



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

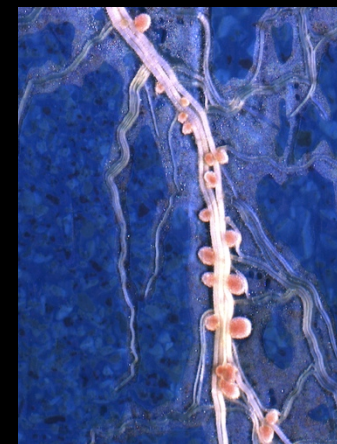
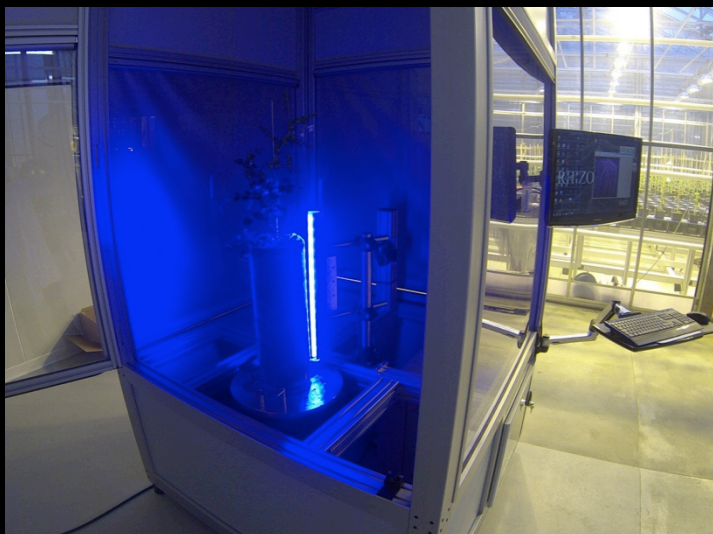
HAL Id: hal-02791946

<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.






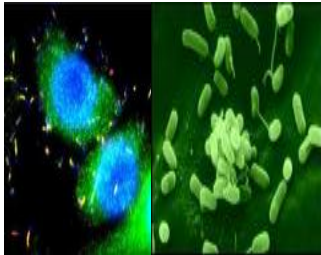
Phénotypage haut débit des interactions entre plantes et micro-organismes : exemple des légumineuses

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

EcoIDur	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

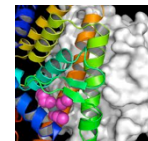


Variabilité génétique



Conception d'Idéotypes de plantes

Mécanismes et bases moléculaires



Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
		Fluxomique			
		PPHD			
		Rhizotrons			
		Rhizobox			

Dispositifs de culture

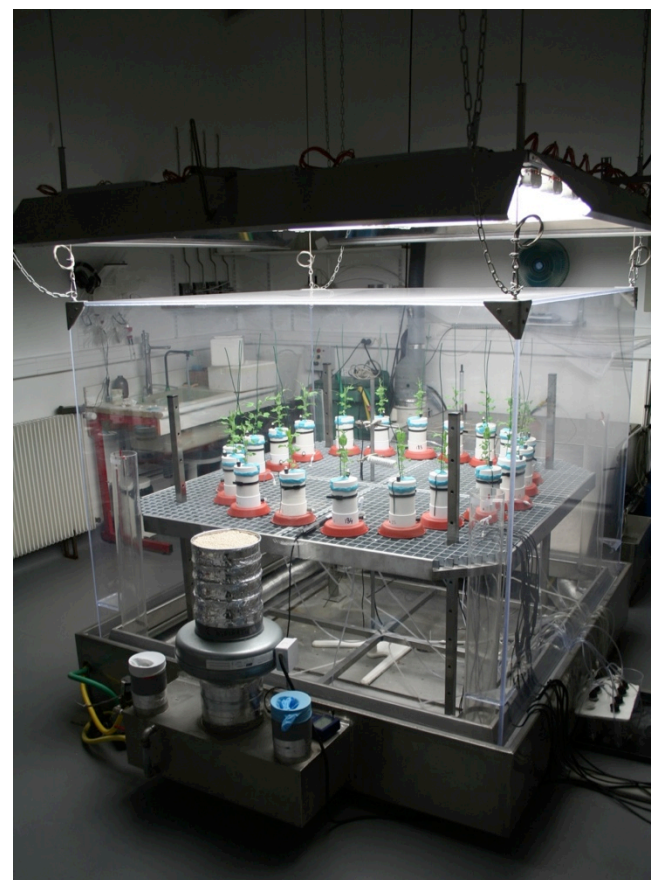


Poches, hydroponique



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



Architecture aérienne



20 unités/h


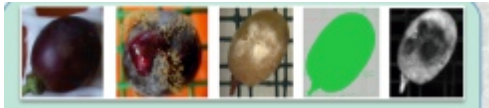
2 unités/h



Racines

Plantes des agrosystèmes

Organes (graines...)





Petites plantes

6 unités/h

Germination



120 unités/h



Capacité \approx 1800 plantes

100 unités/h



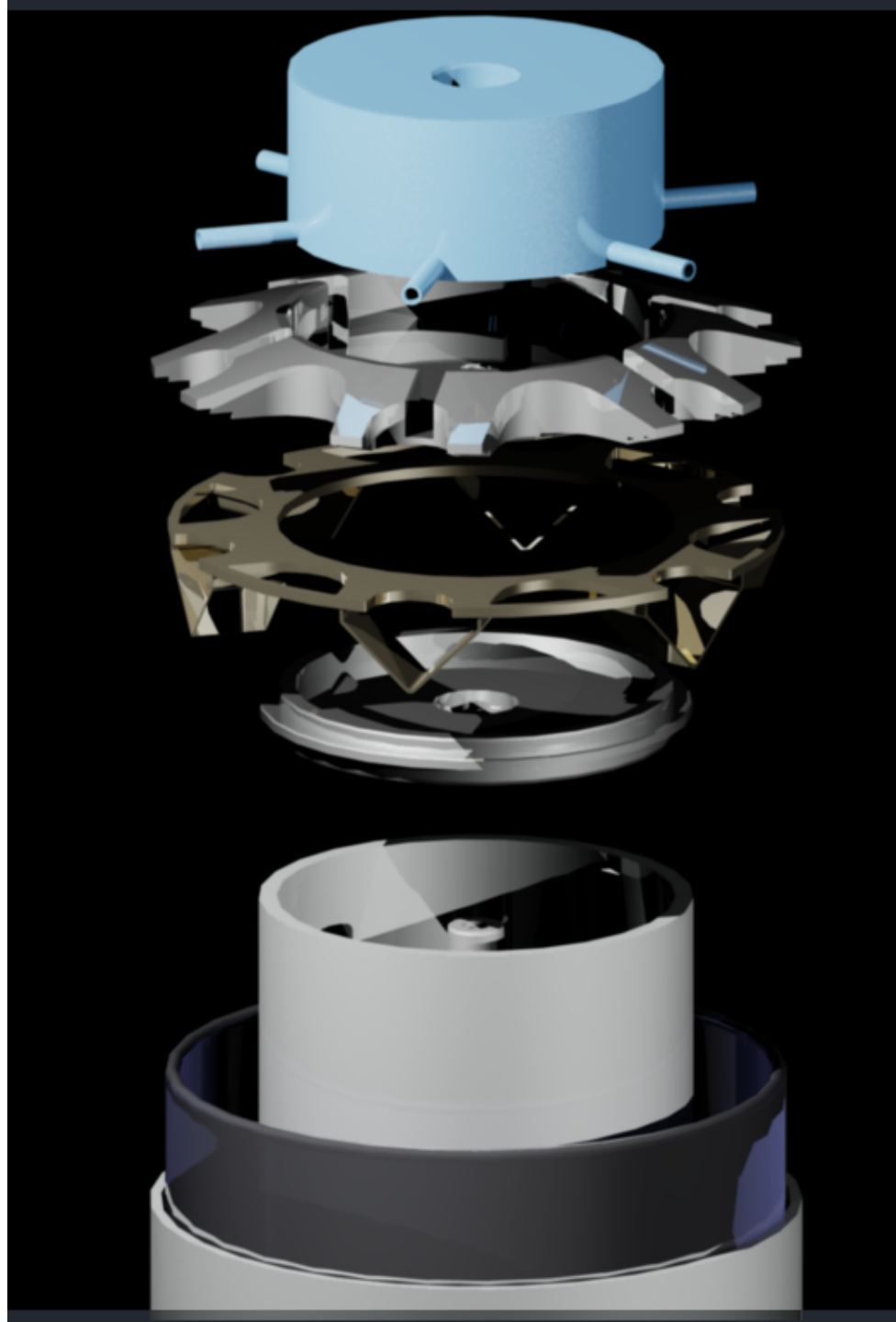

Très large capacité

Cabines de phenotyping avec caméras et robots

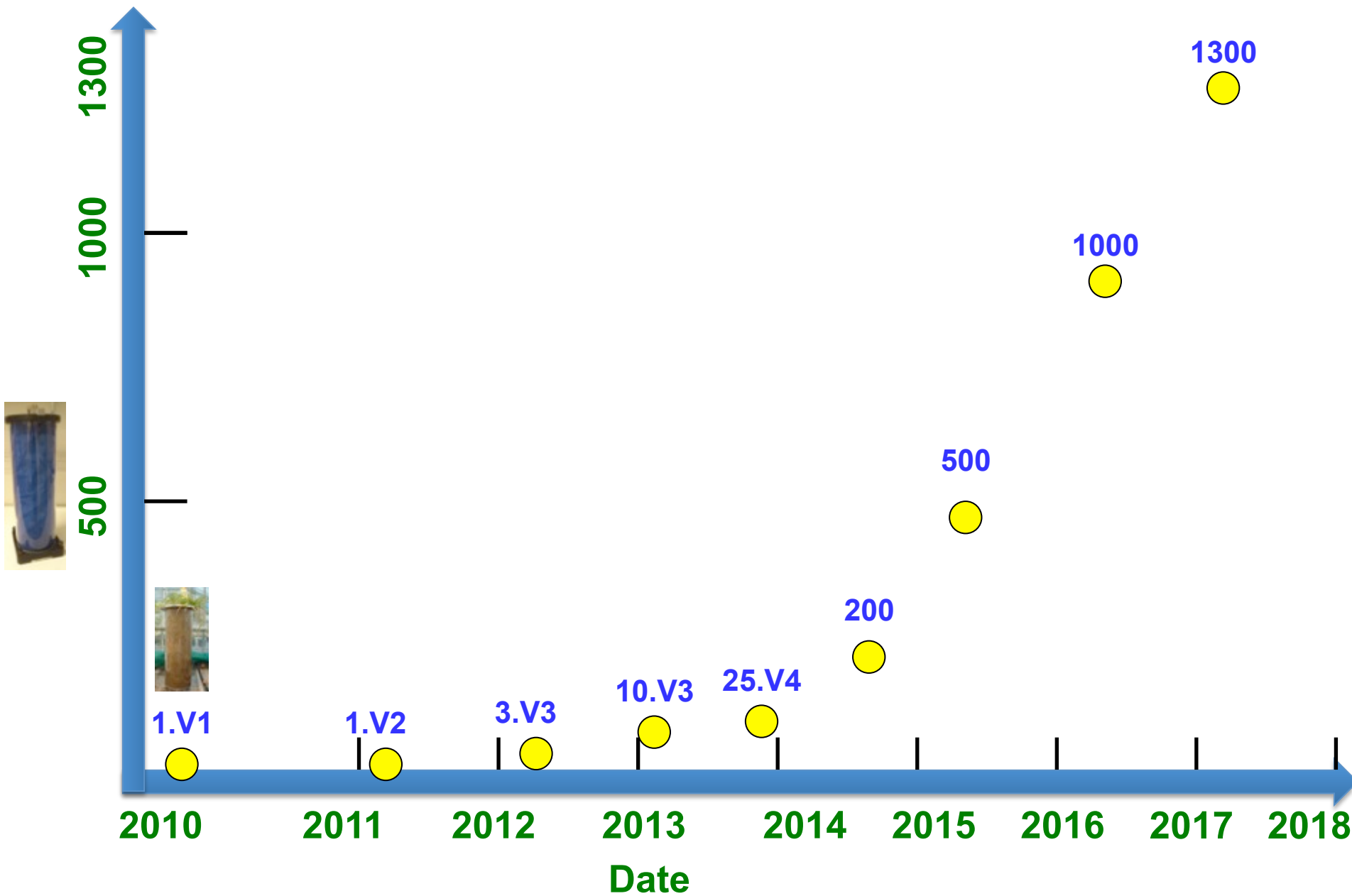
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
		Fluxomique	Equipements Shoot roots etc		
		PPHD			
		Rhizotrons			



Toulouse, 23/05/14



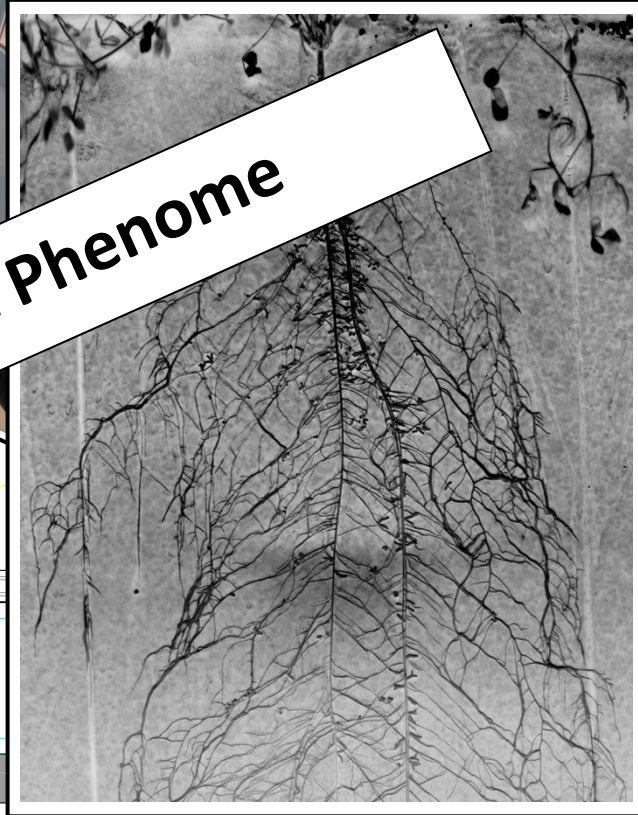
Rhizotrons



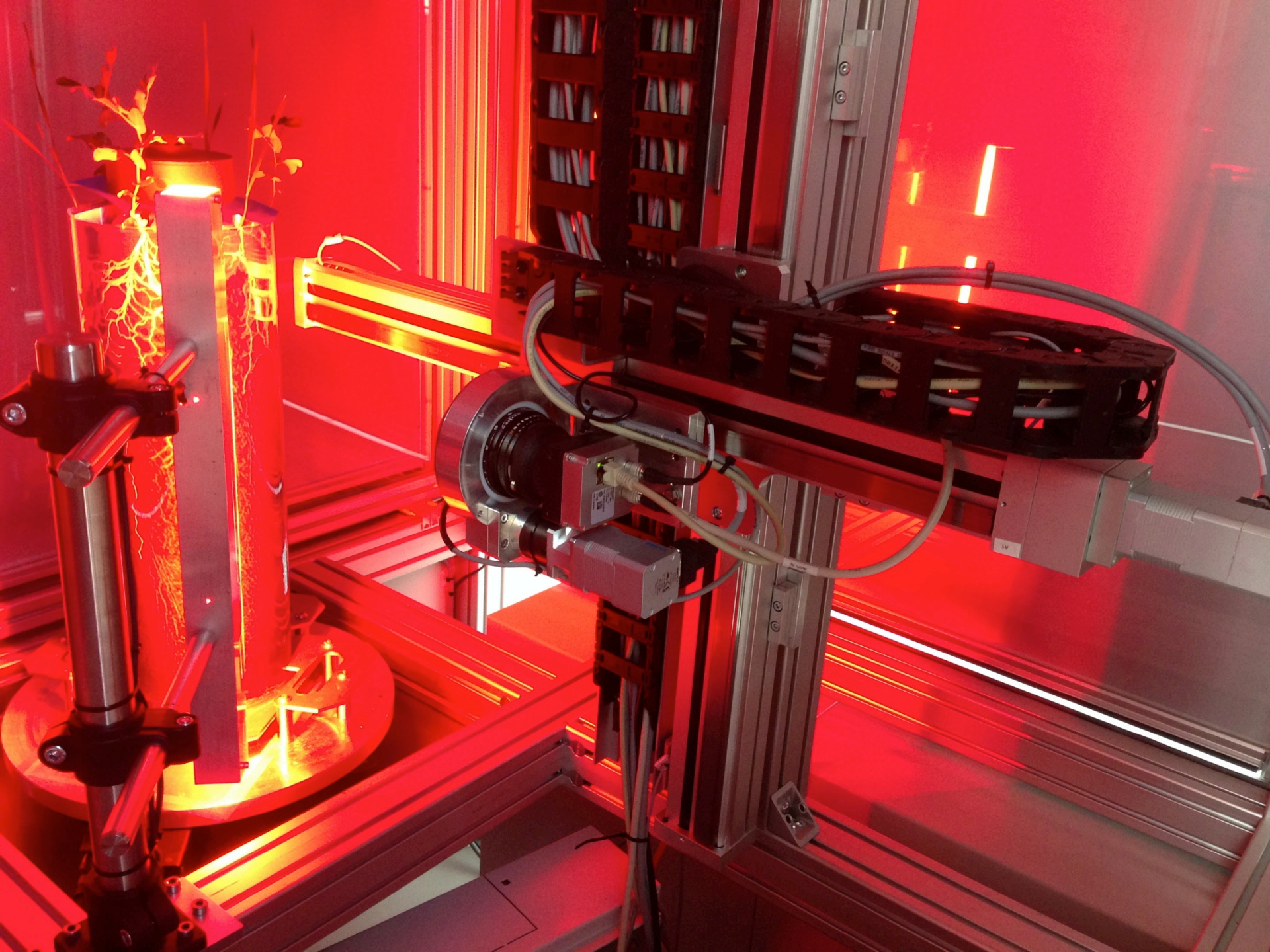
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
----------	----------	--------	----------	---------	------------

Fluorimétrie
 PPHD
 Rhizotrons
 Rhizobox

RhizoBox
 (INRAE)



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



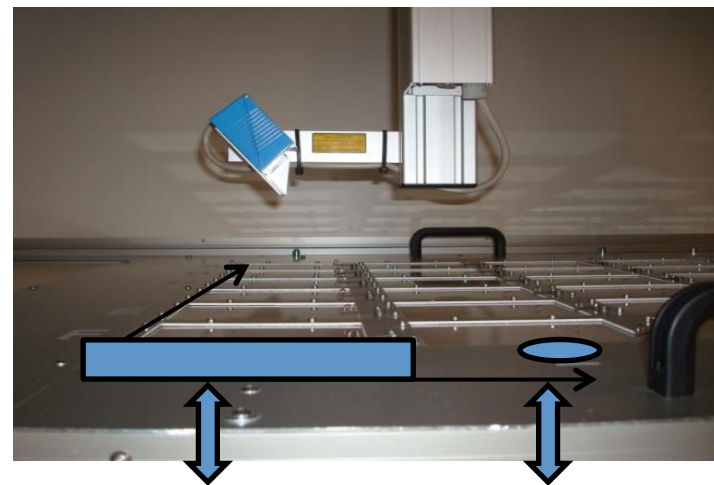
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		Objectifs
			Légumineuses		Détection maladie



HTS (petites unités biologiques)

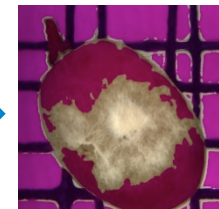
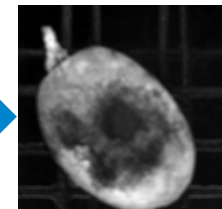
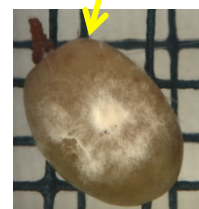
Couleur/texture, espaces hybrides

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



Microplaques,

boîte de pétri



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

Vigne

Légumineuses

Objectifs

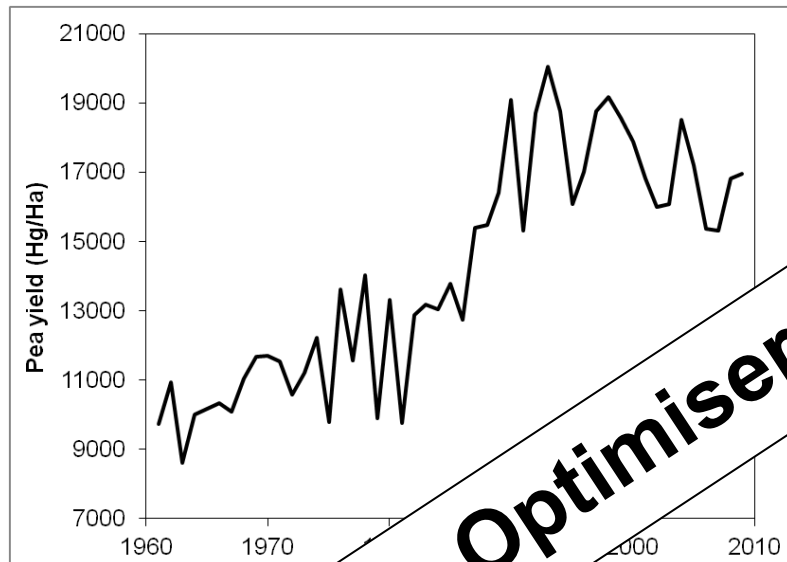
Diversité Génét.

Ident. Strategies

Traitements Image

et ensuite ?

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



Mais...

Rendement... constants

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

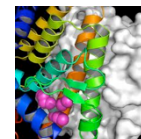


Variabilité génétique



Conception d'Idéotypes de plantes

Mécanismes et bases moléculaires



Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

Ident. Strategies

Traitements Image

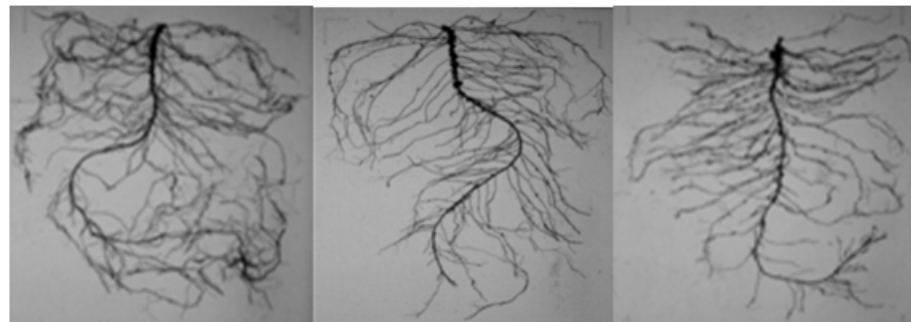
Et ensuite ?

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

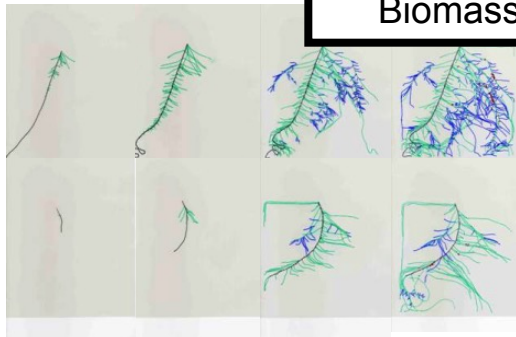


Parties aériennes :

Hauteur
Biomasse
Surface foliaire

Racines:

Nombre
Longueur
Biomasse



Nodosités:

Nombre
Surface
Biomasse



FONCTION

Efficiences
d'acquisition de C



Efficiences
d'acquisition de N

Bourion et al. TAG 2010

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

Vigne	
Légumineuses	

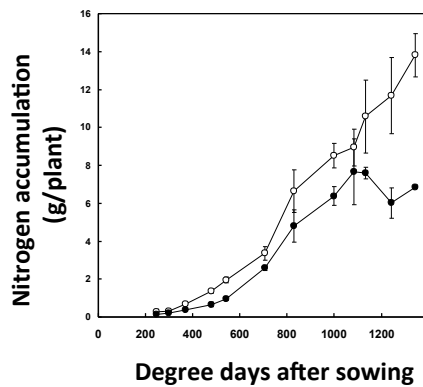
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Variabilité génétique induite

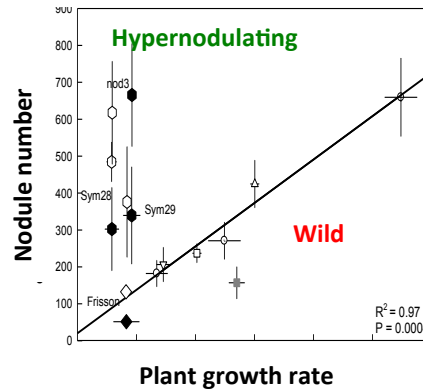
Identifier/caractériser les gènes impliqués dans la nodulation, et l'architecture racinaire

Développement des nodosités

Architecture racinaire



Salon et al. Agr 2001

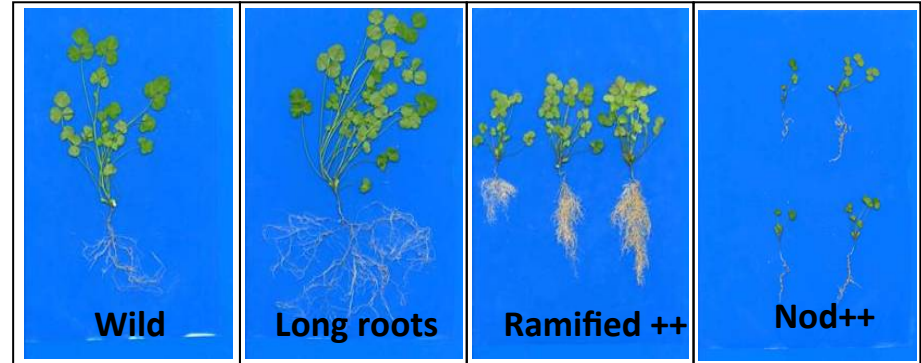


Voisin et al. Plant Soil 2010

Duc et al. 1998

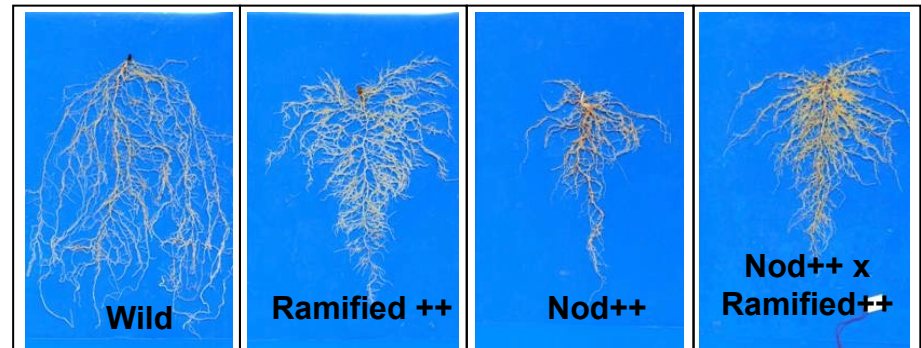
Cazenave et al. Plant Soil 2013

Medicago truncatula, Tnt1



Porceddu et al. BioMed 2008

Pea, EMS



Coll. KK Sidorova

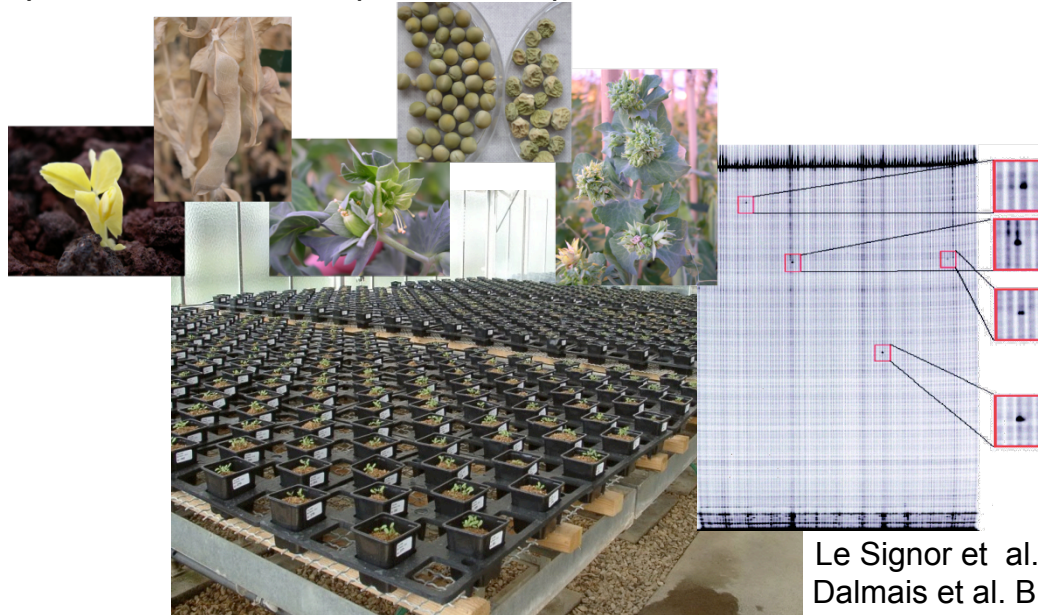
Vigne
Légumineuses

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
Dalmay 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

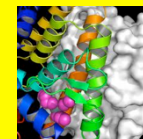


Variabilité génétique



Conception d'Idéotypes de plantes

Mécanismes et bases moléculaires



Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

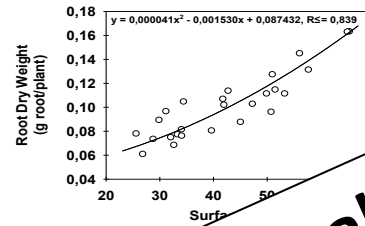
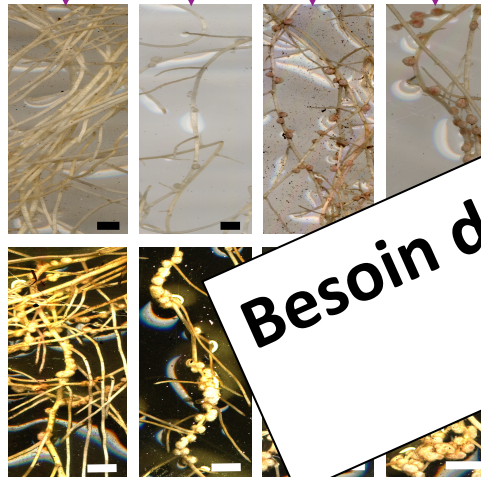
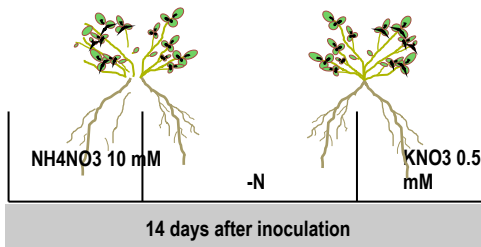
Ident. Strategies

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.

Surface projetée de racine

Thèse Simeng Han

Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

Ident. Strategies

Traitements Image

Et ensuite ?

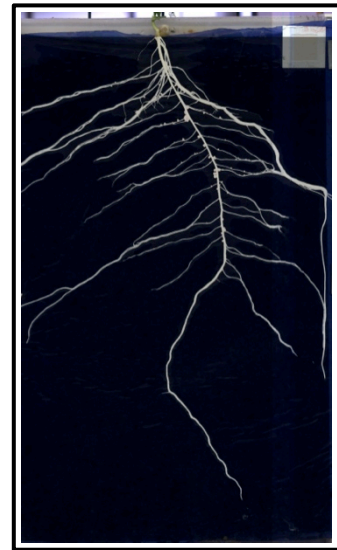
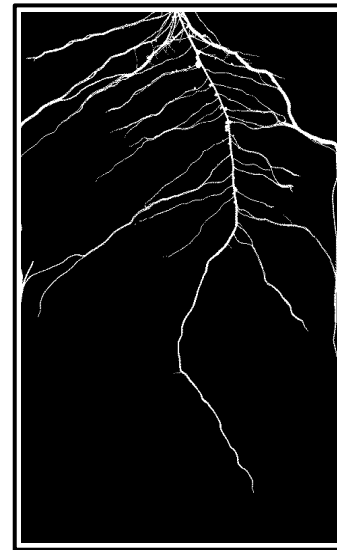
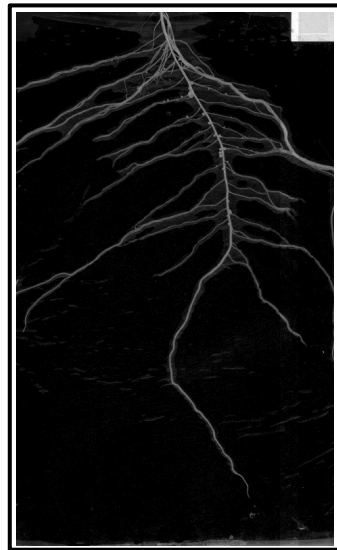
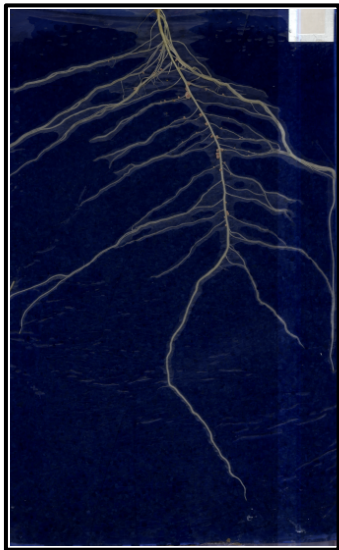


Image origine
(A)

Meilleure bande

Image binaire
(B)

Superposition
(B/A)

Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

Ident. Strategies

Traitements Image

Et ensuite ?

Longueur de racines

Thèse Simeng Han

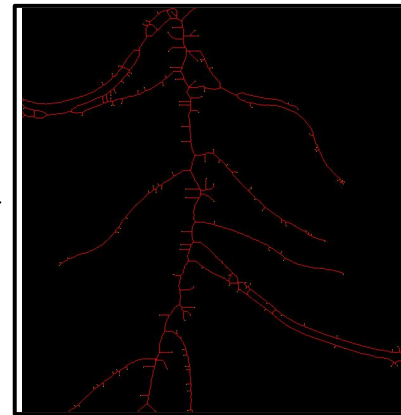
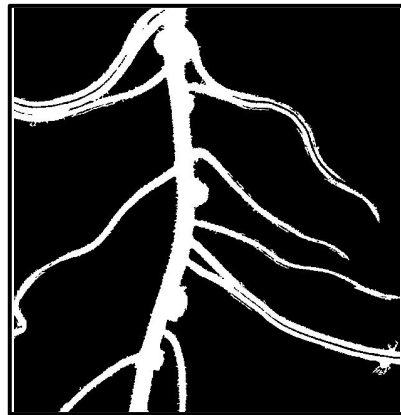
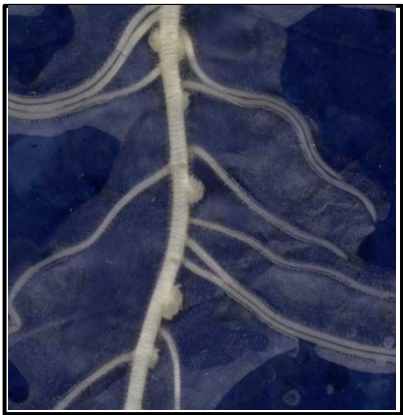


Image origine

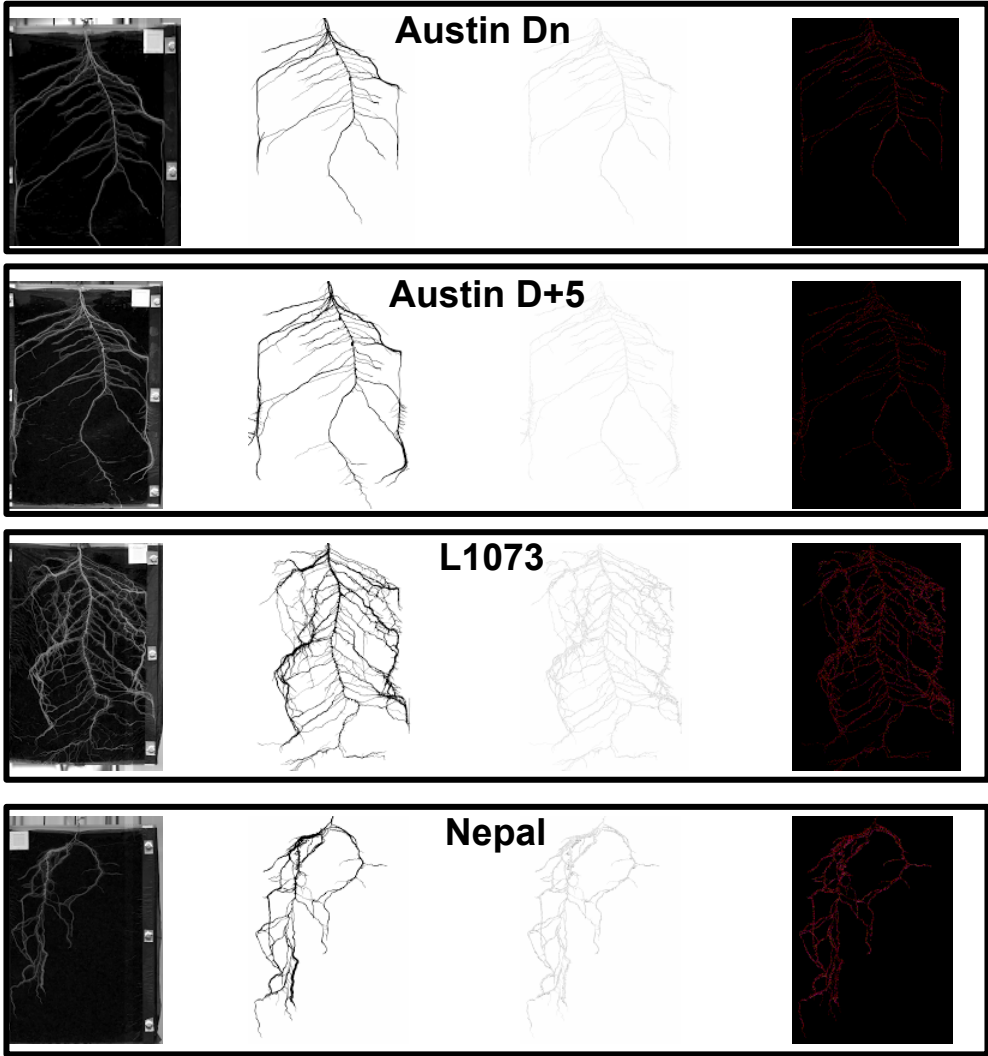
Binarisation

Squelettisation

Connectivité

Résultats sur 4 images

Thèse Simeng Han

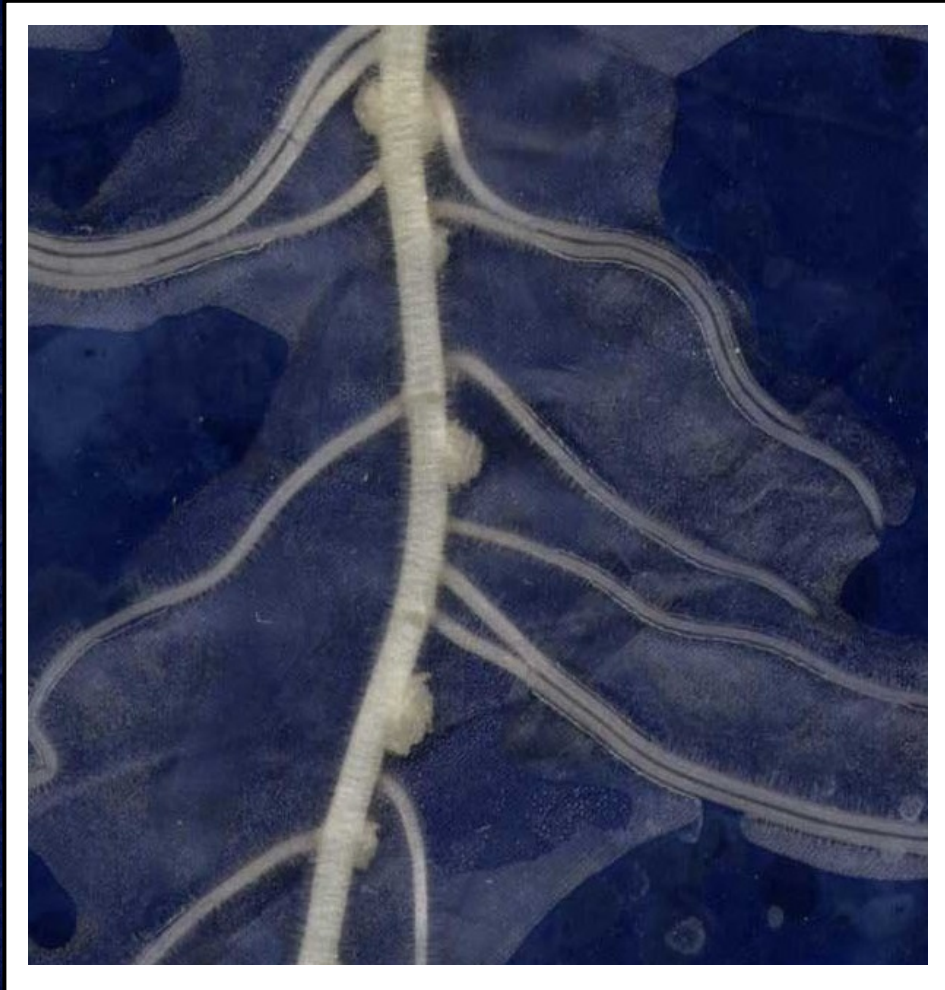


Vigne	
Légumineuses	Objectifs Diversité Génét. Ident. Strategies Traitements Image Et ensuite ?



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

Détection de nodosités

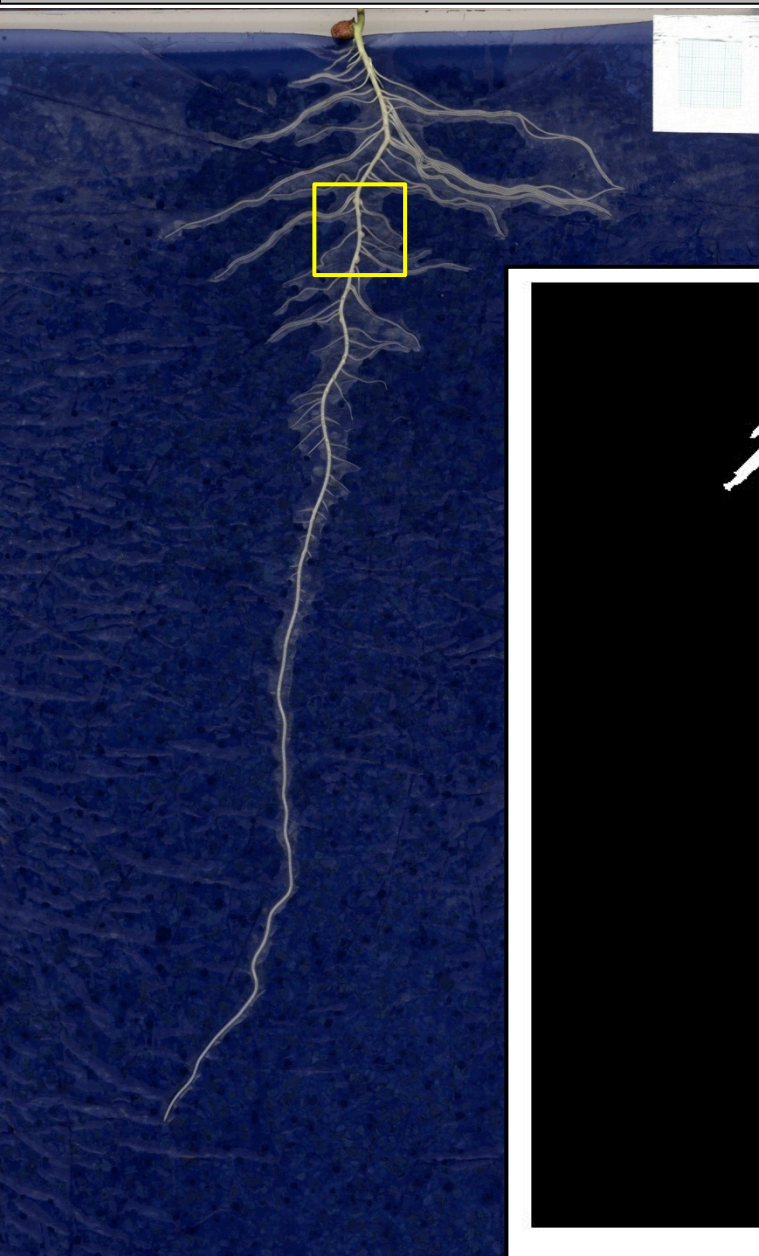


Jeune plante

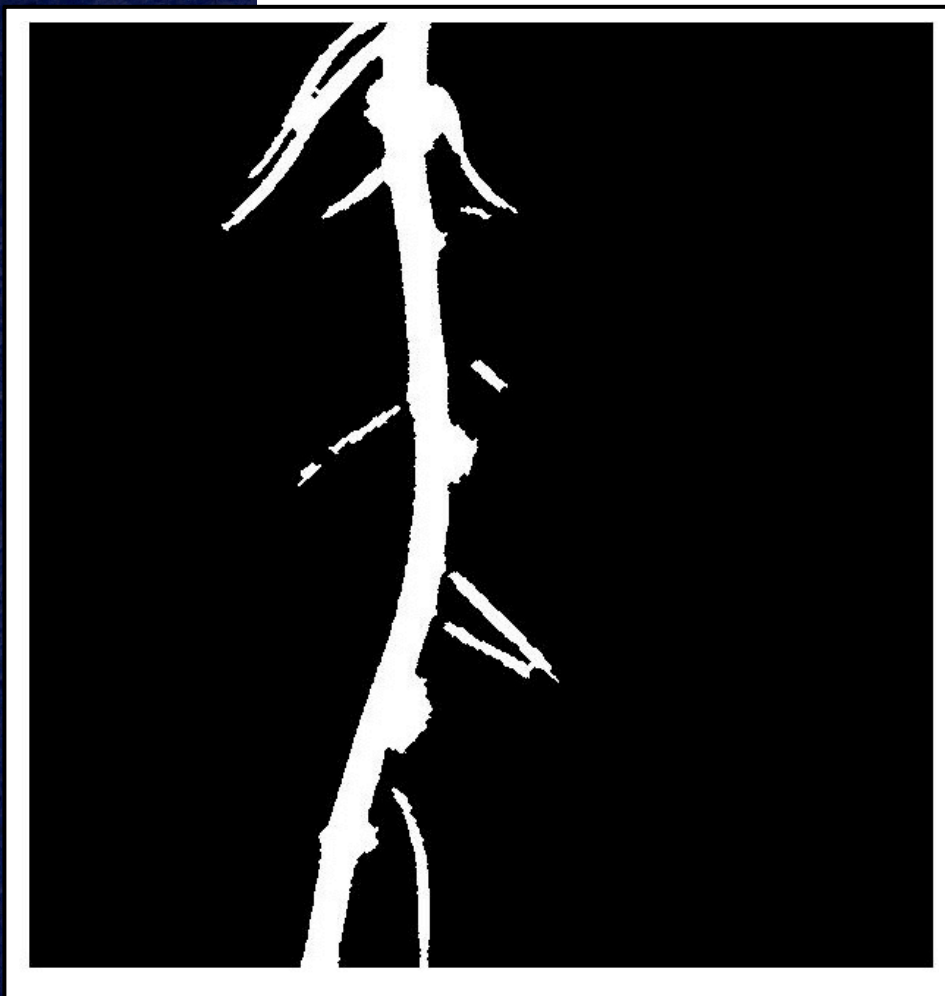


Thèse Simeng Han (unpublished)

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



Jeune plante



Thèse Simeng Han (unpublished)

Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

Ident. Strategies

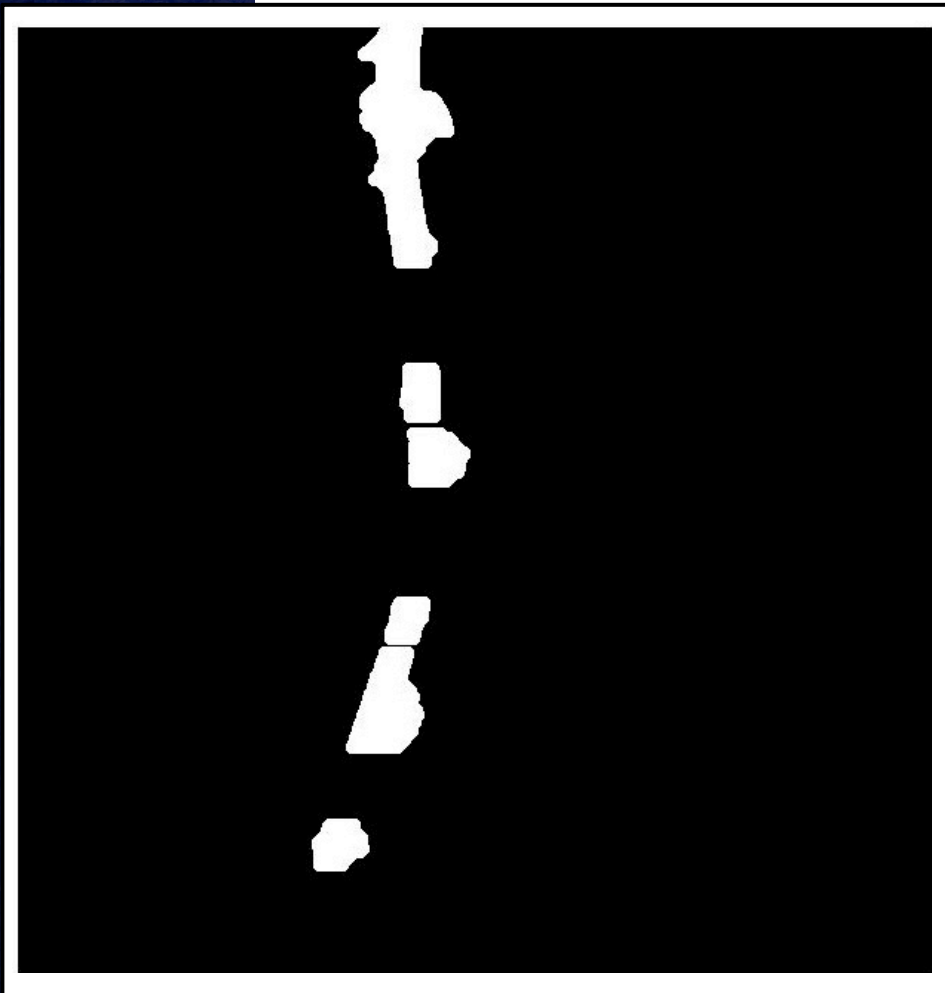
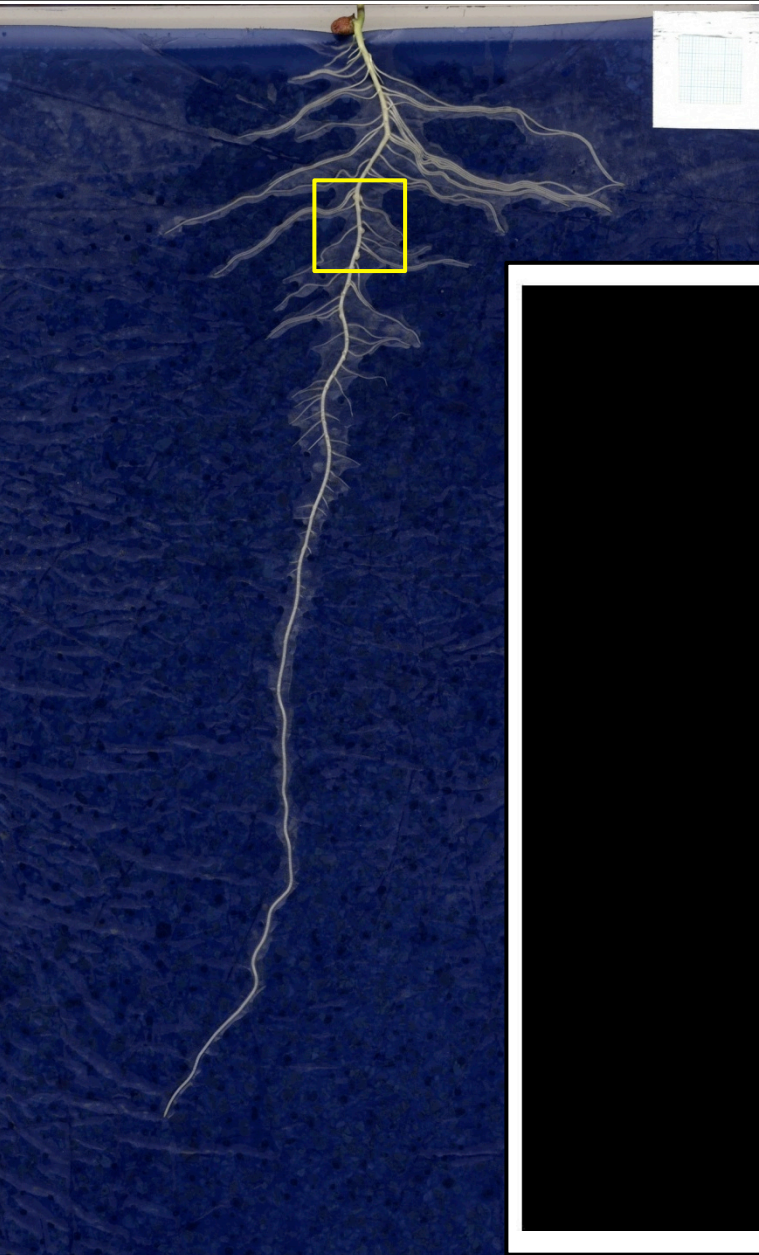
Traitements Image

Et ensuite ?



**Seuillage,
image
binaire**

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



Jeune plante

Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

Ident. Strategies

Traitements Image

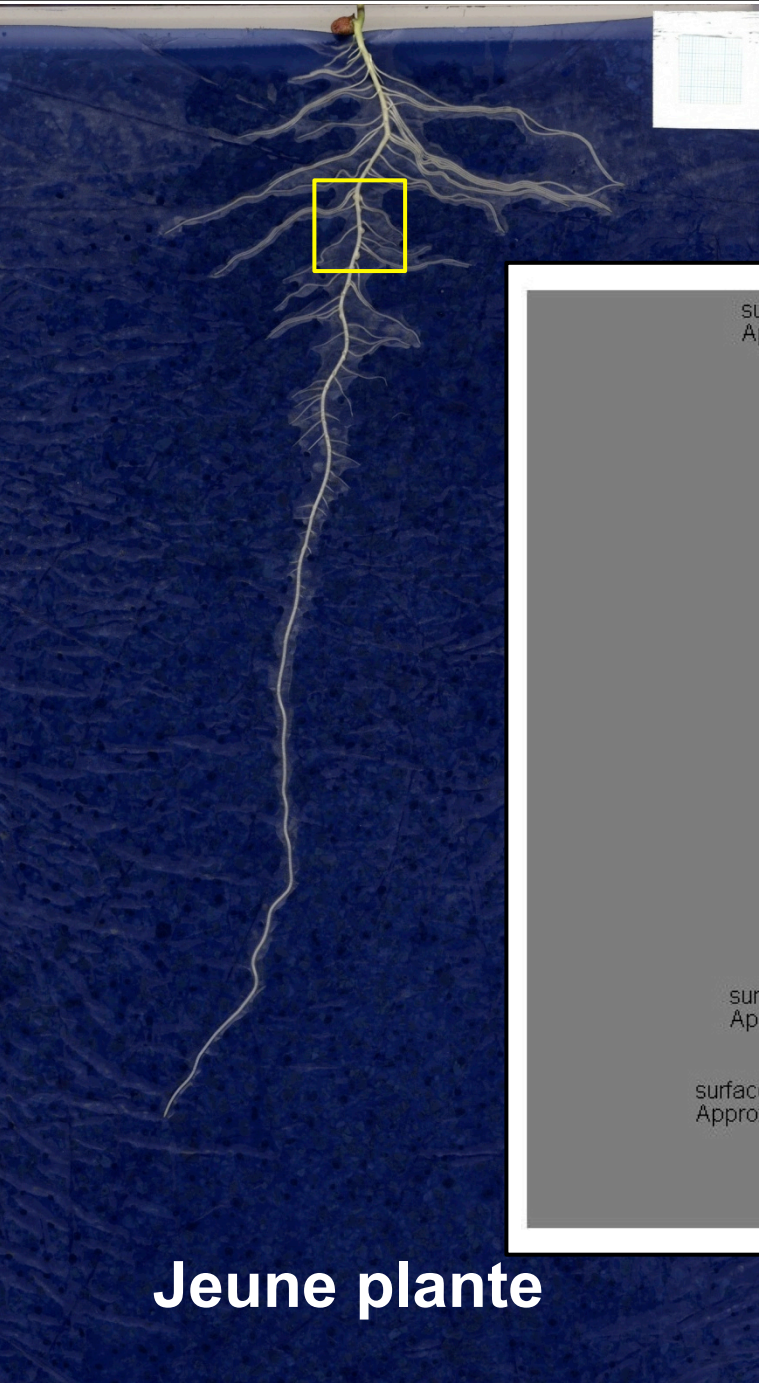
Et ensuite ?



**Lisser
l'image**

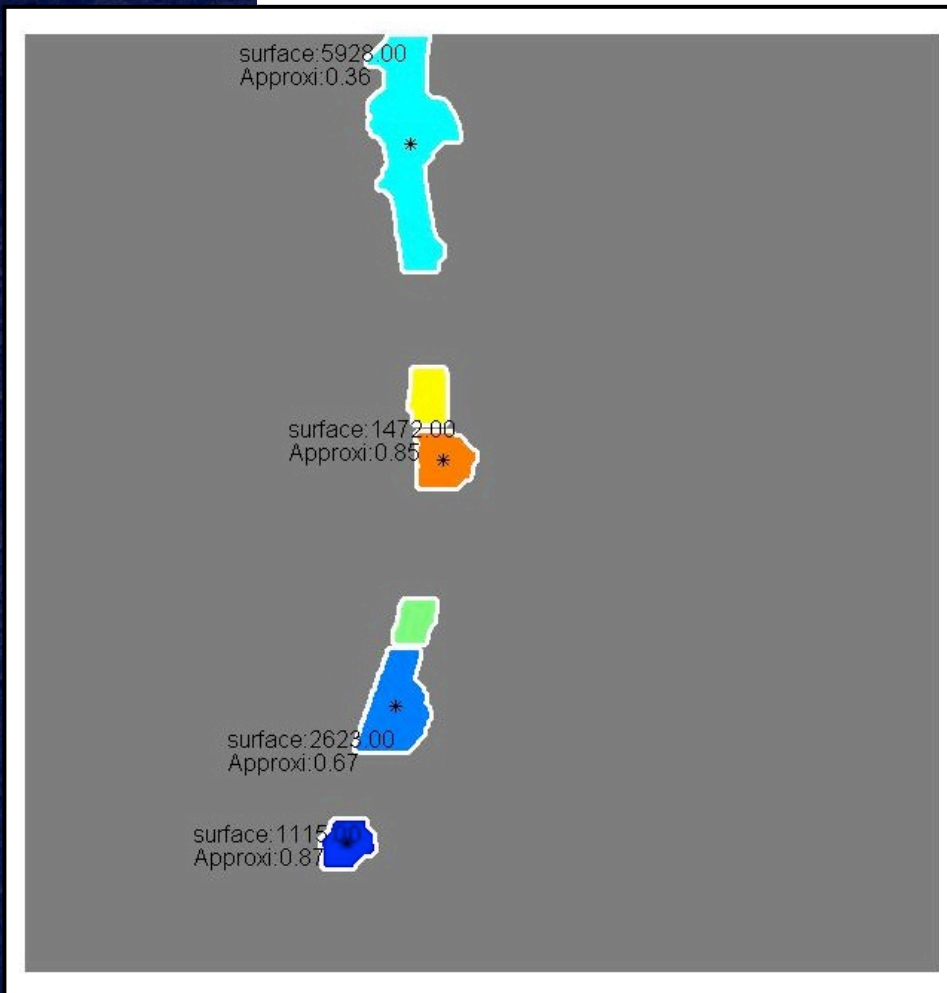
Thèse Simeng Han (unpublished)

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



Vigne
Légumineuses

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



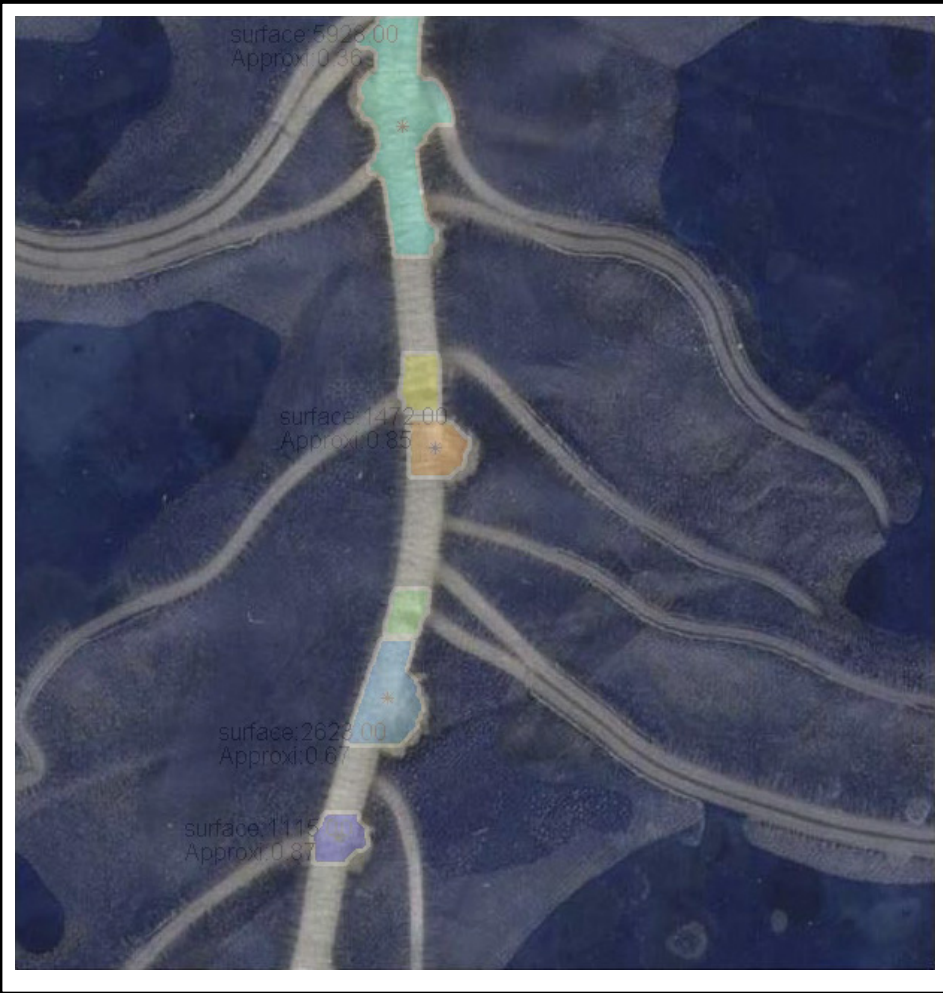
Compter les nodosités

Thèse Simeng Han (unpublished)

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

Vigne
Légumineuses

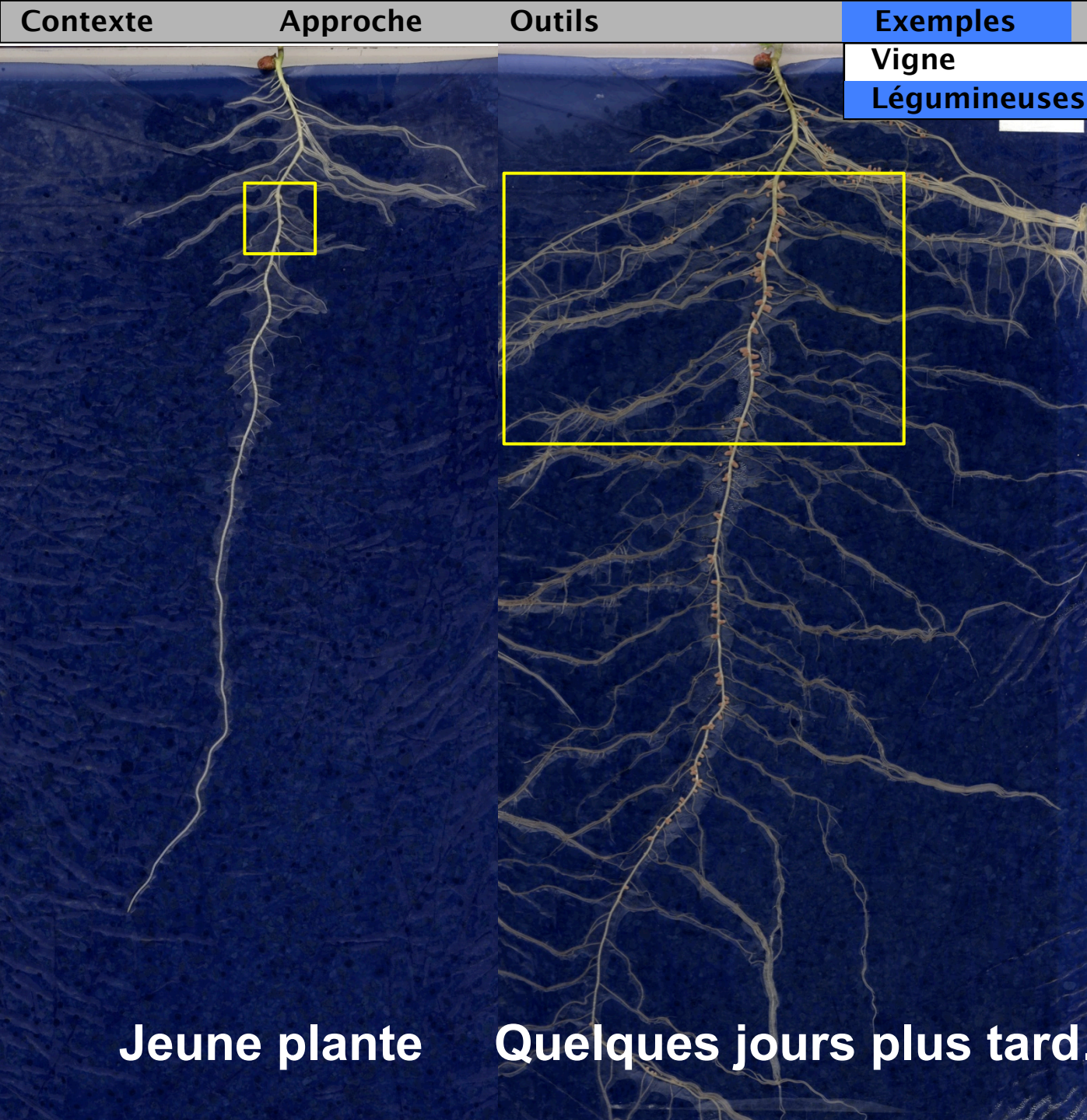
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?



**Original image
+ nodosités
superposées**

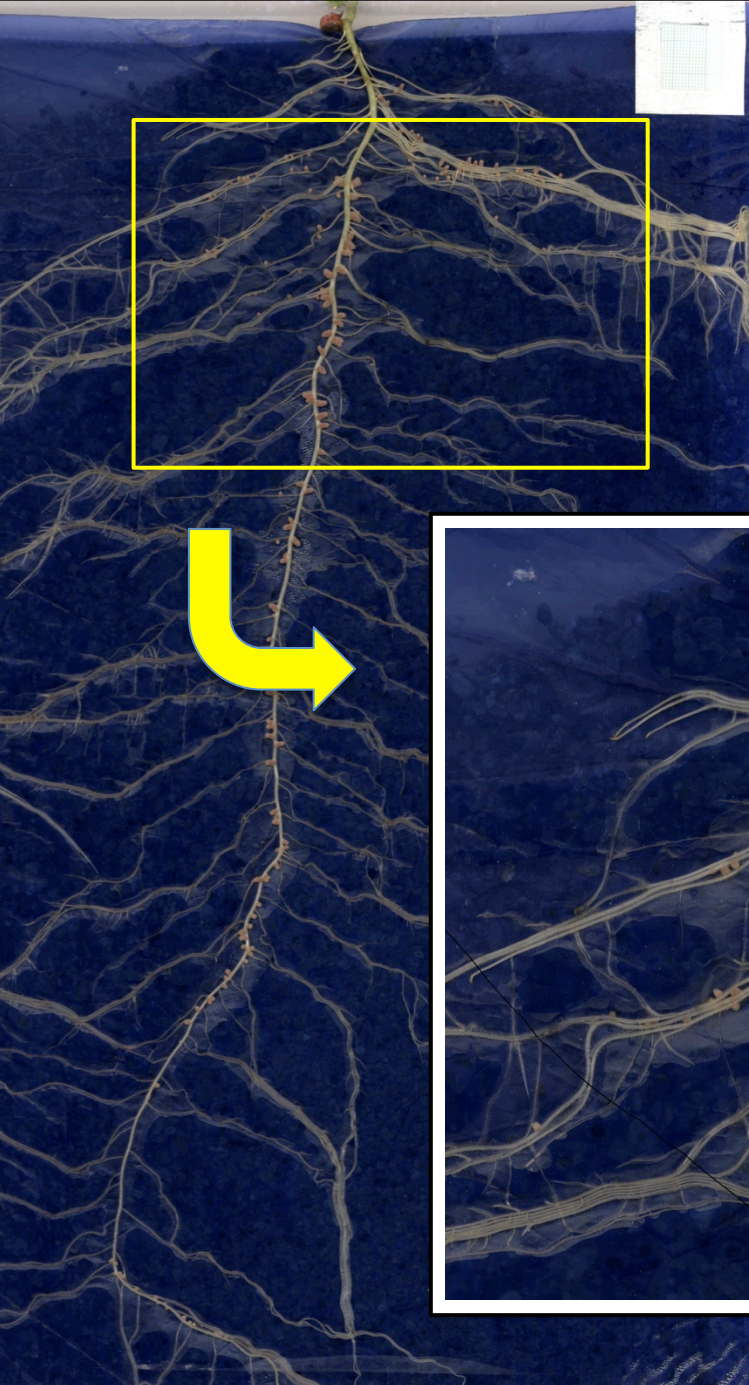
Jeune plante

Thèse Simeng Han (unpublished)

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne	<div>Objectifs</div> <div>Diversité Génét.</div> <div>Ident. Strategies</div> <div>Traitements Image</div> <div>Et ensuite ?</div>	
			Légumineuses		
Jeune plante			Quelques jours plus tard.		

Toulouse, 23/05/14

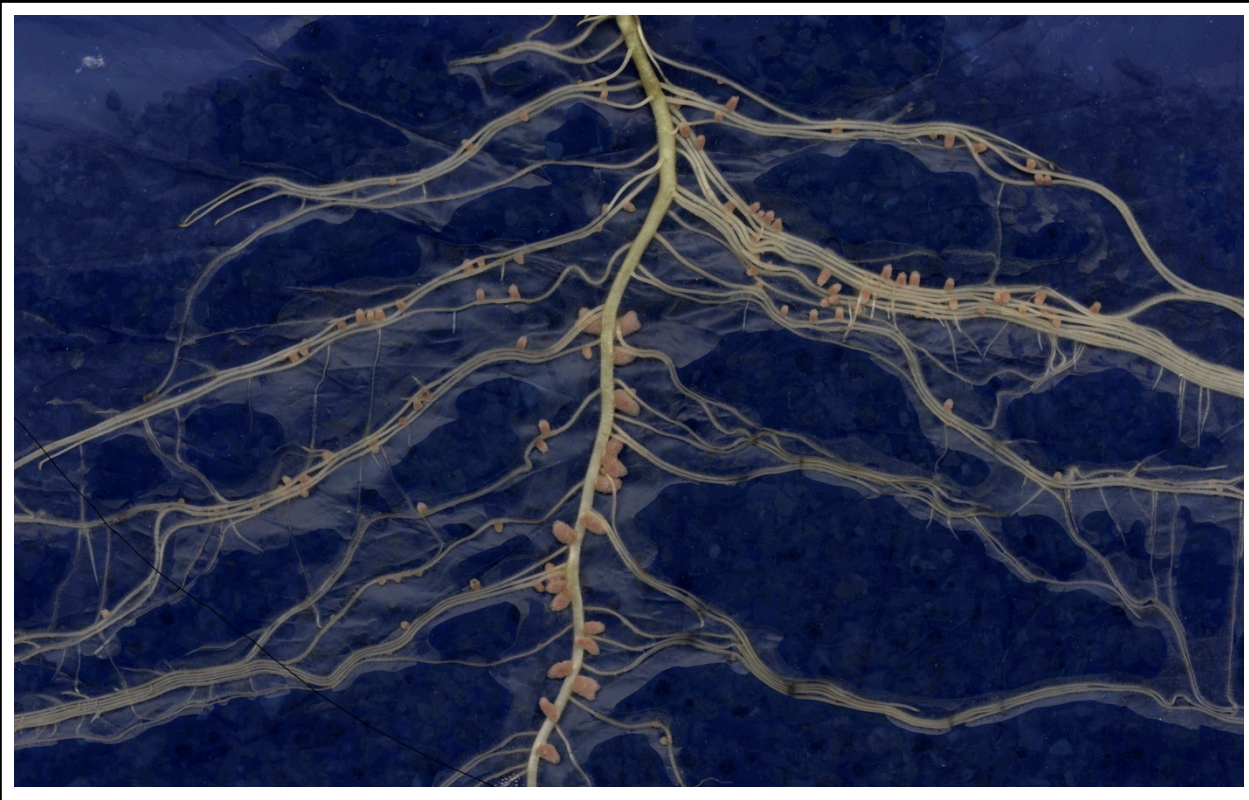
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
----------	----------	--------	----------	---------	------------



Vigne	
Légumineuses	

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

Focus sur image



Vigne

Légumineuses

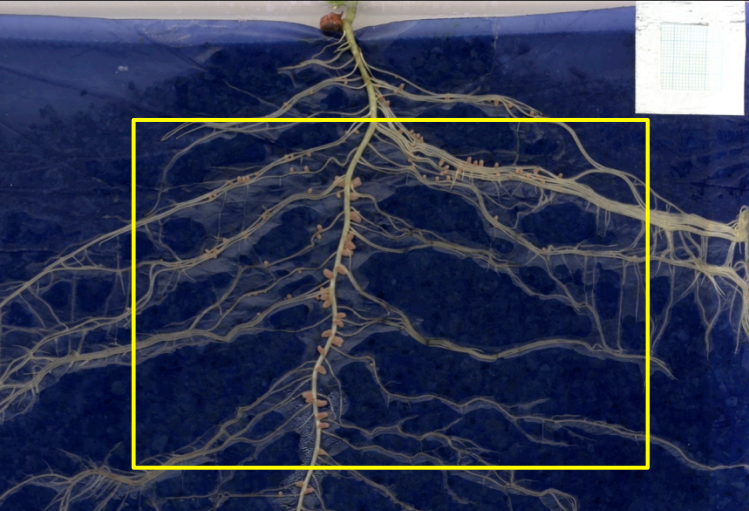
Objectifs

Diversité Génét.

Ident. Strategies

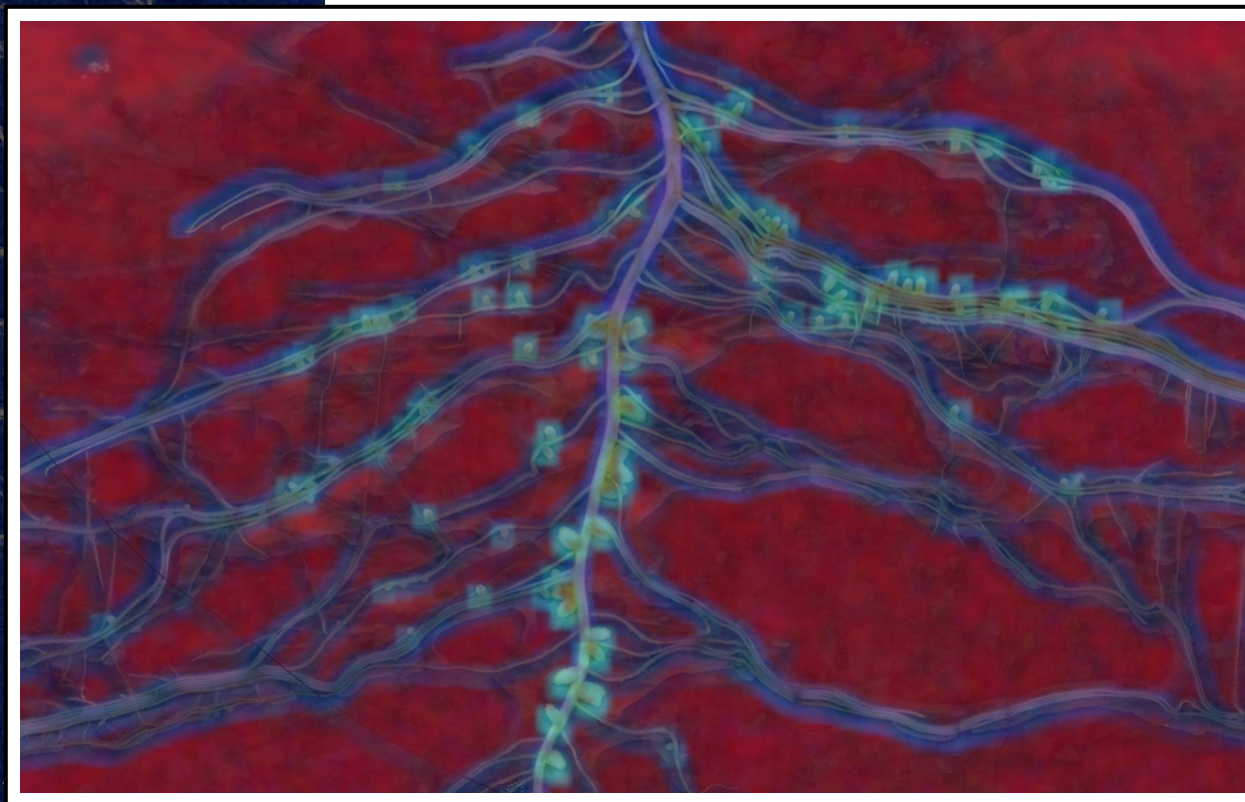
Traitements Image

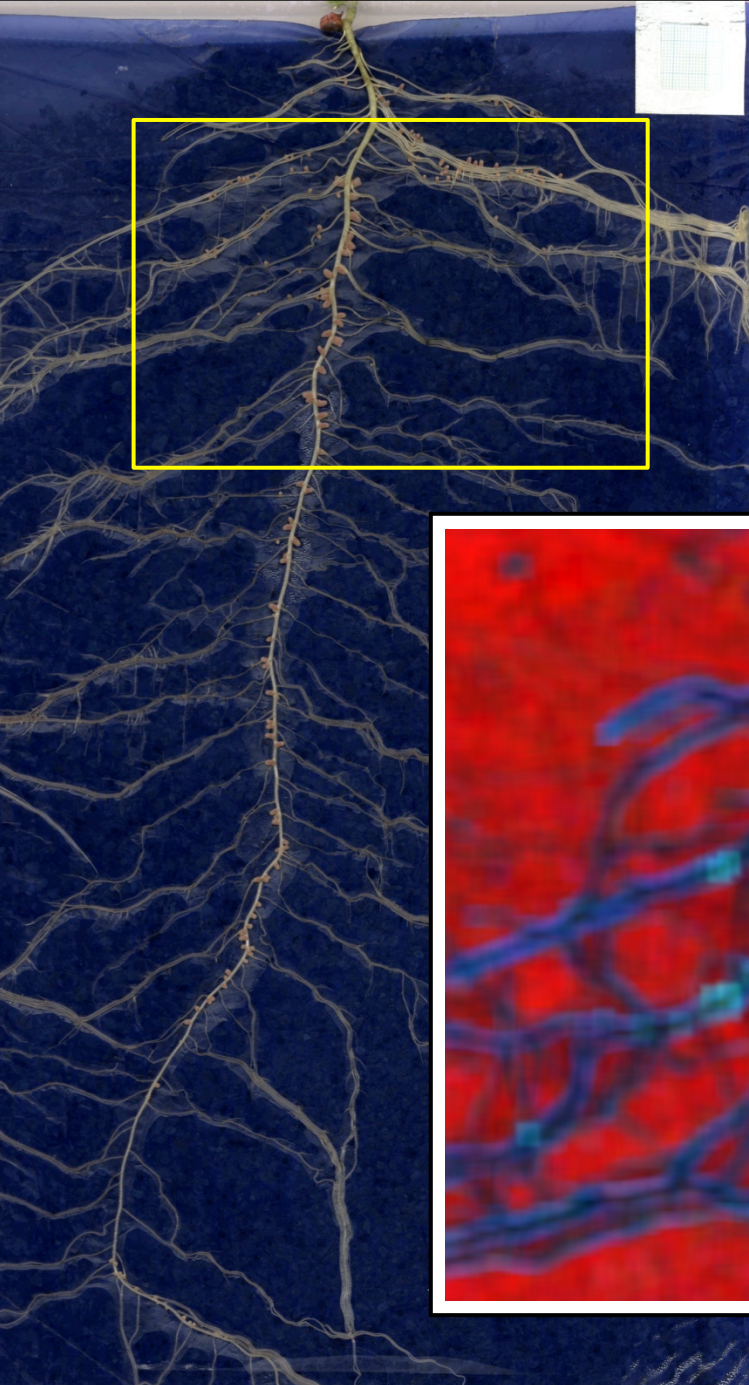
Et ensuite ?



Espace hybrides (couleur + texture)

Cointault et al, 2008)

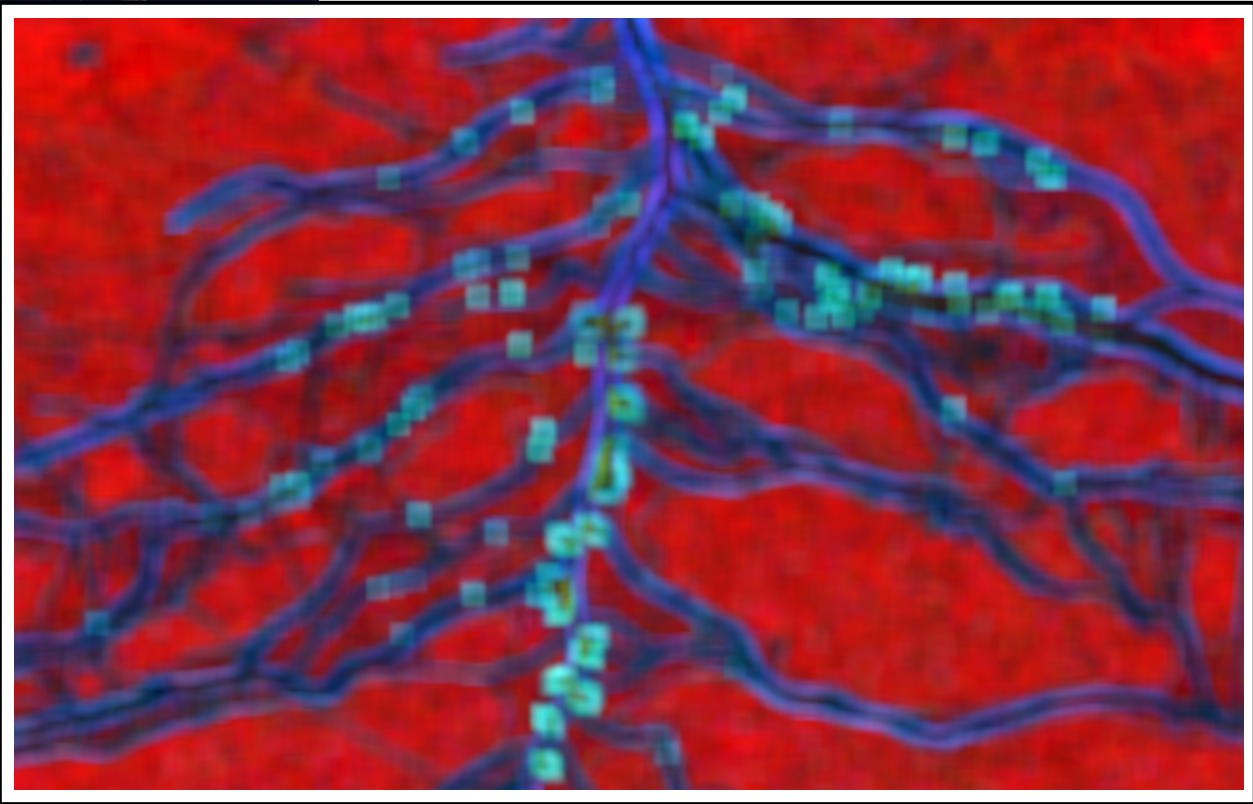


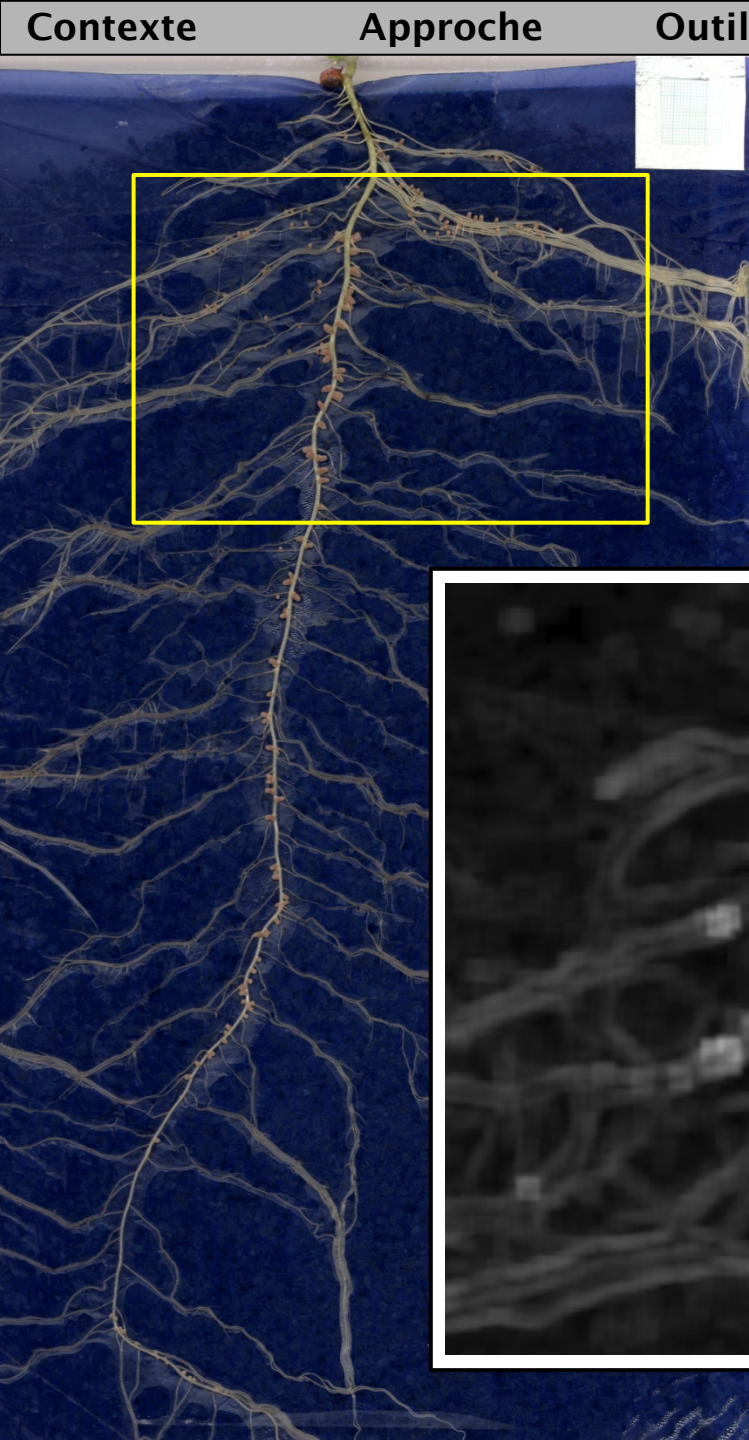



Vigne	
Légumineuses	

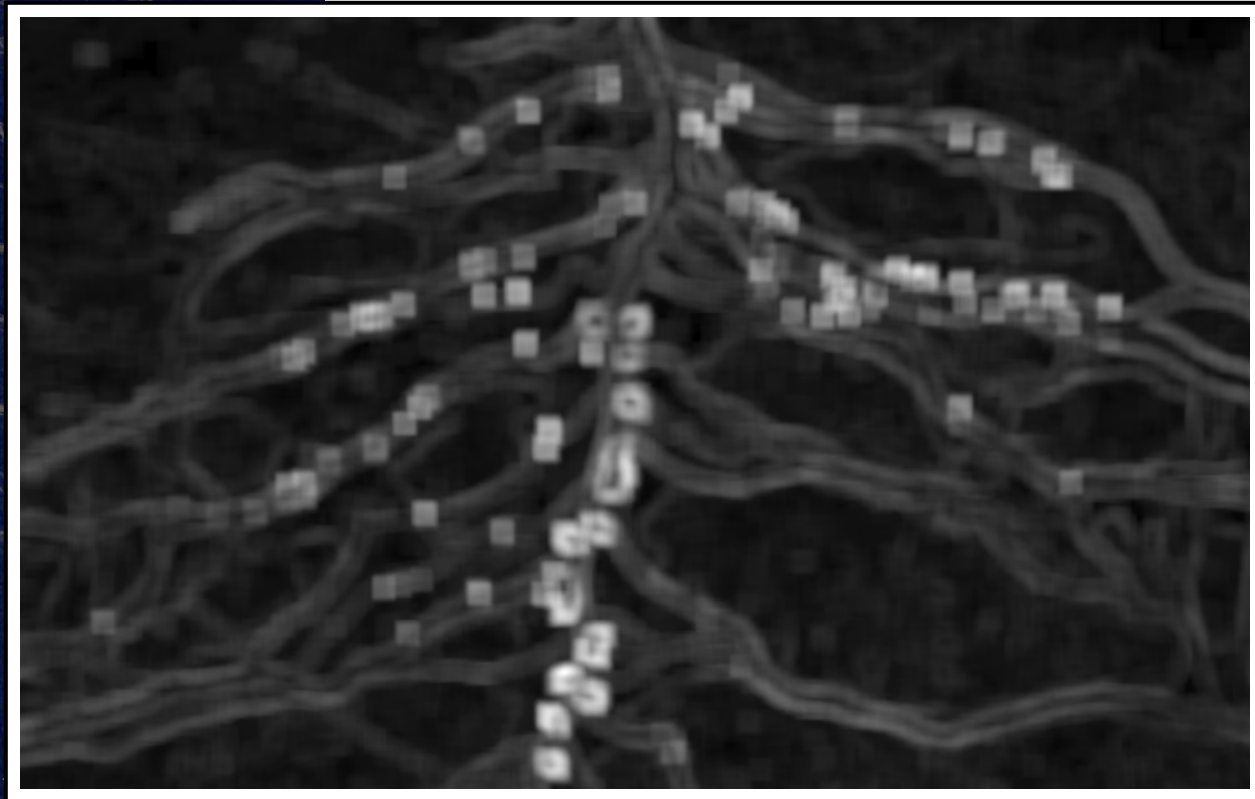
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

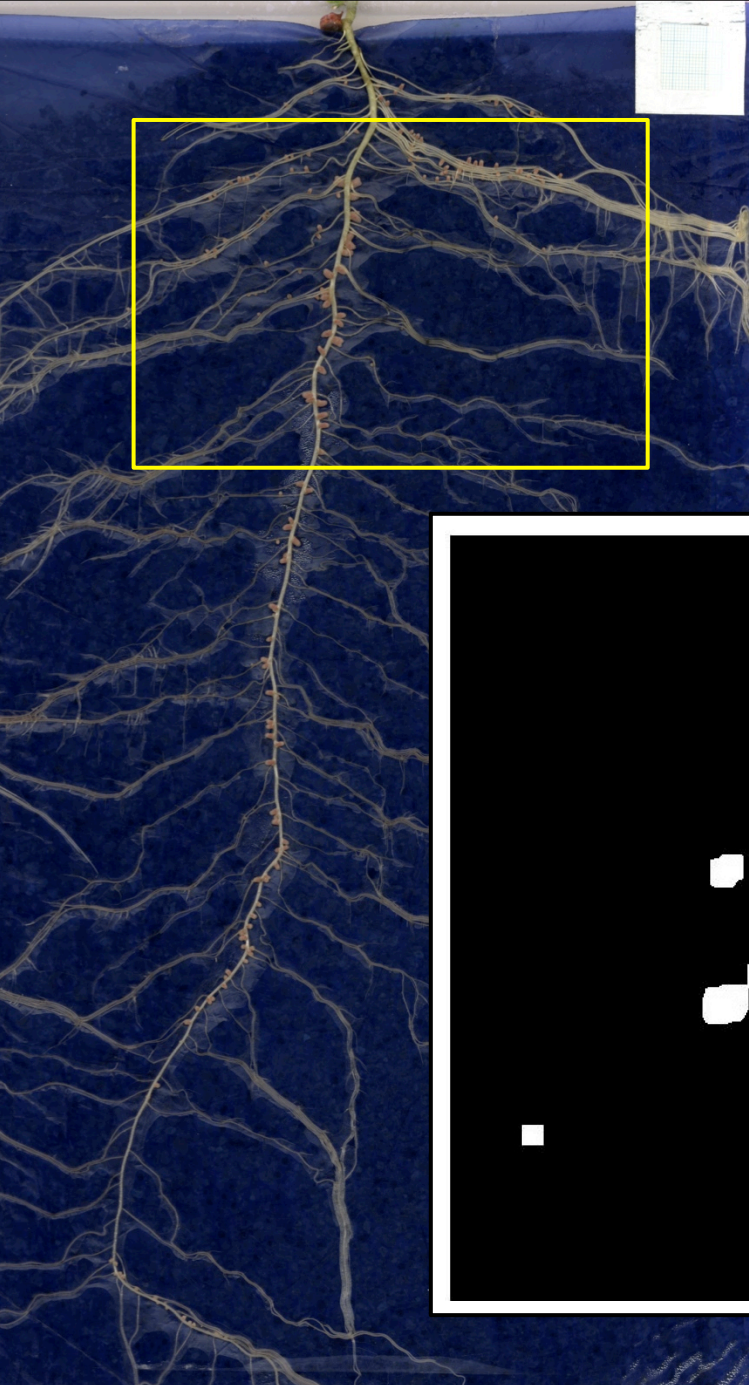
Image RVB de nodosités



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

Bande d'image RVB

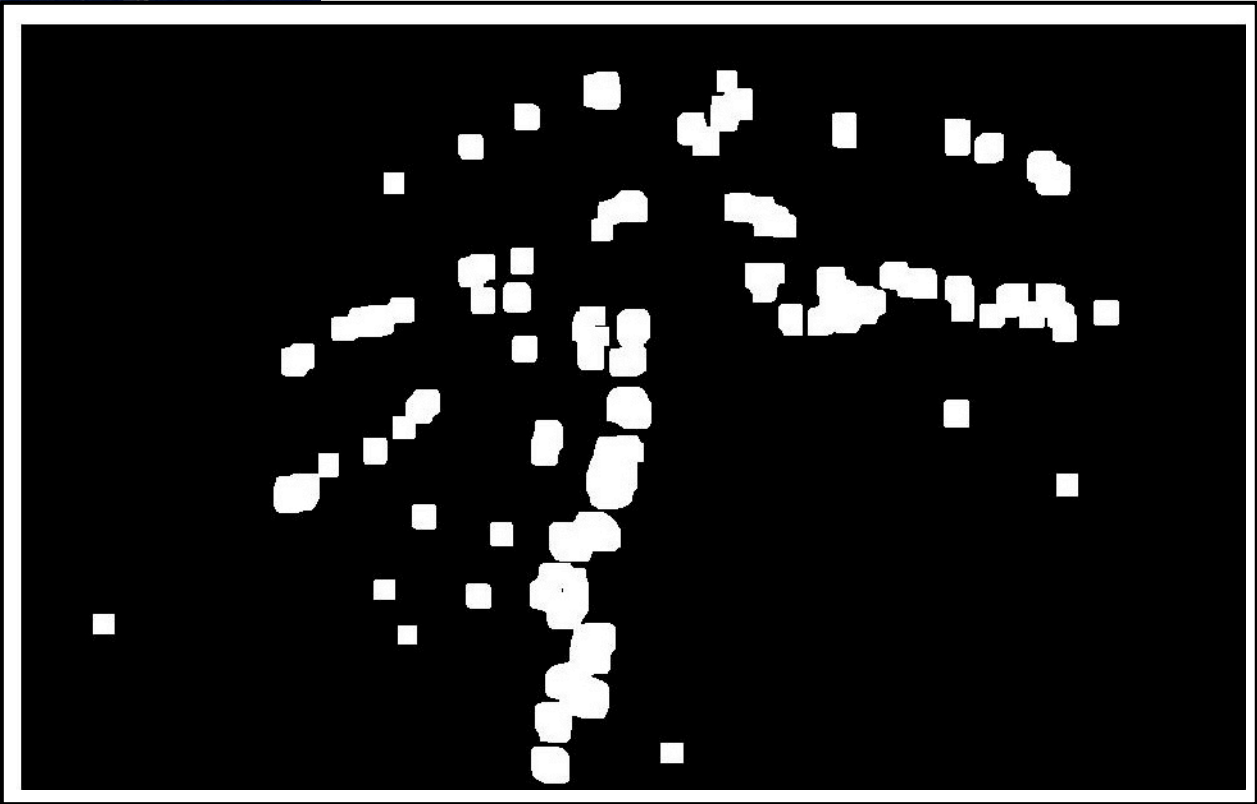




Vigne	
Légumineuses	

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

Image avec nodosités



Vigne

Légumineuses

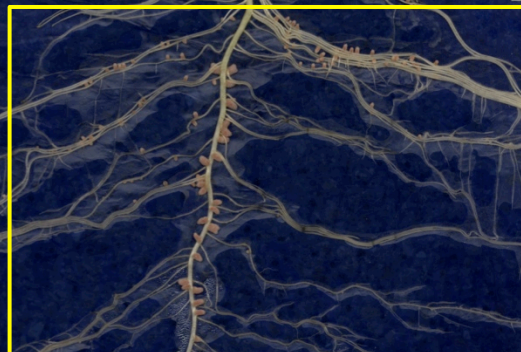
Objectifs

Diversité Génét.

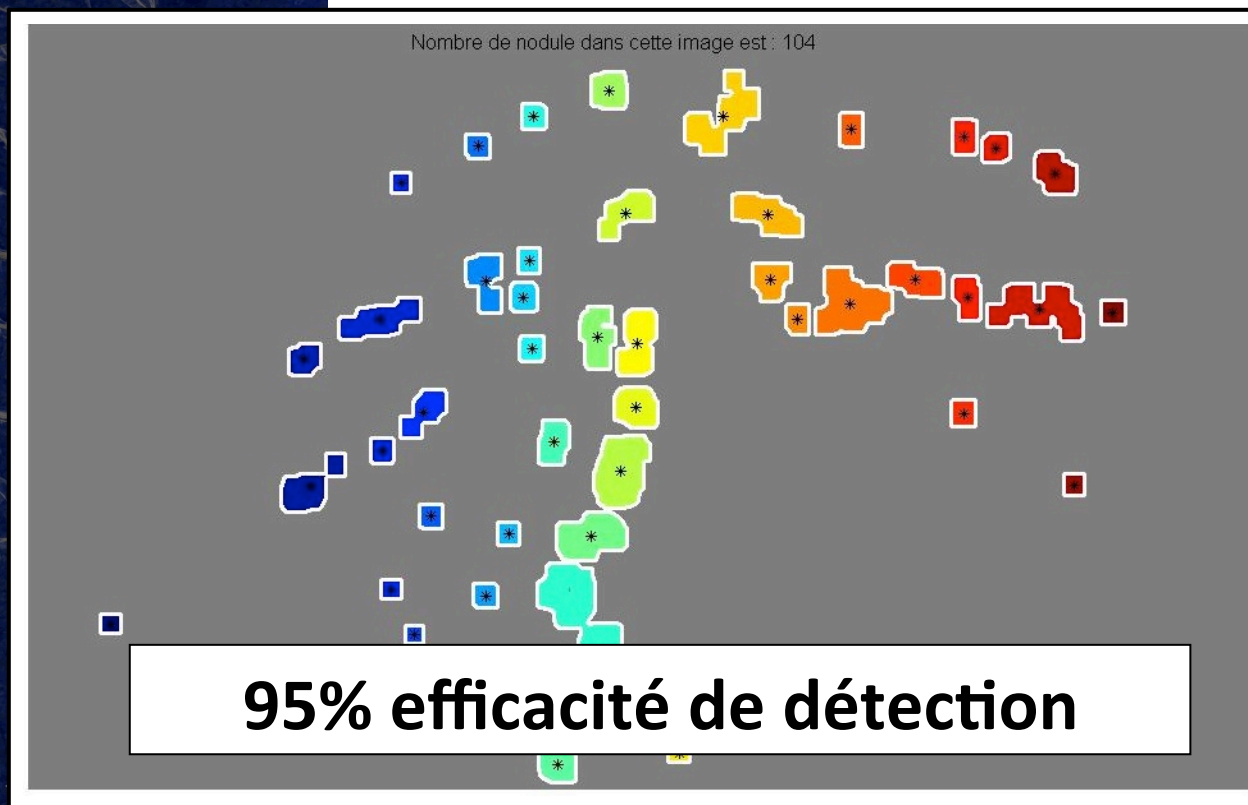
Ident. Strategies

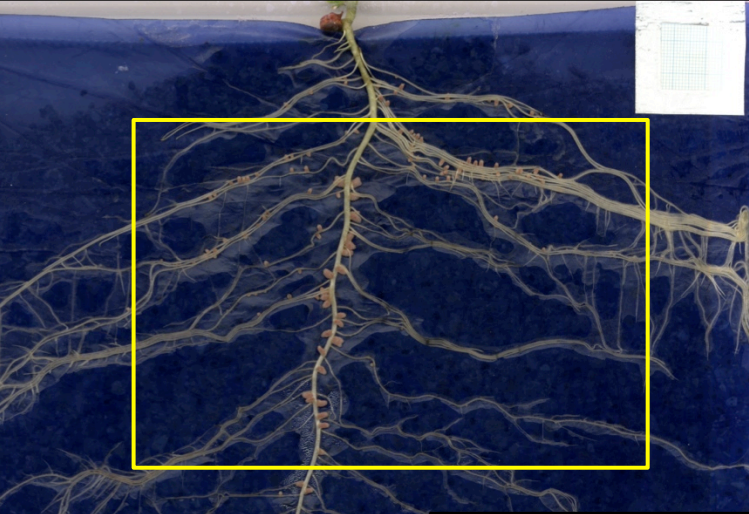
Traitements Image

Et ensuite ?



Nodosités détectées automatiquement

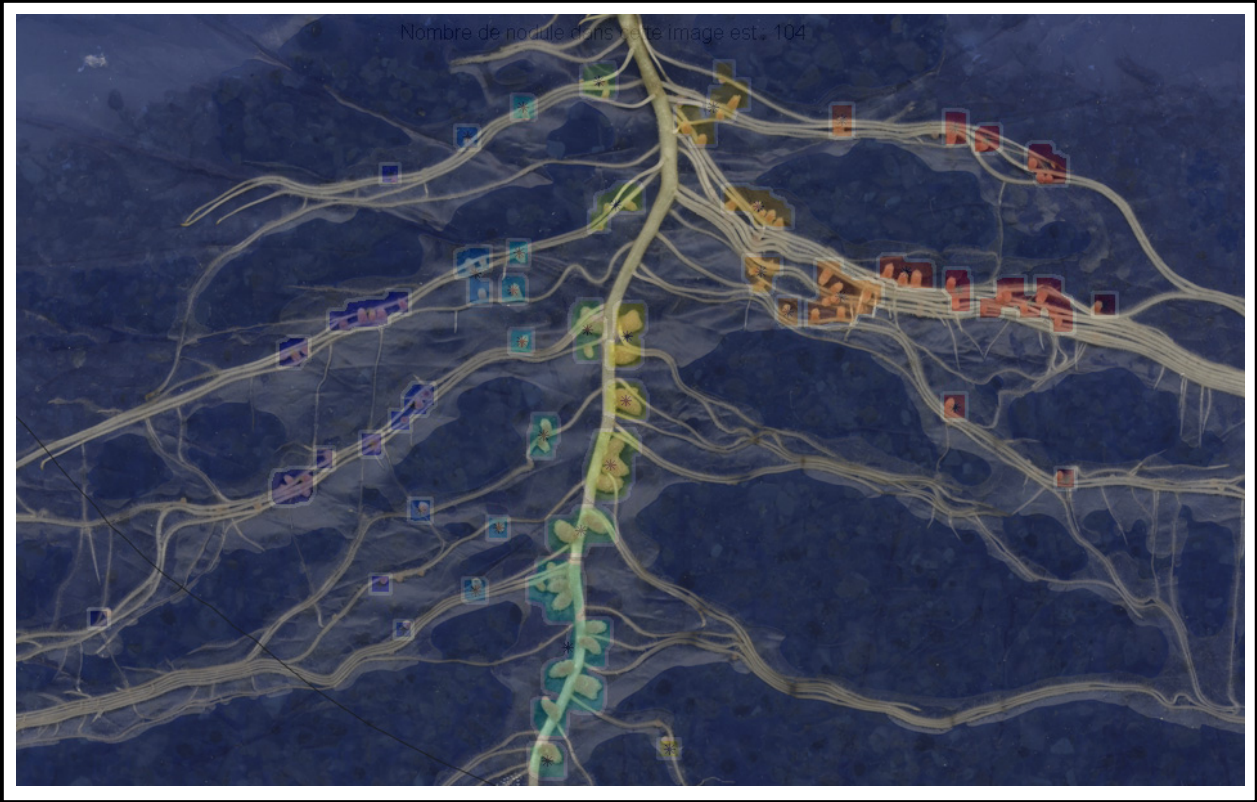




Vigne	
Légumineuses	

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

Image originale + nodosités superposées

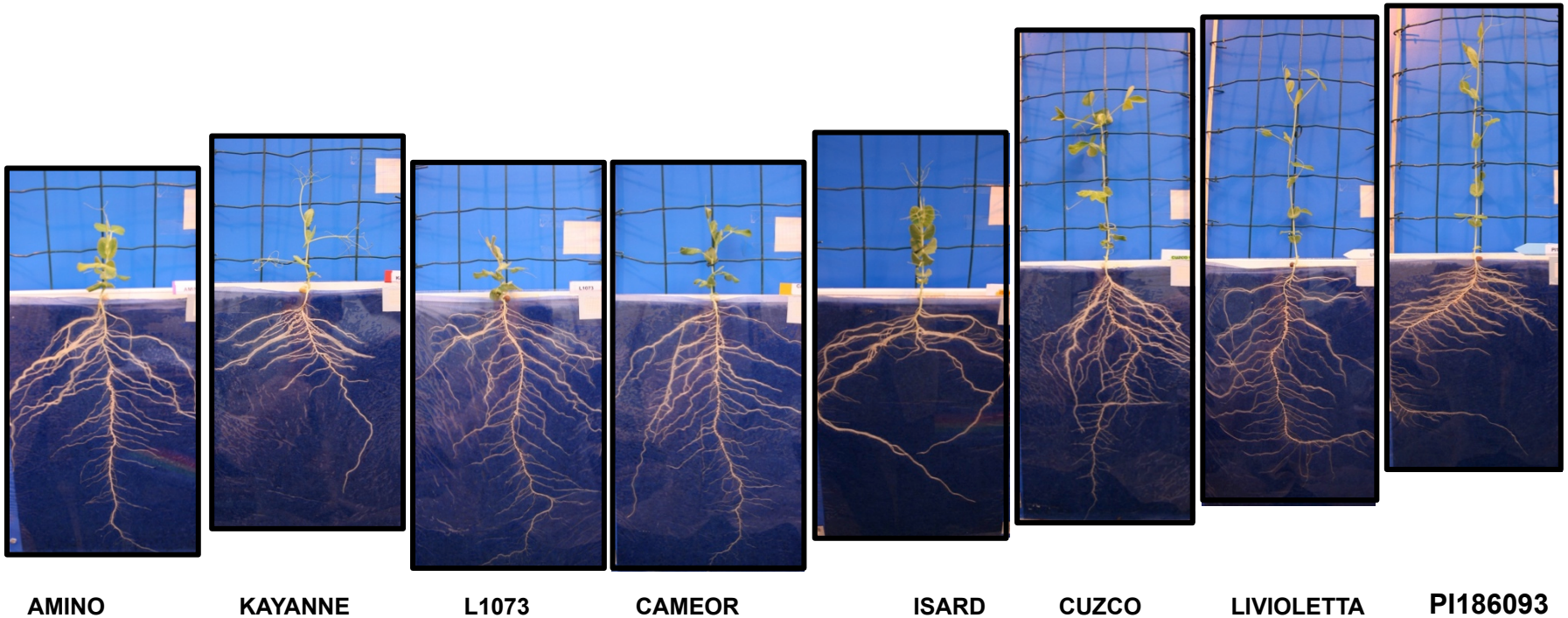


Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
----------	----------	--------	----------	---------	------------

Vigne
Légumineuses

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

Explorer la variabilité génétique intraspécifique : Pea core collection



Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

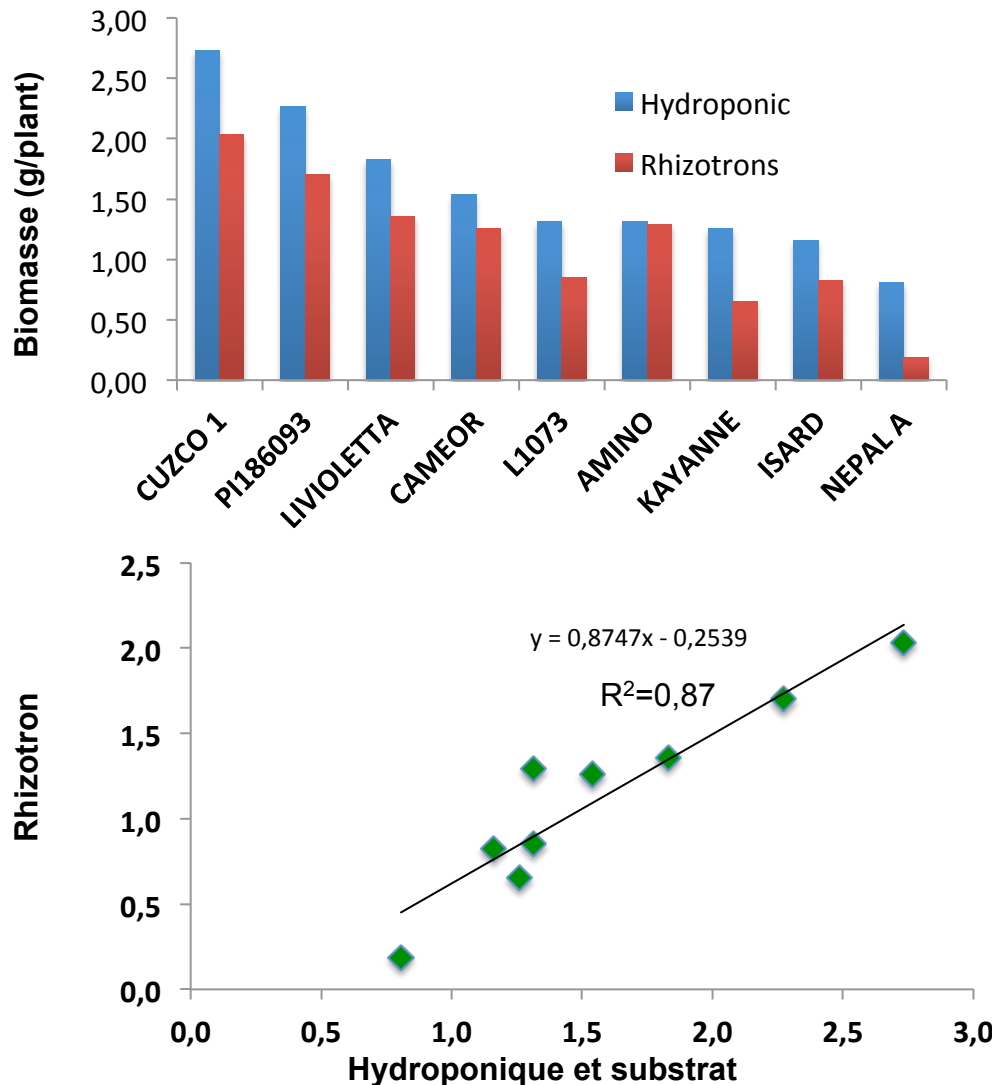
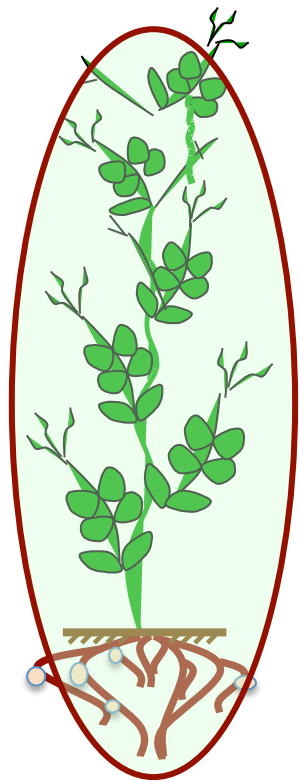
Ident. Strategies

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

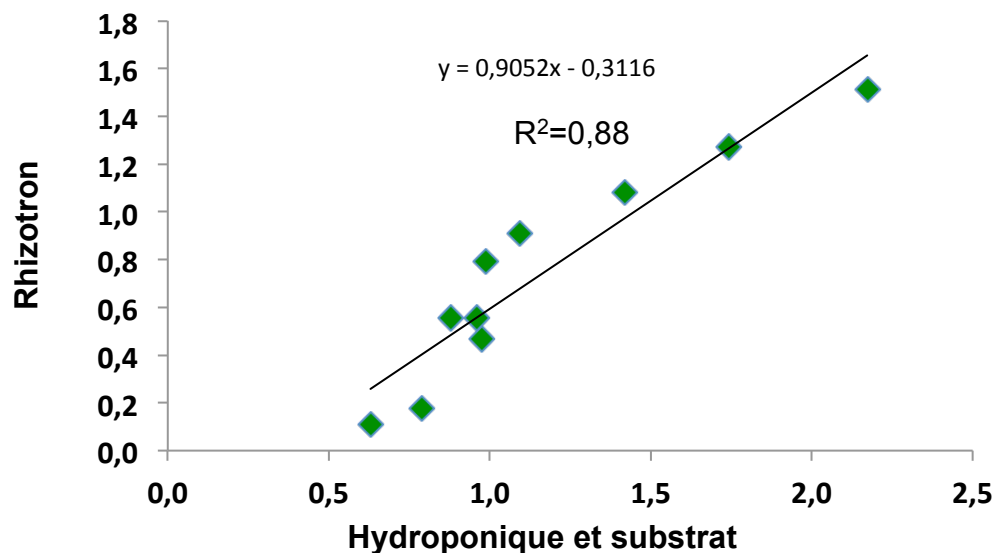
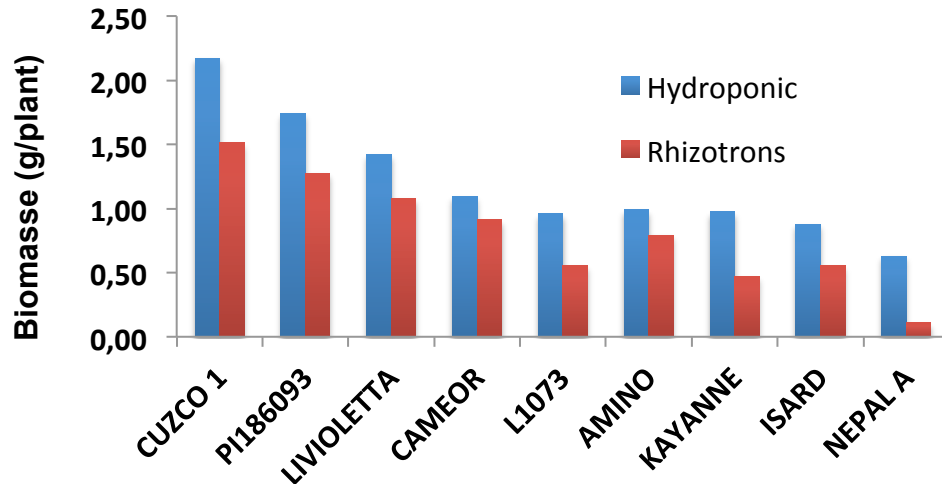
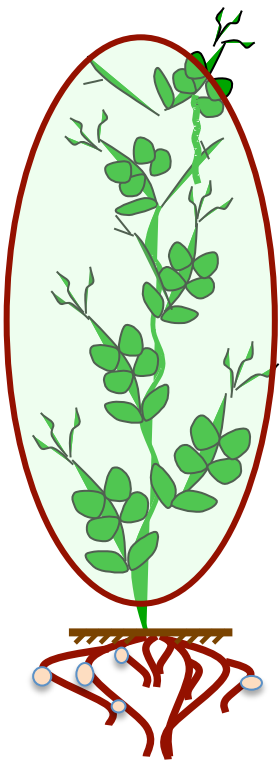
Traitements Image

Et ensuite ?

Classement de génotypes: Pea core collection

Hydroponique versus rhizotron

Biomasse
aérienne



*Le classement
des génotypes
ne varie pas*

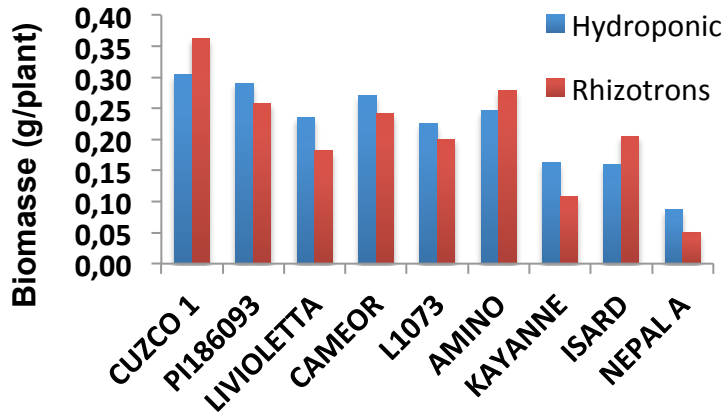
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
----------	----------	--------	----------	---------	------------

Vigne
Légumineuses

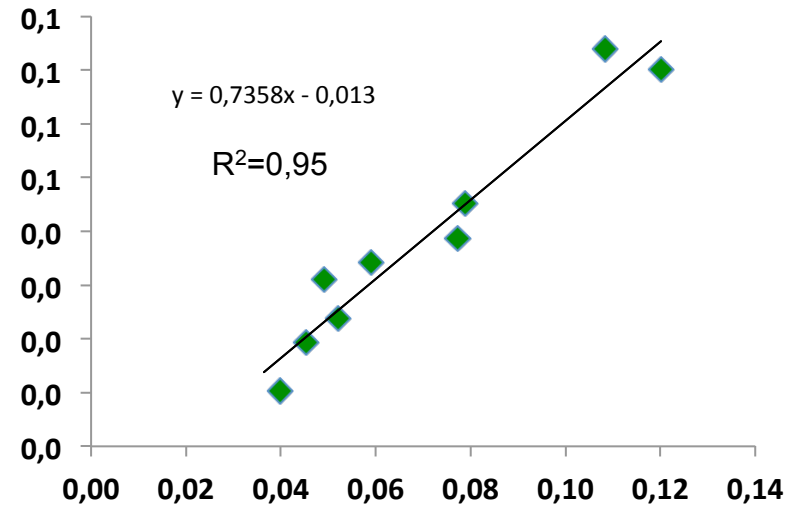
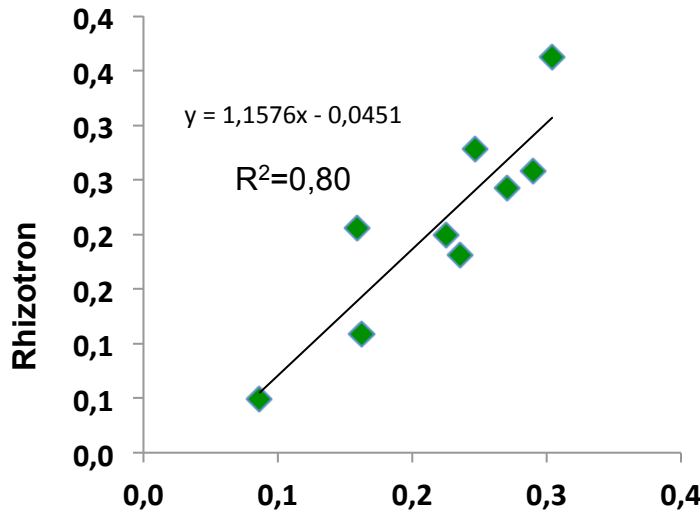
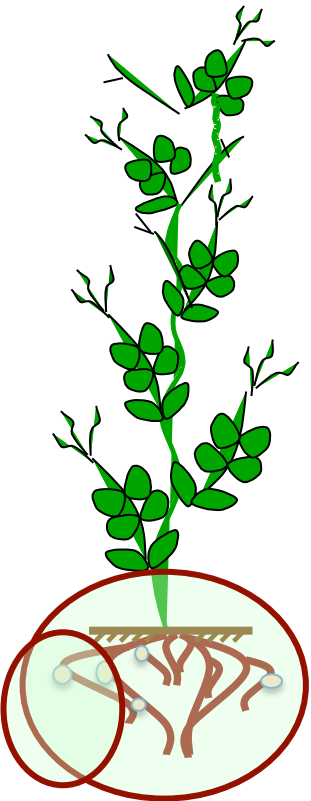
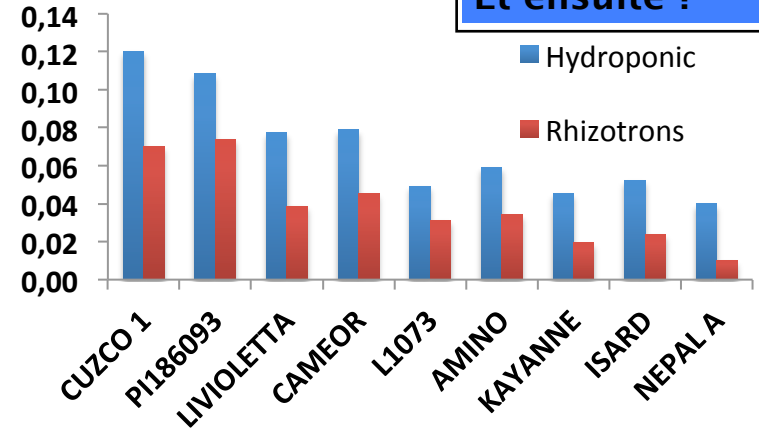
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

Classement de génotypes: Pea core collection

Biomasse racinaires



Biomasse nodosités



Hydroponique et substrat

Vigne

Légumineuses

Objectifs

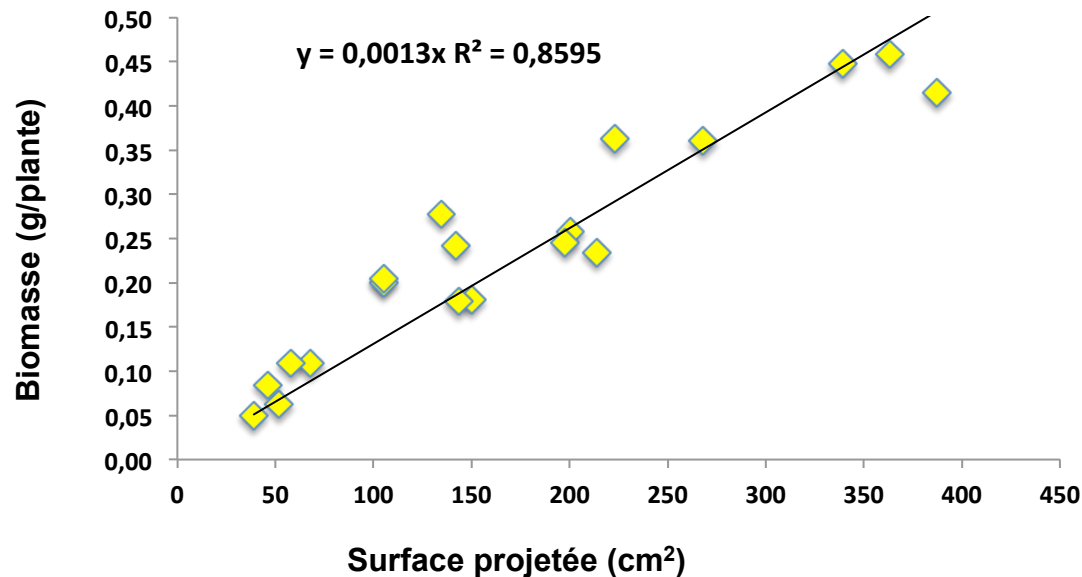
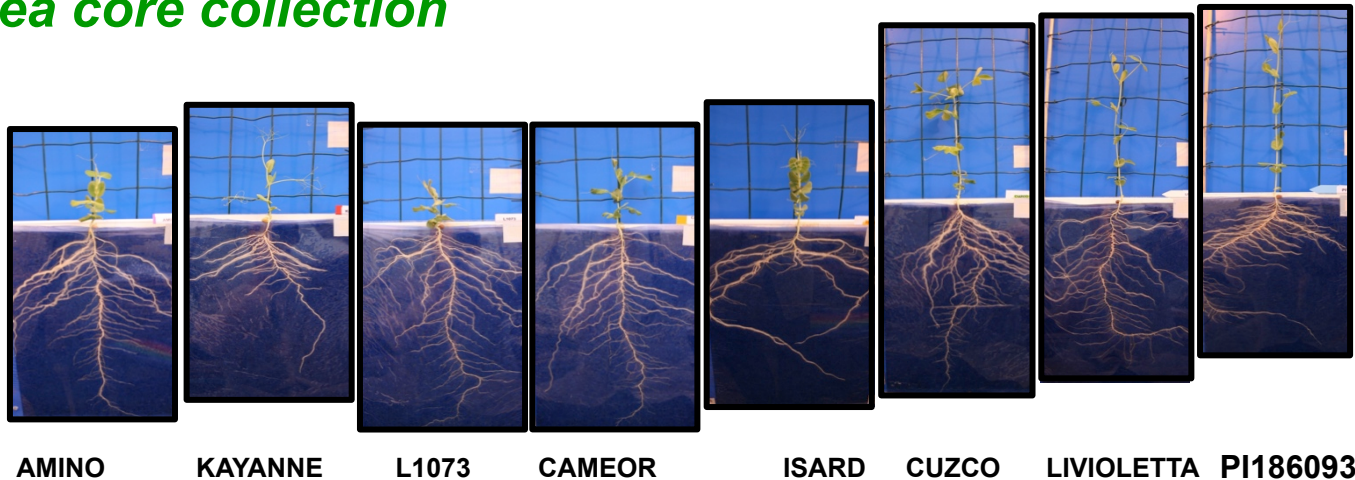
Diversité Génét.

Ident. Strategies

Traitements Image

Et ensuite ?

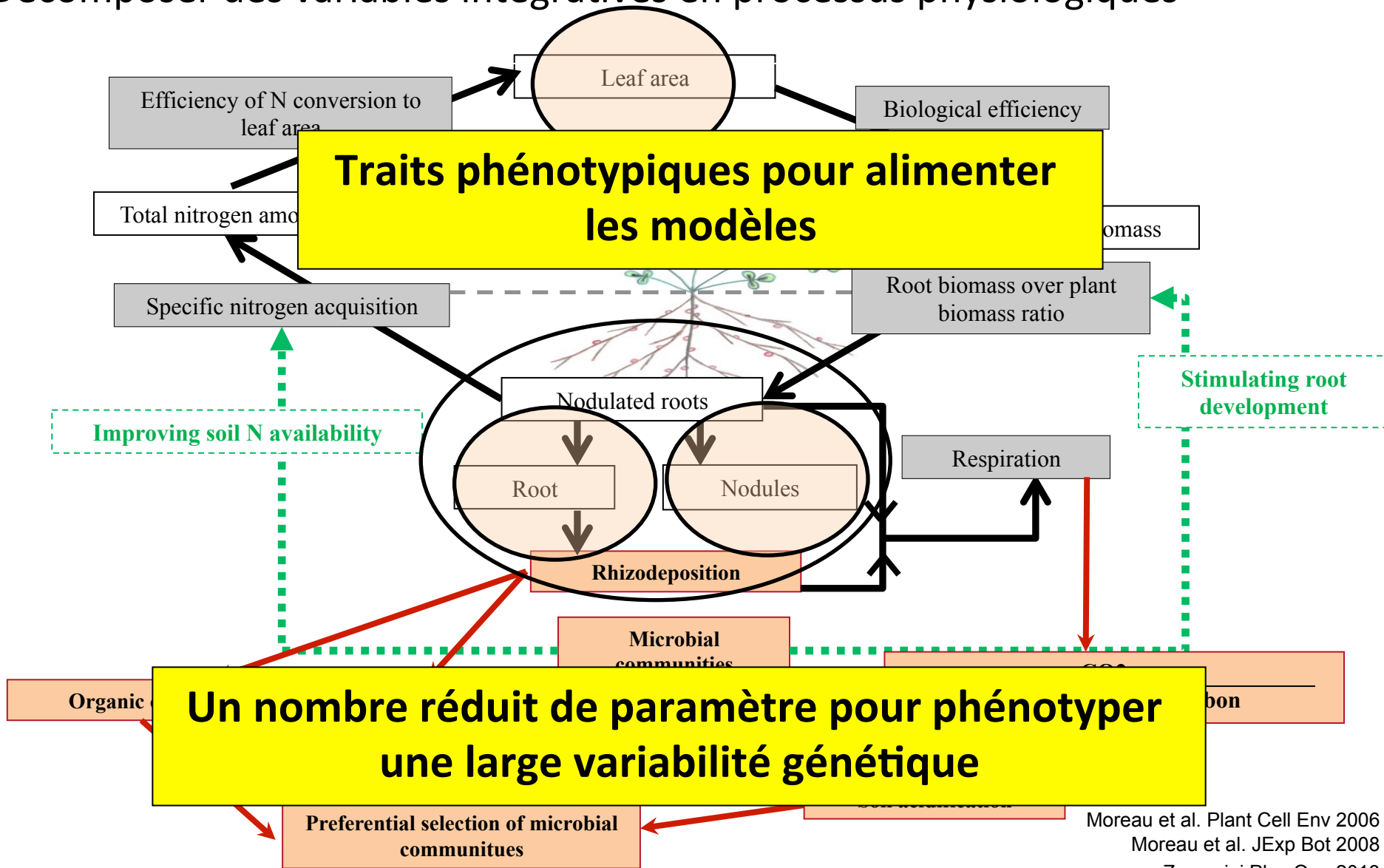
Explorer la variabilité génétique intraspécifique : Pea core collection



*Estimer la
biomasse de
manière non
destructive*

Modèle Intégratif: *Medicago*

Décomposer des variables intégratives en processus physiologiques

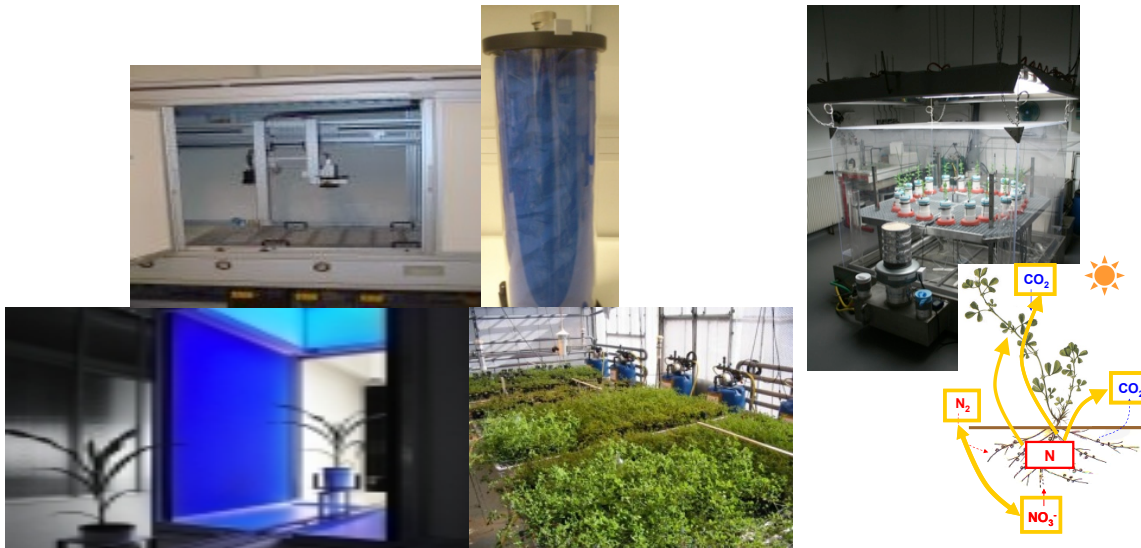


Food for thoughts... Combiner les approches

Phénotypage



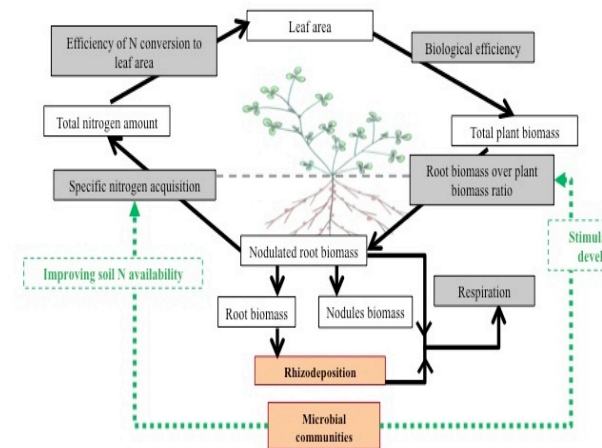
Approche analytique



Identifier des différences
entre génotypes



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



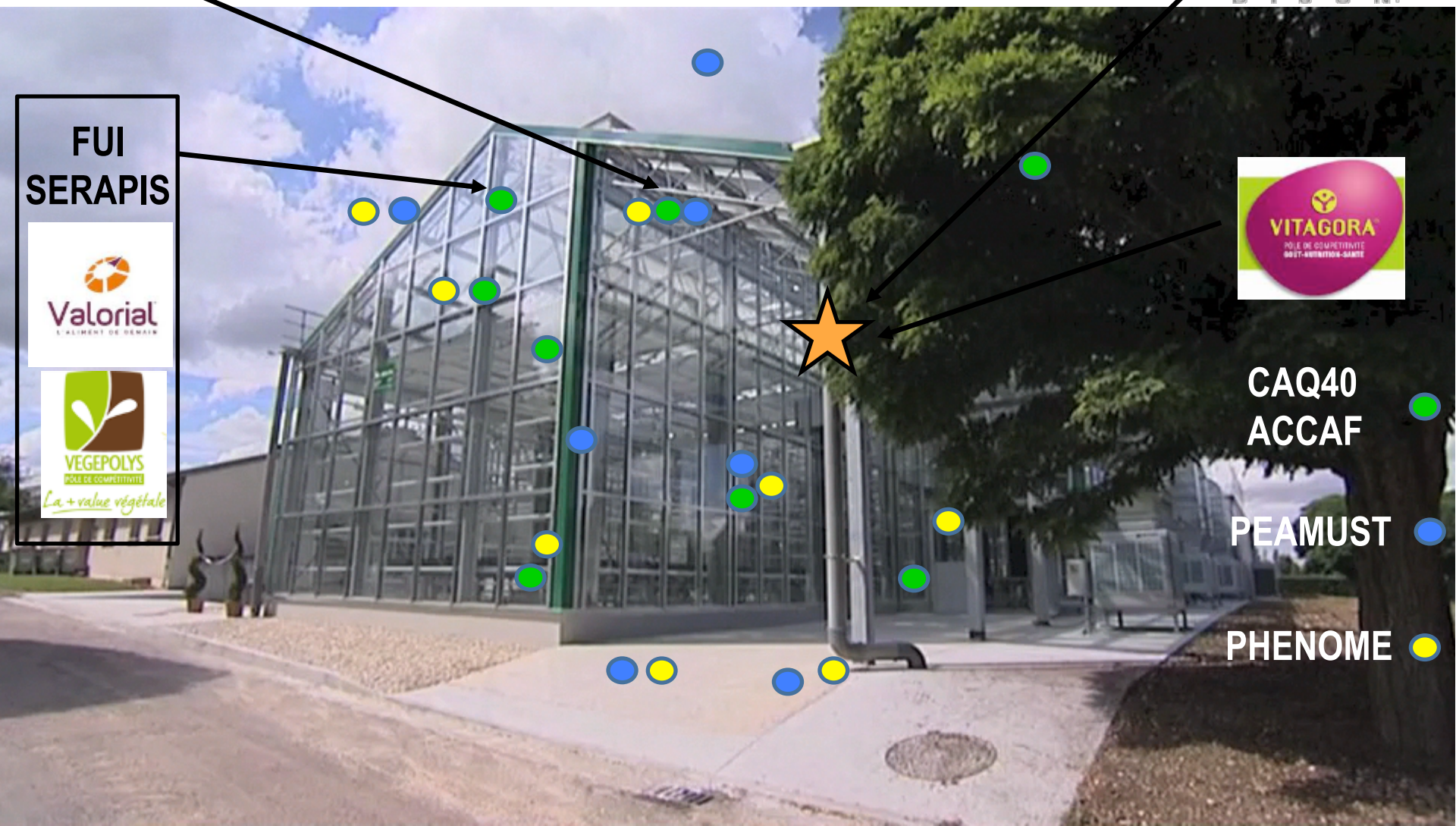
FUI
SERAPIS






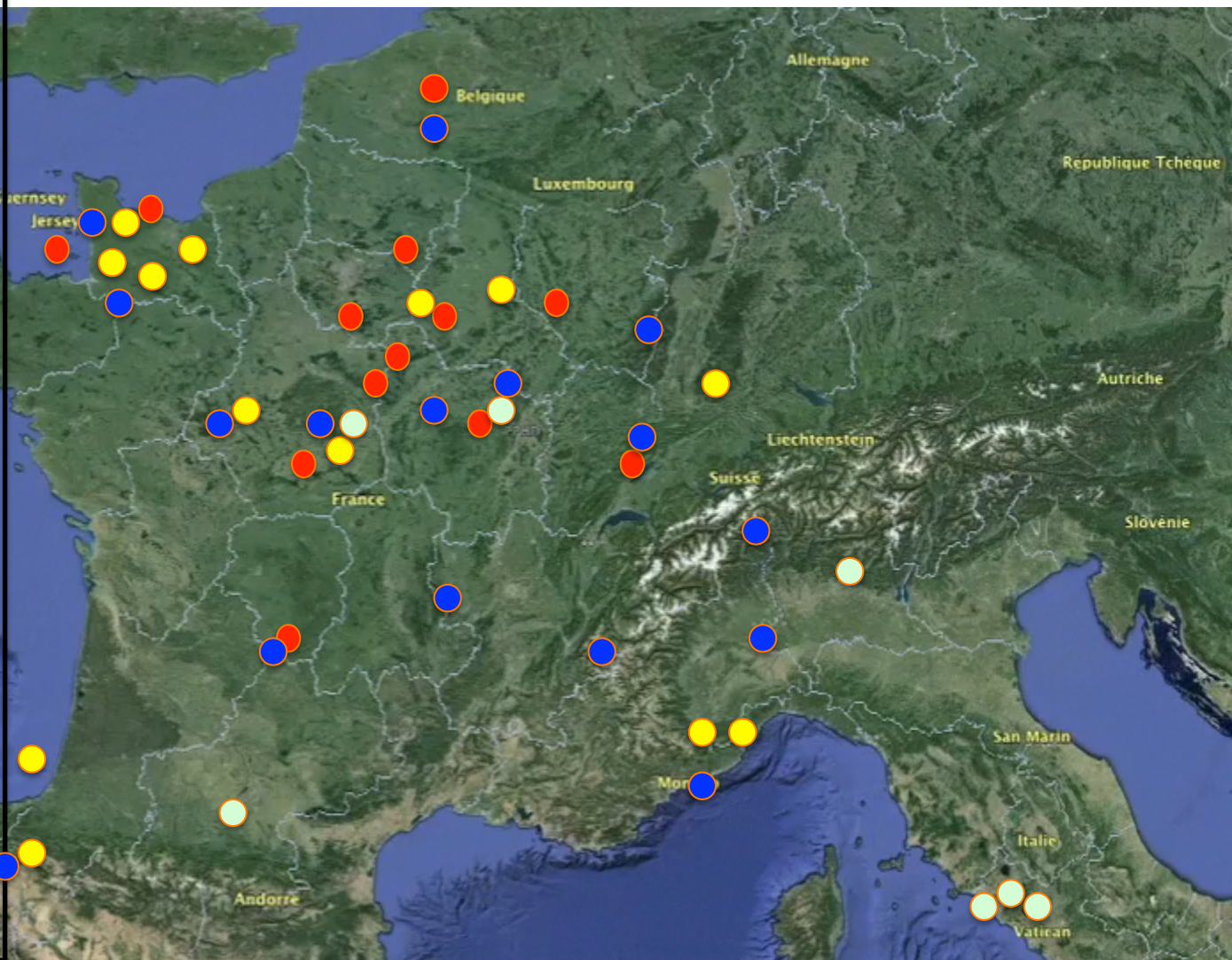


CAQ40
ACCAF

PEAMUST

PHENOME



Distribution...

Christian JEUDY



Céline BERNARD



Frédéric COINTAULT



Simeng HAN



Marielle ADRIAN





Ecophysiology team

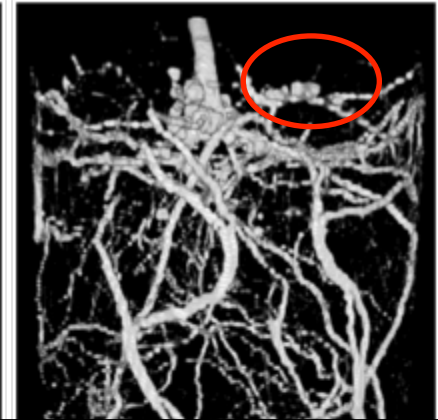
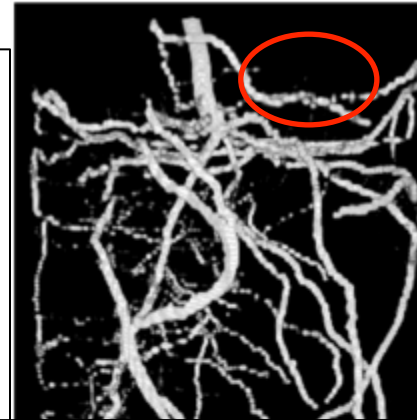


Medicago truncatula team



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

