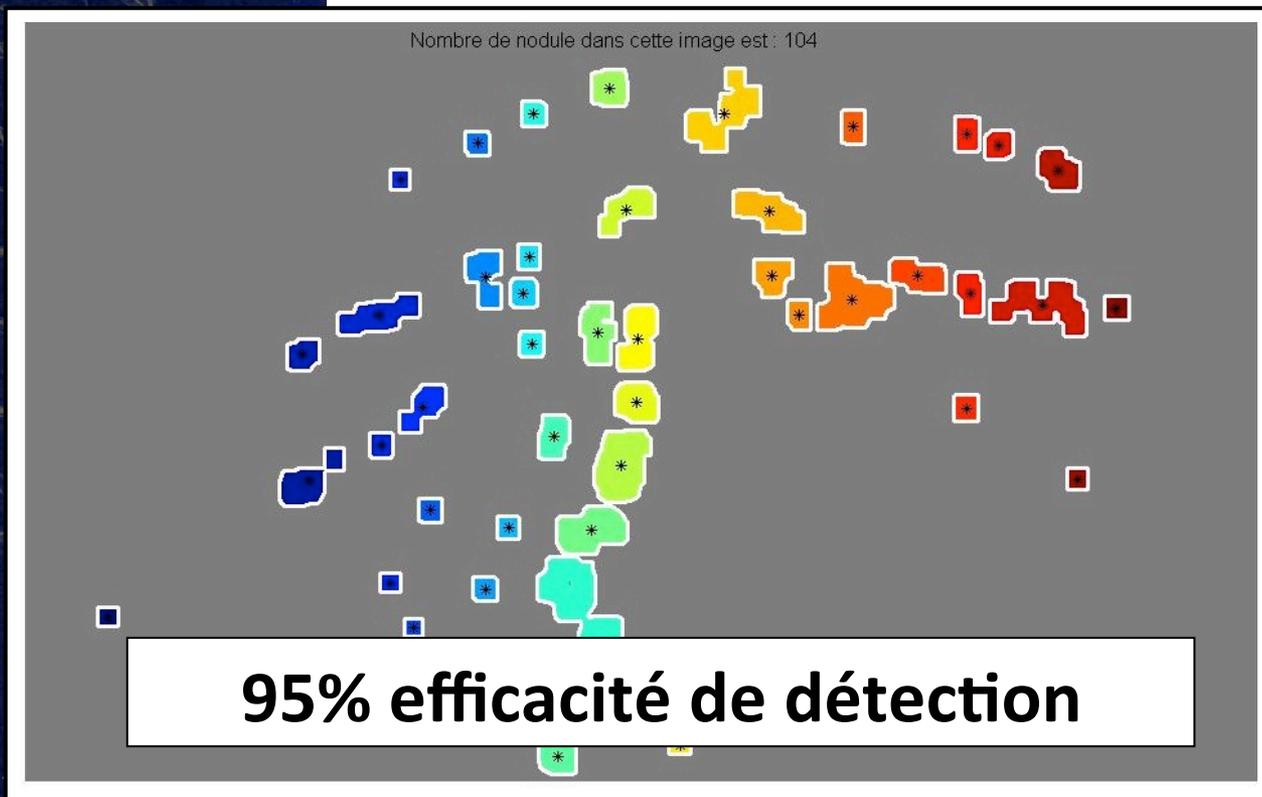
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?
			Légumineuses		

Image avec nodosités



Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?
			Légumineuses		

Nodosités détectées automatiquement



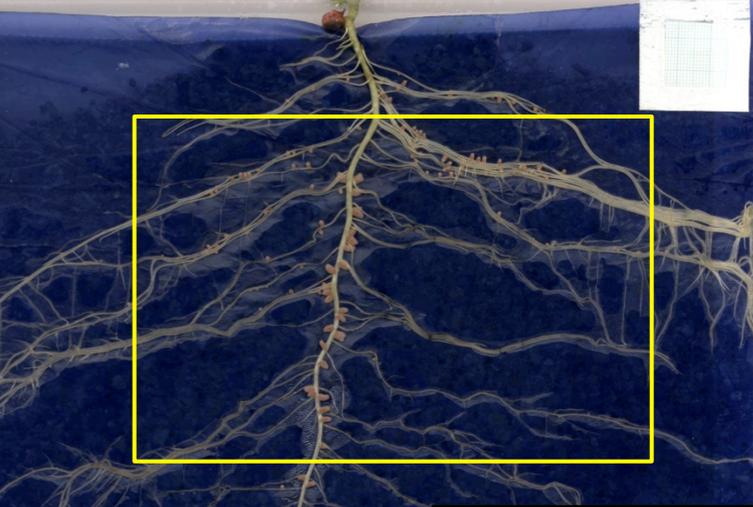
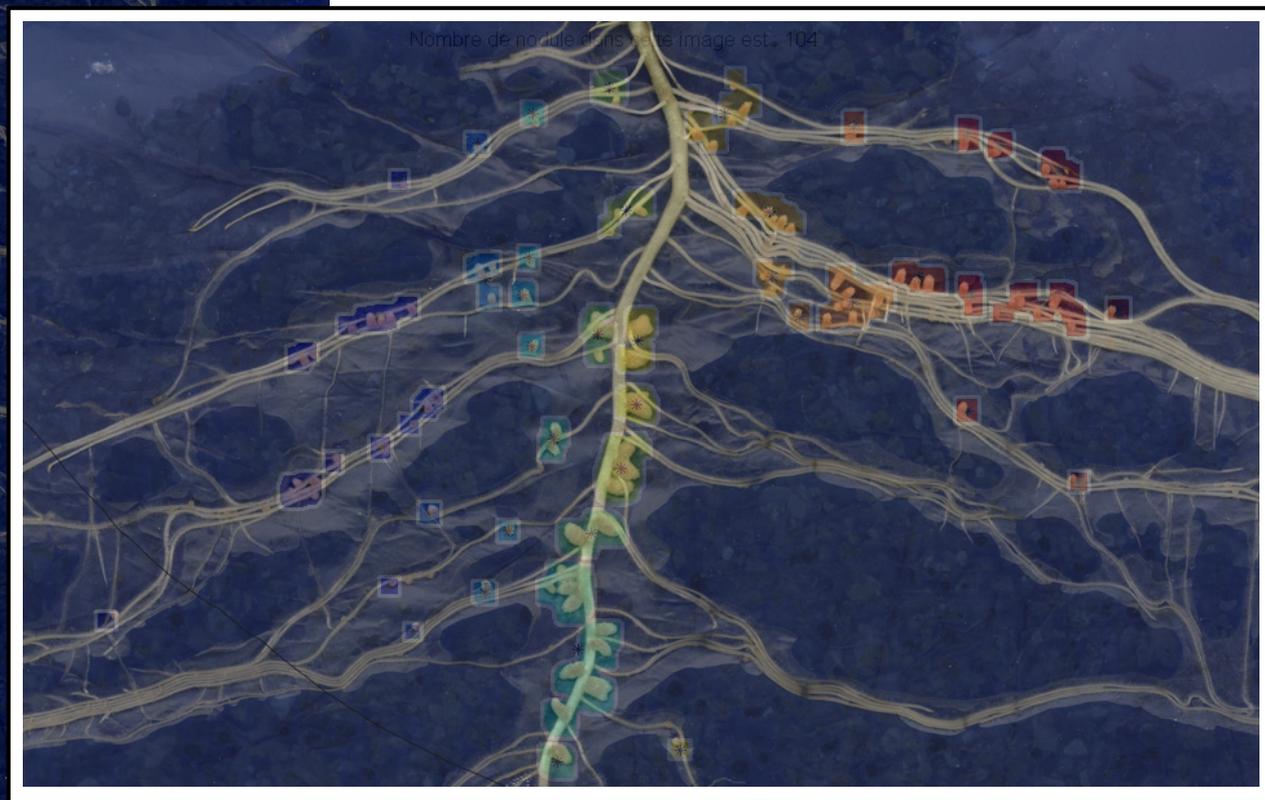
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?
			Légumineuses		

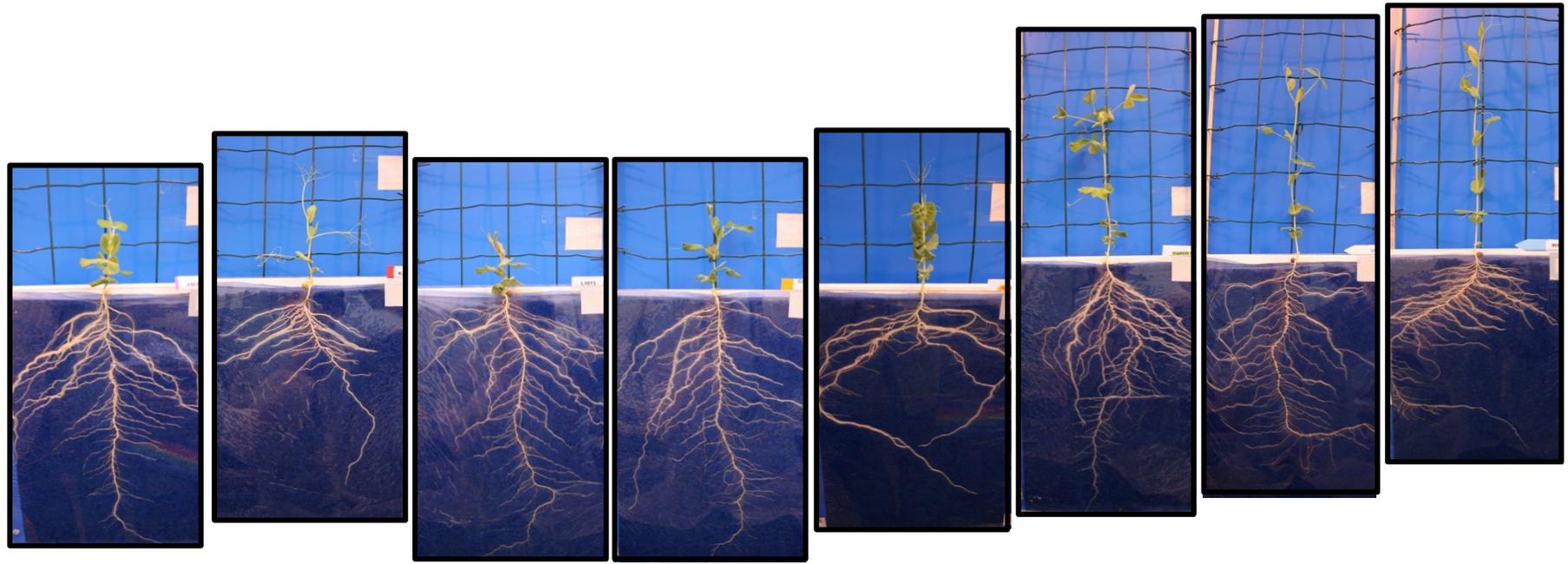
Image originale + nodosités superposées



Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

*Explorer la variabilité génétique intraspécifique :
Pea core collection*



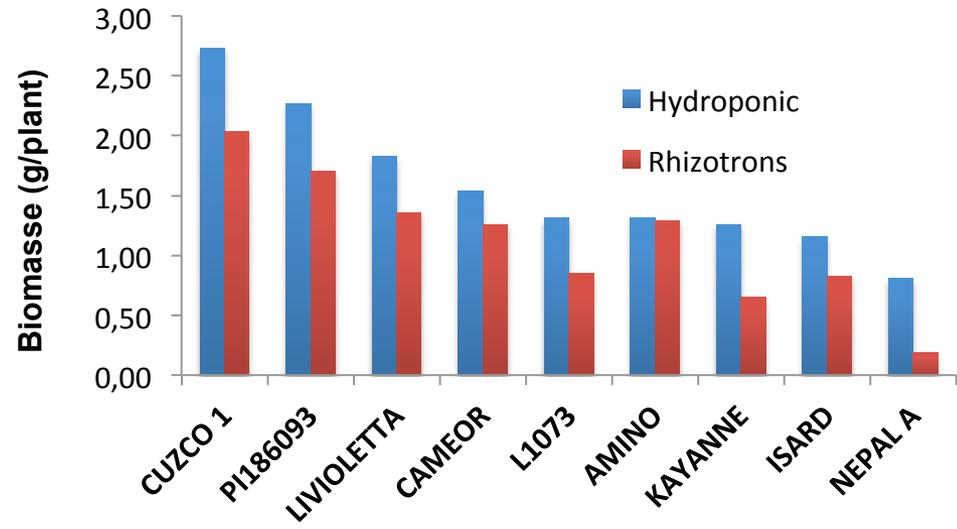
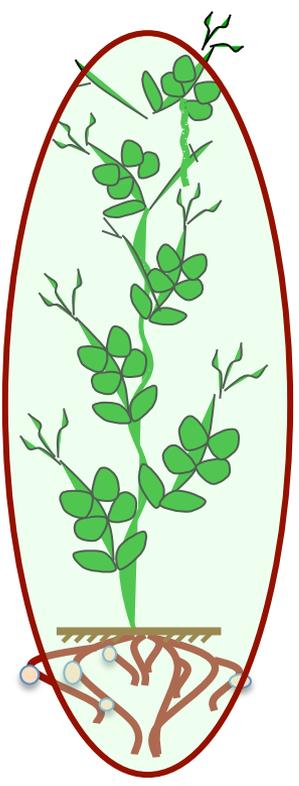
AMINO KAYANNE L1073 CAMEOR ISARD CUZCO LIVIOLETTA PI186093

Vigne
Légumineuses

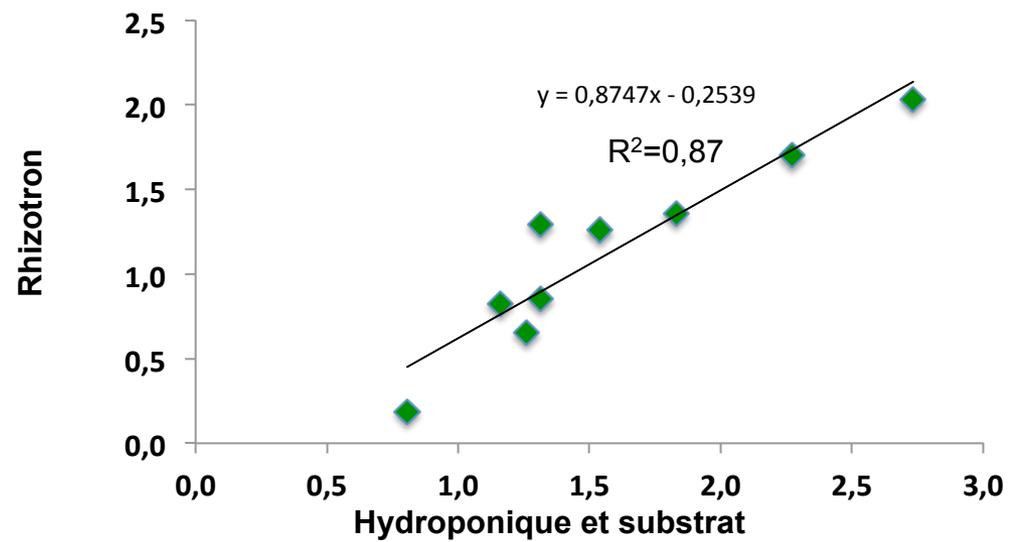
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Classement de géotypes: Pea core collection
Hydroponique versus rhizotron

Biomasse plante



La biomasse des plantes diminue dans les rhizotrons



Le classement des géotypes ne varie pas

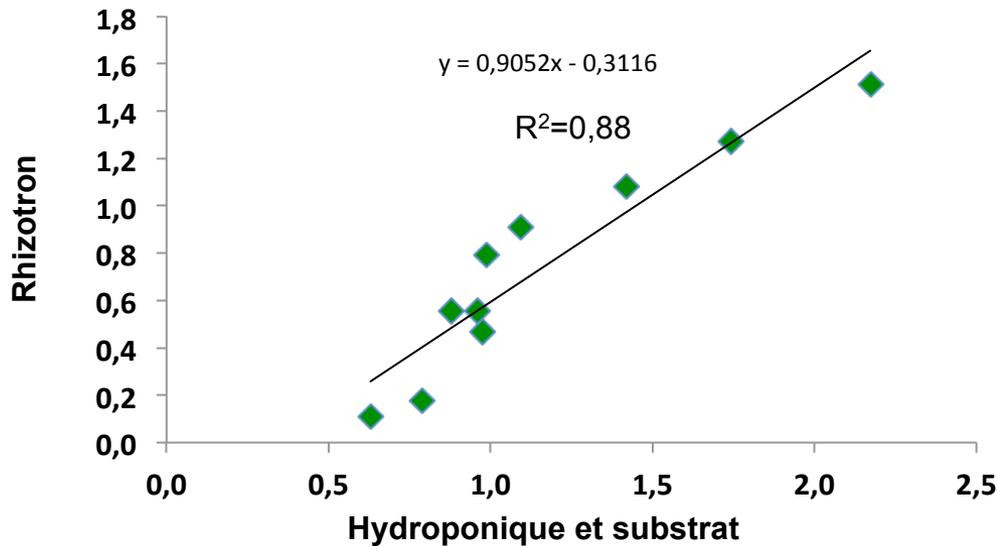
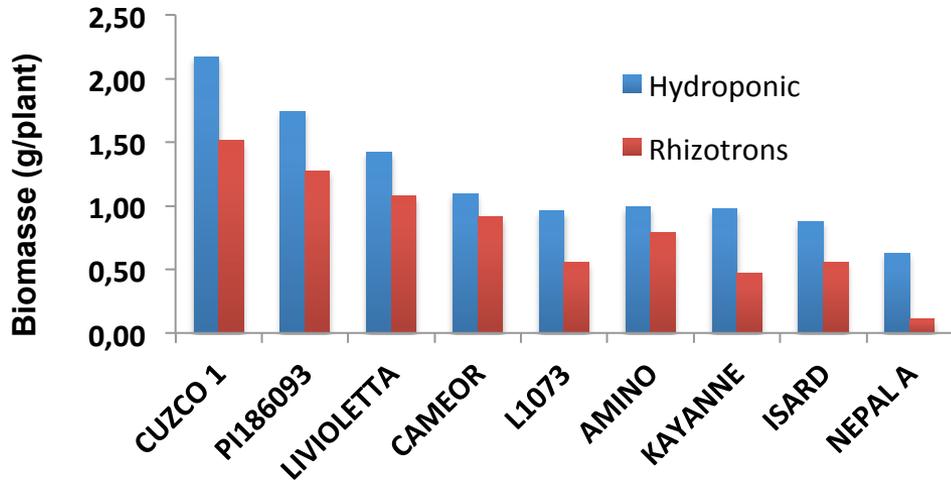
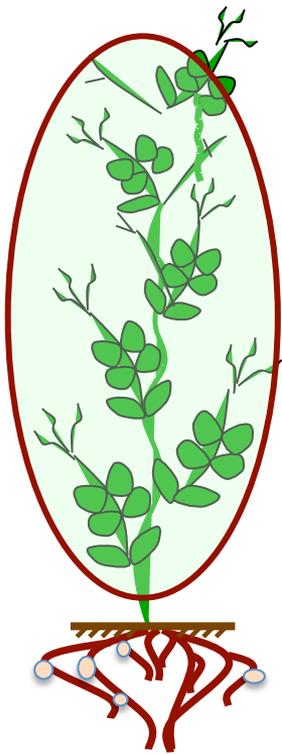
Vigne

Légumineuses

Objectifs
 Diversité Génét.
 Ident. Strategies
 Traitements Image
 Et ensuite ?

Classement de géotypes: Pea core collection
Hydroponique versus rhizotron

Biomasse aérienne



Le classement des géotypes ne varie pas

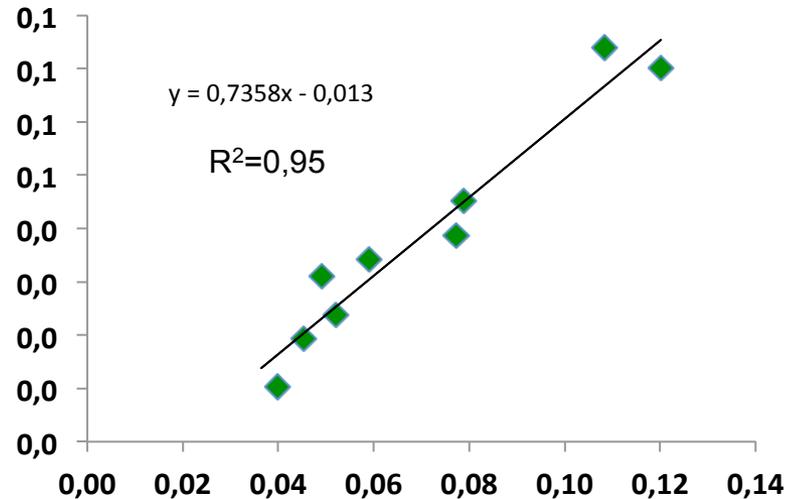
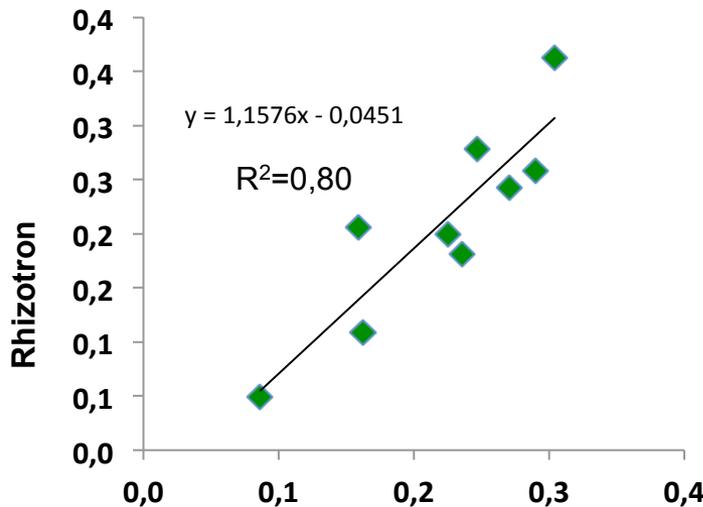
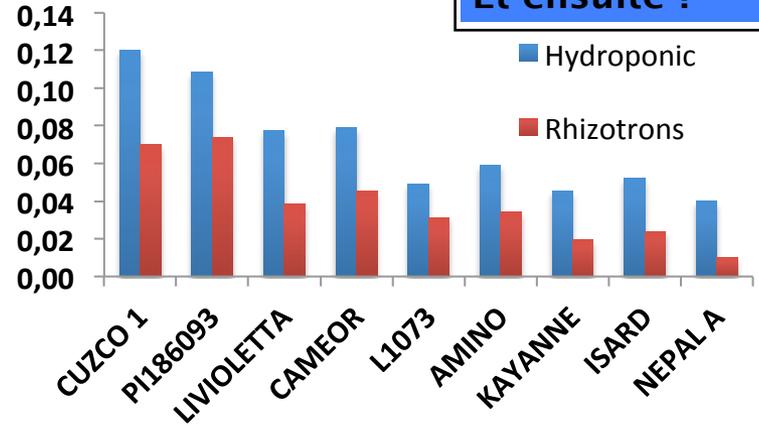
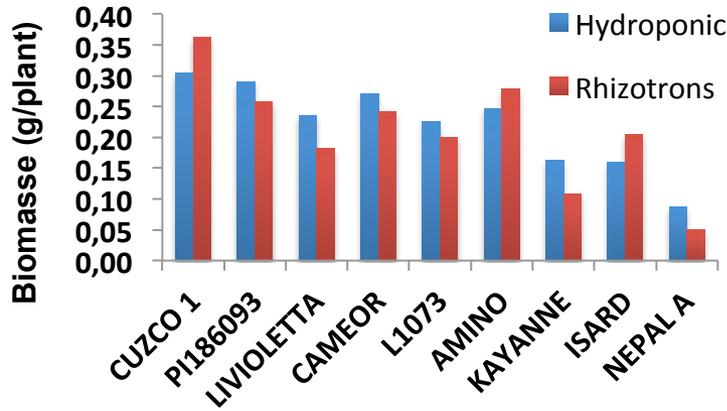
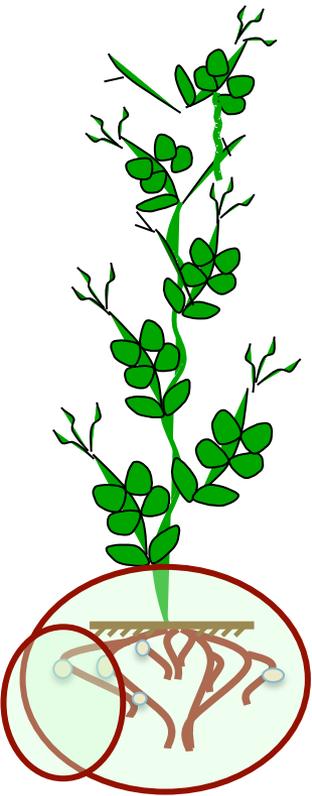
Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Classement de génotypes: Pea core collection

Biomasse racinaires

Biomasse nodosités

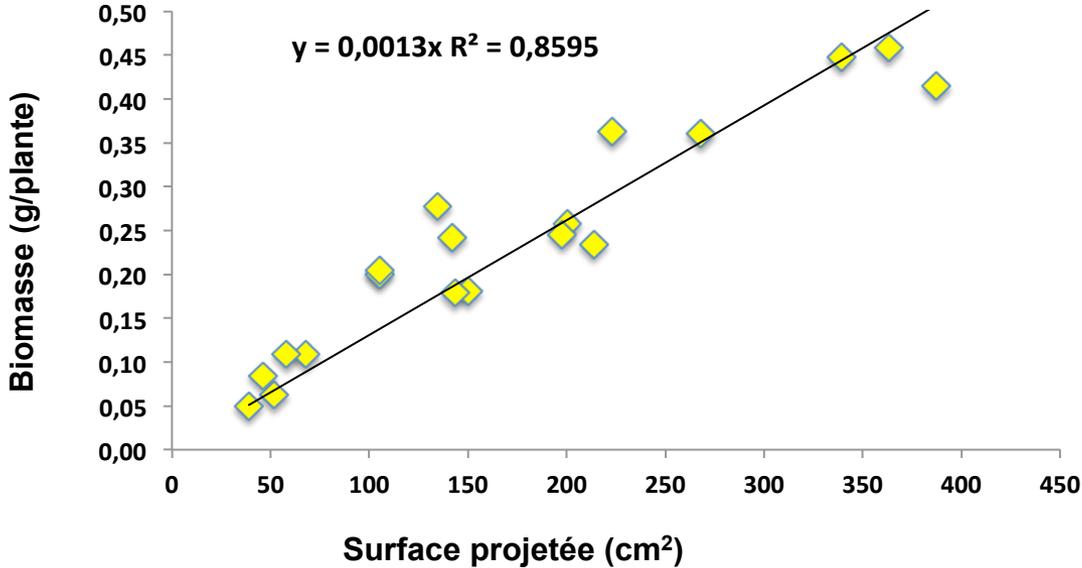
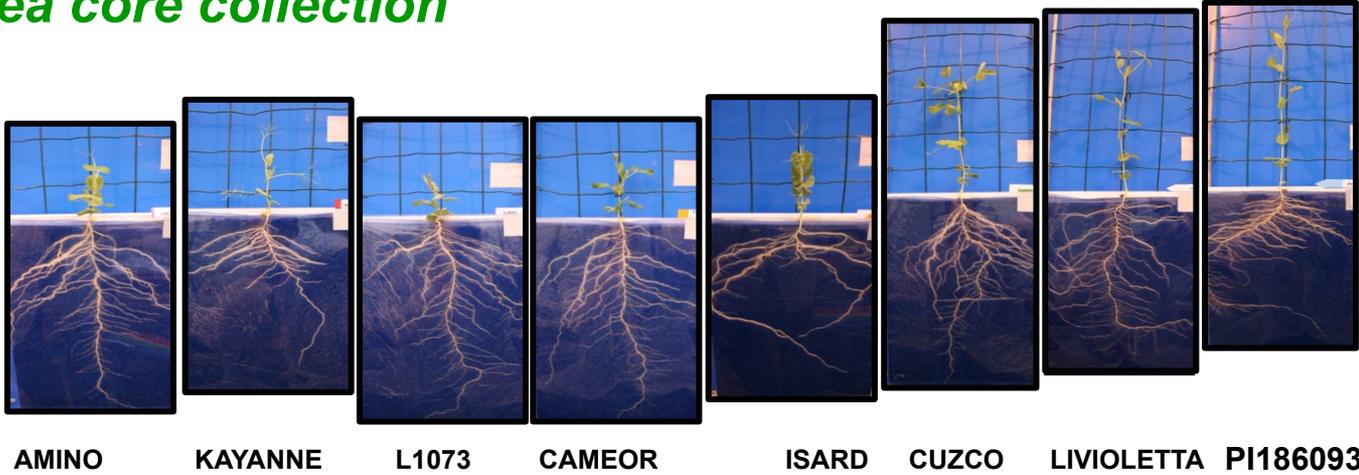


Hydroponique et substrat

Vigne
Légumineuses

Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

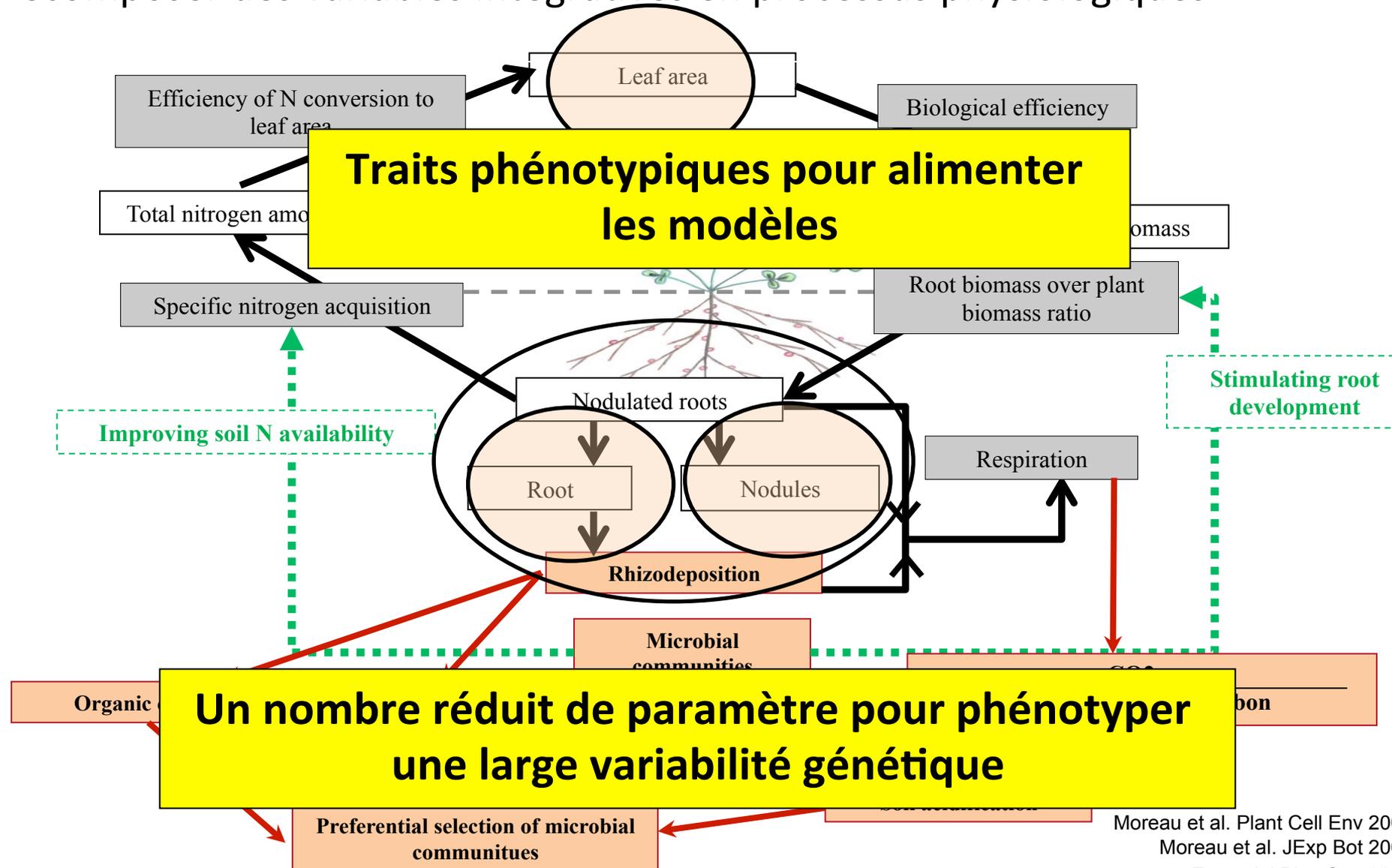
**Explorer la variabilité génétique intraspécifique :
Pea core collection**



Estimer la biomasse de manière non destructive

Modèle Intégratif: *Medicago*

Décomposer des variables intégratives en processus physiologiques

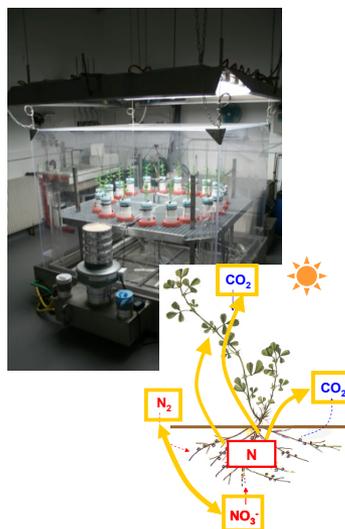


Food for thoughts... Combiner les approches

Phénotypage



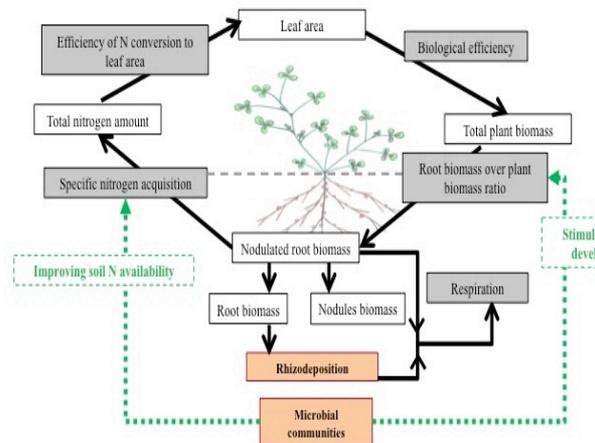
Approche analytique



Identifier des différences
entre géotypes



Modélisation



Interpréter les
différences détectées

Perspectives

- **« Complexifier » les rhizotrons**
- **Discriminer organes : gamme de longueurs d'onde.**
- **Phénotypage fonctionnel (NAAS)**
- **Contrôler les conditions environnementales**
- **Valider au champ : Plateforme Phénotypage Dijon**

EFOR

PPHD



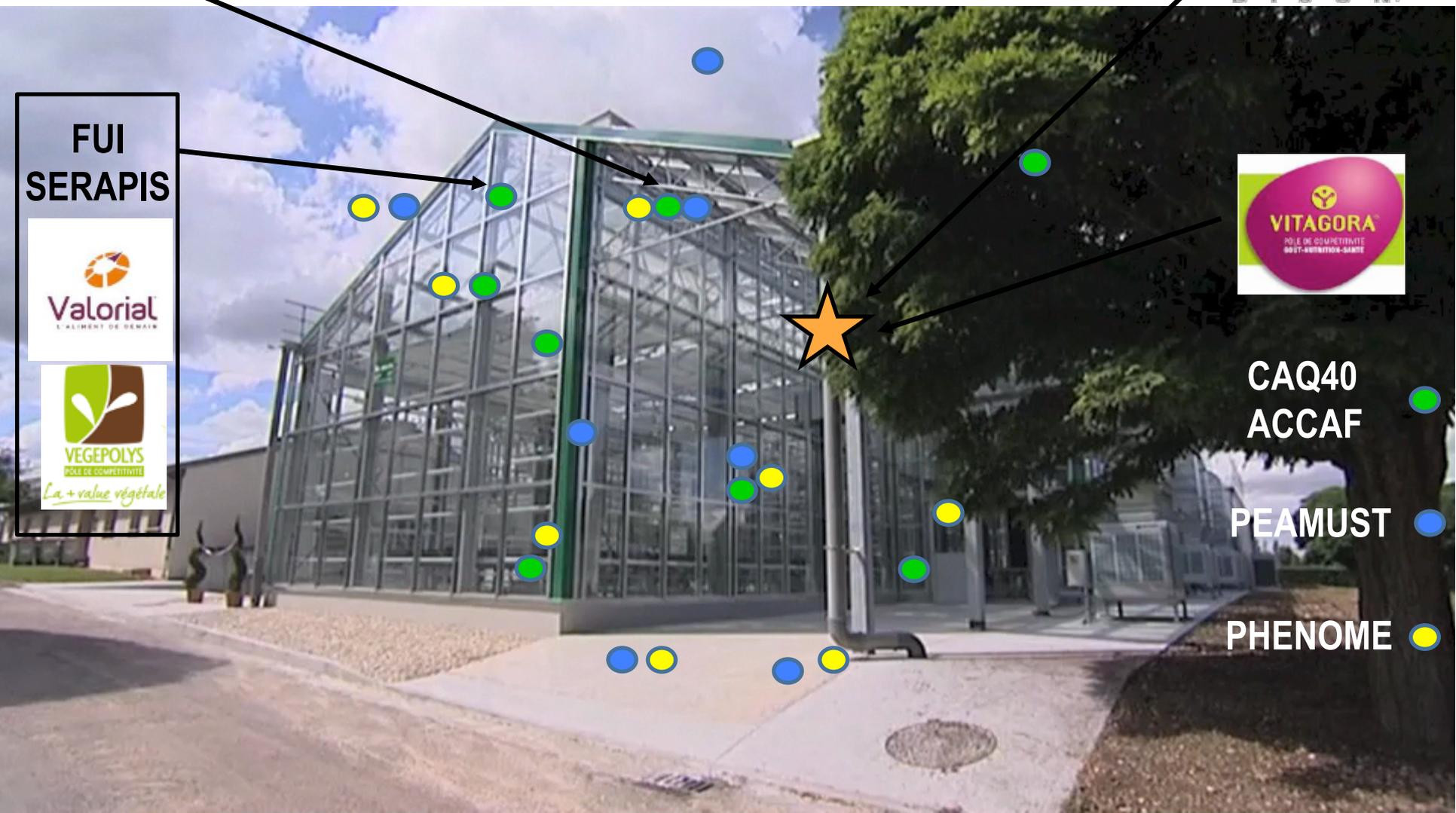
**FUI
SERAPIS**

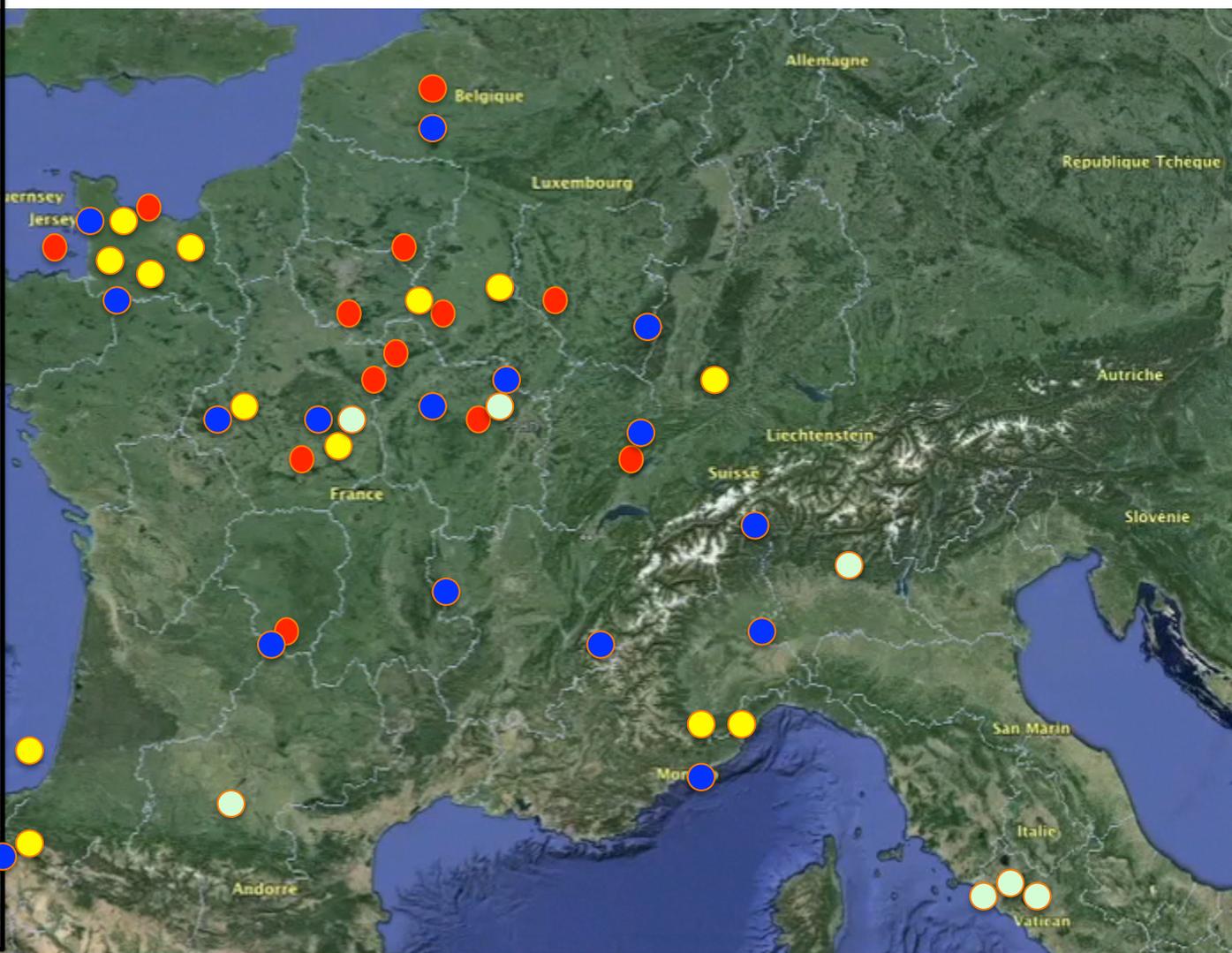


CAQ40
ACCAF

PEAMUST

PHENOME





Distribution...

Christian JEUDY



Céline BERNARD



Frédéric COINTAULT



Simeng HAN



Marielle ADRIAN



It's aussi...



Ecophysiology team

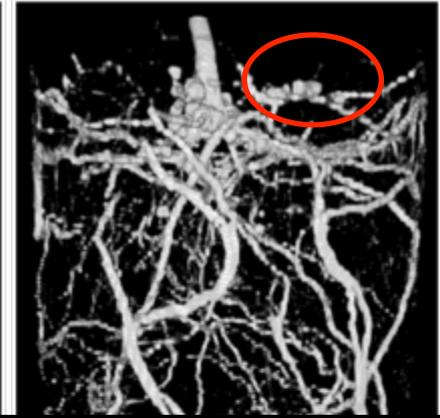
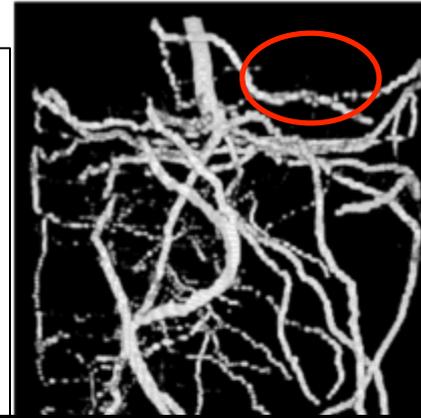


Medicago truncatula team



Magnetic Resonance Imaging

- Non-invasive
- Soil-potted plants
- High contrast between



Outcome: Best combination of plant/rhizo (functional/structural traits) for drought

- development in 3D
- Measuring water and solid content development in pods
- Combines well with Positron Emission

Tomography (PET) for

**Common
bean
(*Phaseolus
vulgaris* cv.
Fardenlosa
shiny) 0 DAS**



Age: 24 DAS