



**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. Journée Scientifique de la Plate-Forme BIBS, Plateforme Génomique Santé Biogenouest®. FRA., Jan 2014, Nantes, France. hal-02795598

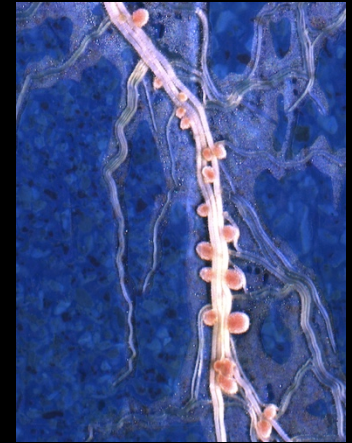
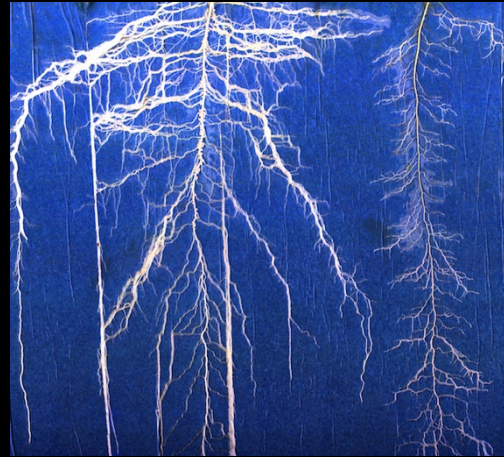
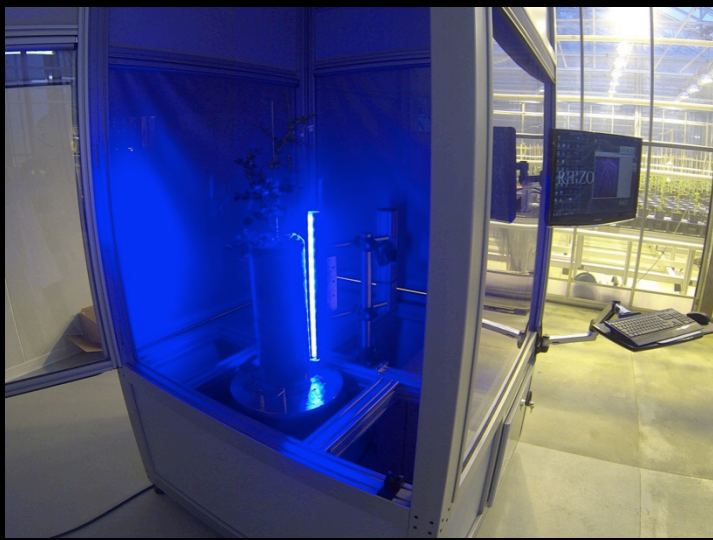
**HAL Id: hal-02795598**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02795598v1>**

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.






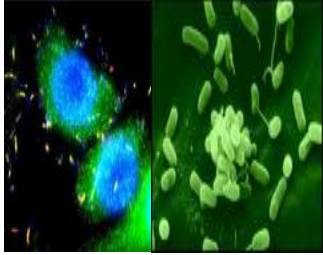
# Phénotypage haut débit des interactions entre plantes et micro-organismes : exemple des légumineuses

**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**

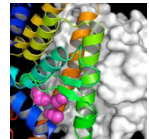


**Variabilité génétique**



**Conception d'Idéotypes de plantes**

**Mécanismes et bases moléculaires**



Fluxomique
PPHD
Rhizotrons
Rhizobox

### Dispositifs de culture

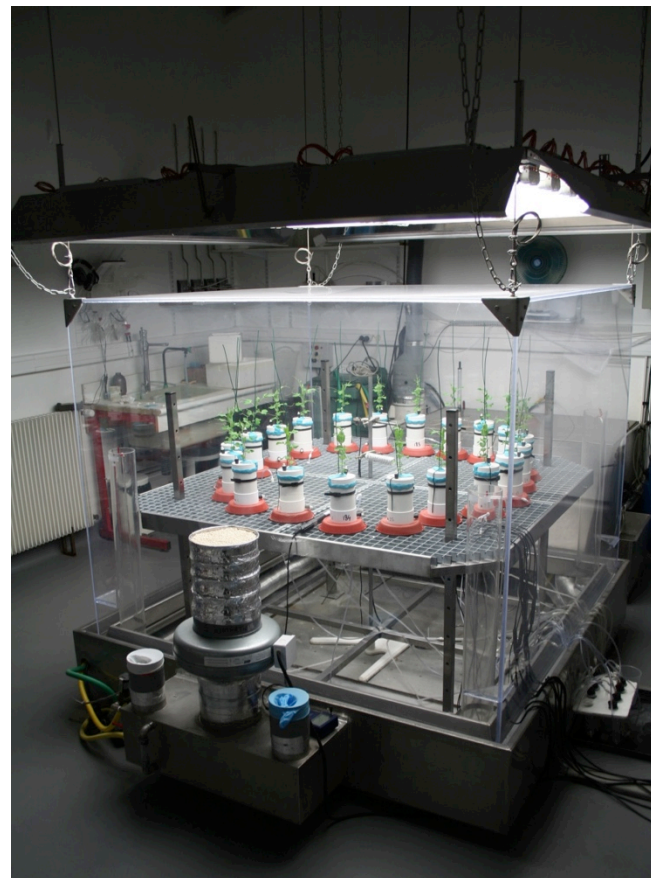


Poches, hydroponique



Split root isotopique N<sub>2</sub>

### Mesures des C, N, S



Chambre de marquage  
<sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N/<sup>34</sup>S

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+110m<sup>2</sup>),**  
**Chambres climatiques (80m<sup>2</sup>)**  
**Robots et caméras technologie « Lemnatec »**

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

Fluxomique
<b>PPHD</b>
Rhizotrons
Rhizobox


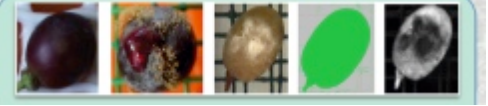
Equipements
<b>Shoot roots etc...</b>
Comme au cinéma..

**Architecture aérienne**





20 unités/h


**Organes (graines...)**


**Petites plantes**



**Germination**





6 unités/h

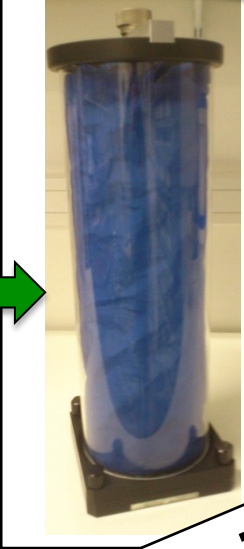


**Plantes des agrosystèmes**

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





Fluxomique  
PPHD  
Rhizotrons  
Rhizobox

Rhizotrons  
Brevet EU INRA-  
Inoviaflow, 1300 unités

Brushless motor

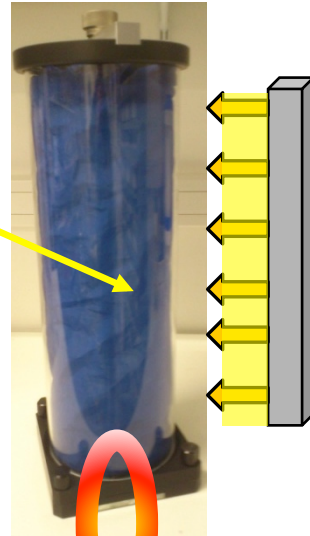
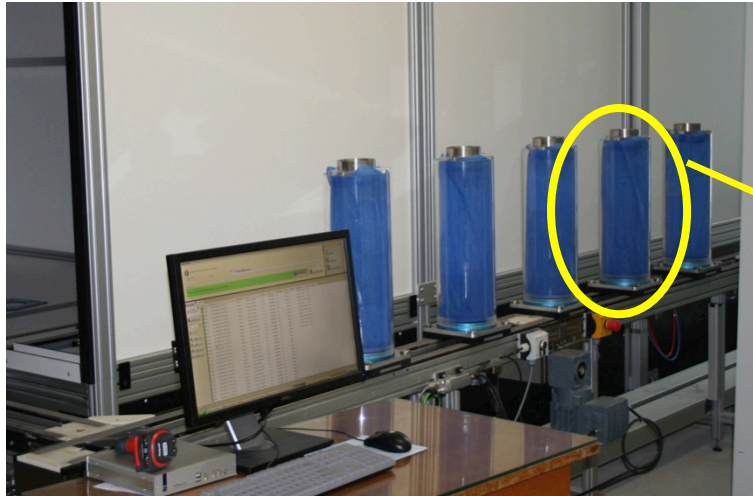
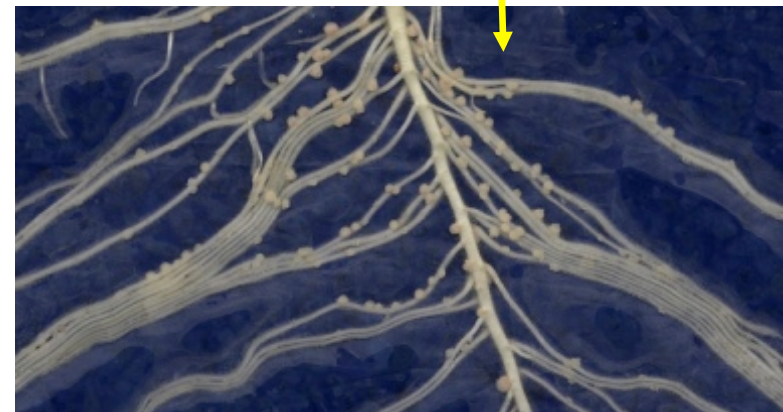


Image RVB



Haute résolution

Traits phénotypiques:

projected root area

projected nodule area

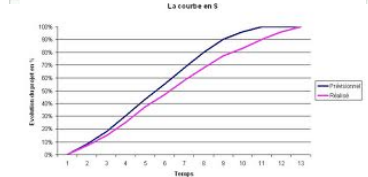
total nodule number

nodule size classification

total root length....

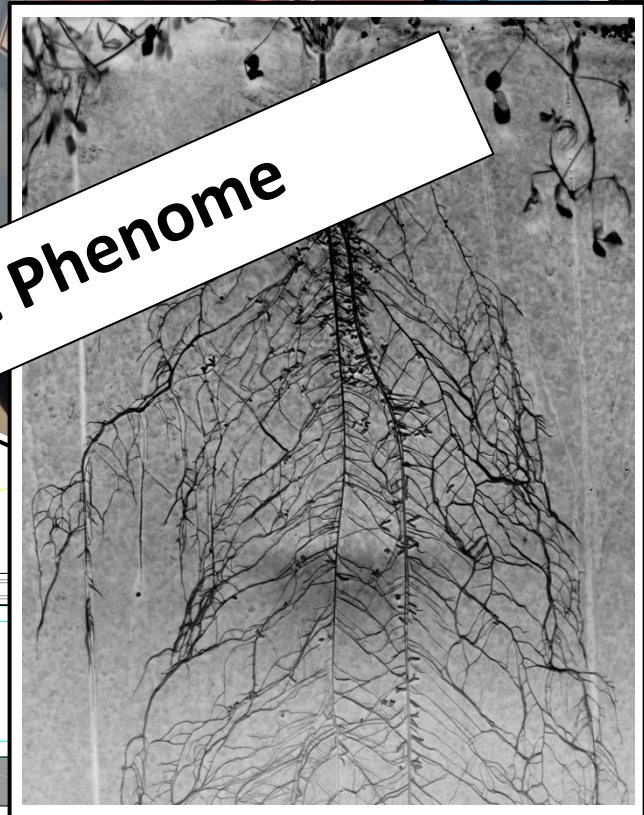
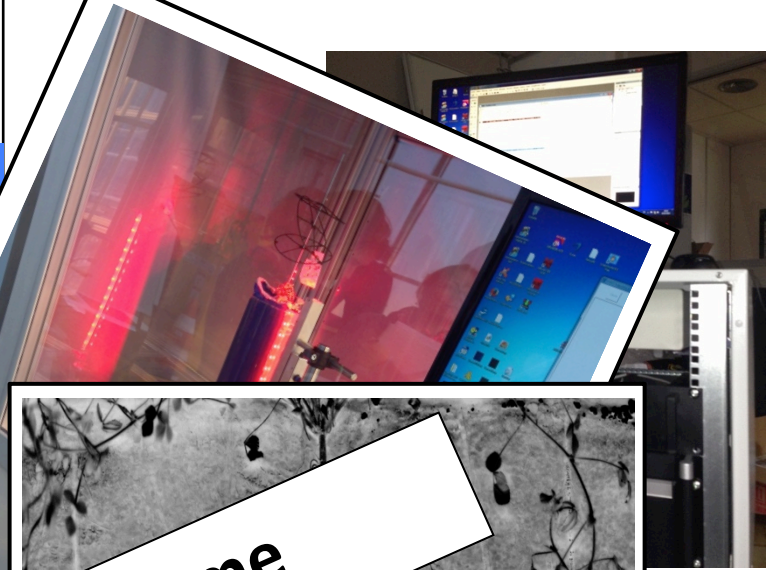
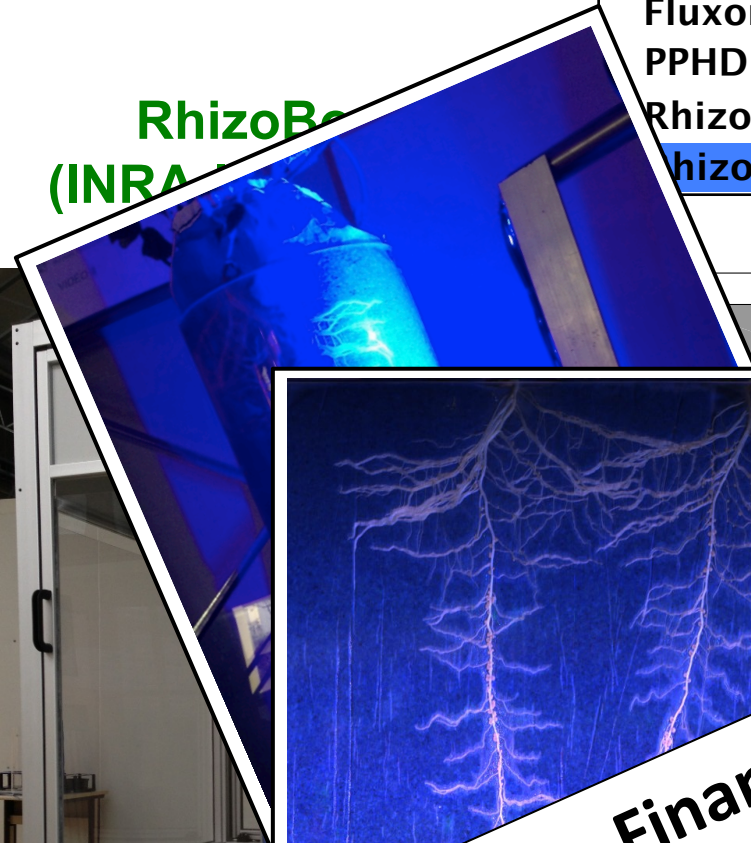


Table with columns: N°, Classe, Nom, #F, #F, #F, Evénuelog, T (°C), #P, #M, Mesure 1, Mesure 2, Mesure 3, Mesure 4. The table contains multiple rows of experimental data.



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

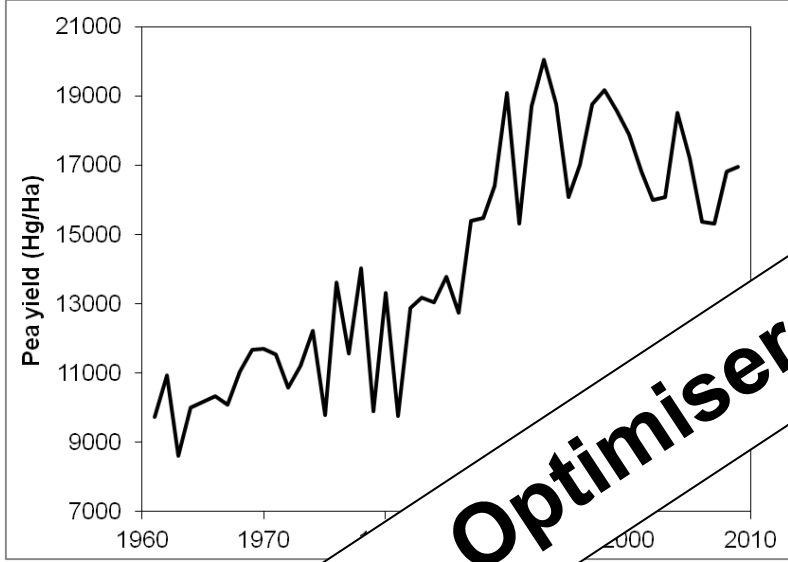
RhizoBox  
(INRA)



**Financement Phenome**

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

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



Mais...

Rendement en 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)

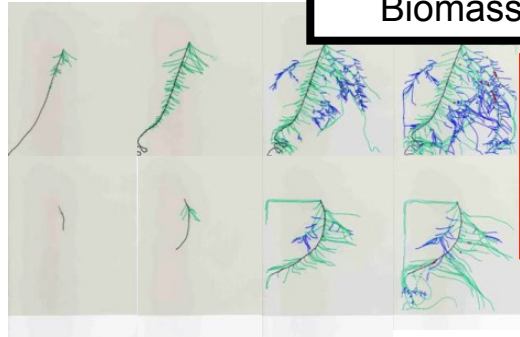
## STRUCTURE



**Parties aériennes :**  
 Hauteur  
 Biomasse  
 Surface foliaire

**Racines:**  
 Nombre  
 Longueur  
 Biomasse

**Nodosités:**  
 Nombre  
 Surface  
 Biomasse



## FONCTION

Efficienc  
 d'acquisition de C



Efficienc  
 d'acquisition de N



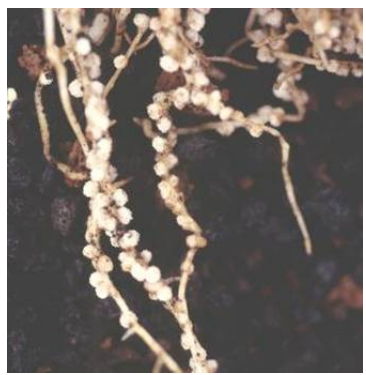
Bourion et al. TAG 2010

# Variabilité génétique induite

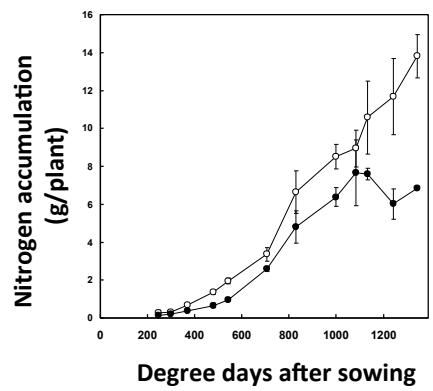
Identifier/caractériser les gènes impliqués dans la nodulation, et l'architecture racinaire

## Développement des nodosités

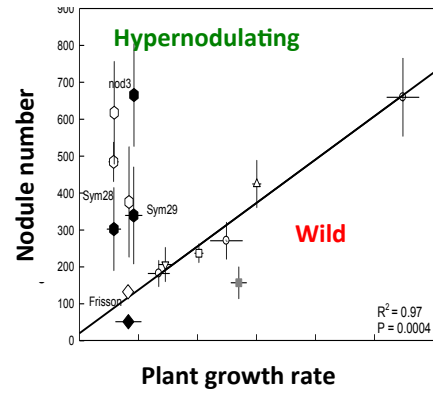
## Architecture racinaire



Duc et al. 1998  
Cazenave et al. Plant Soil 2013

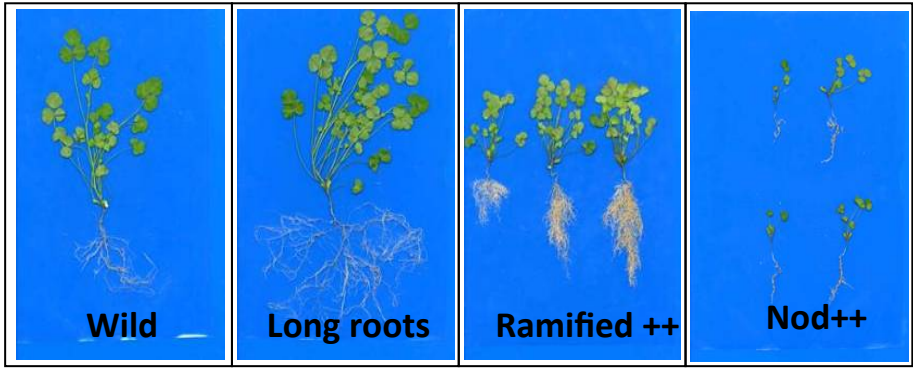


Salon et al. Agr 2001



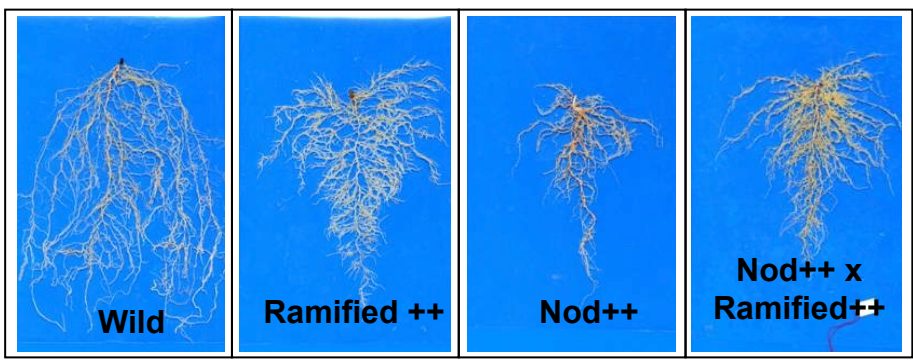
Voisin et al. Plant Soil 2010

### Medicago truncatula, Tnt1



Porceddu et al. BioMed 2008

### Pea, EMS



Coll. KK Sidorova

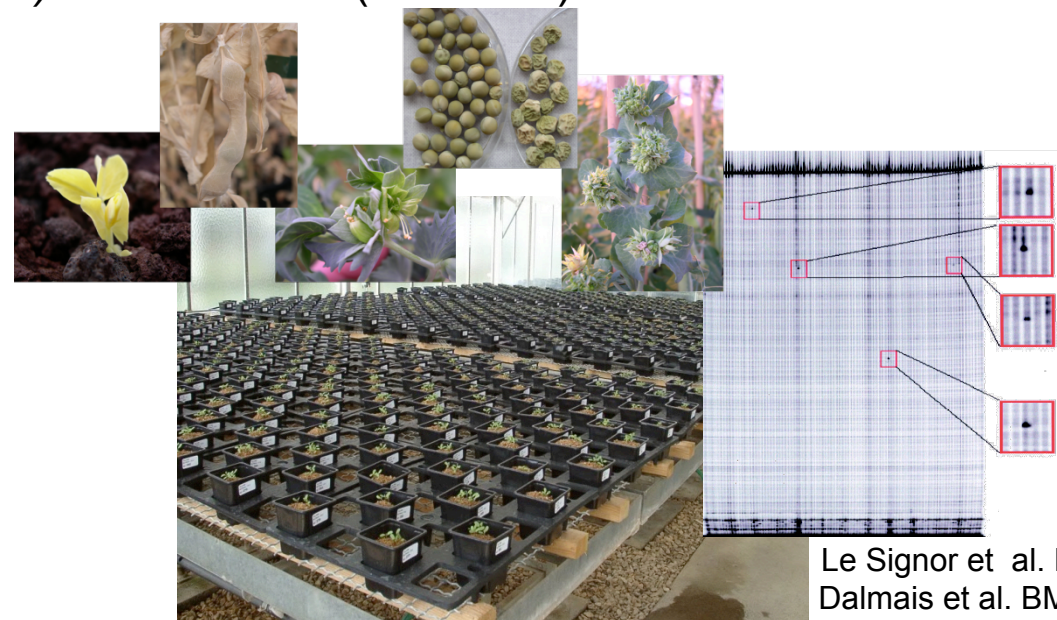
Vigne
Légumineuses

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](mailto: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**

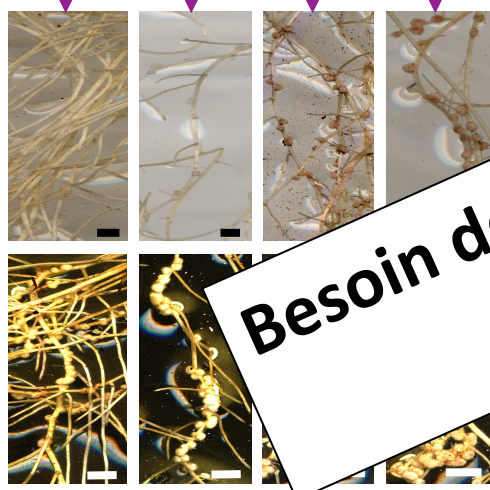
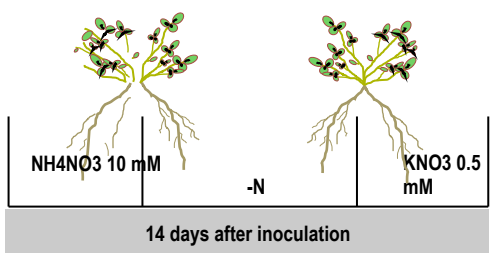


Vigne
Légumineuses

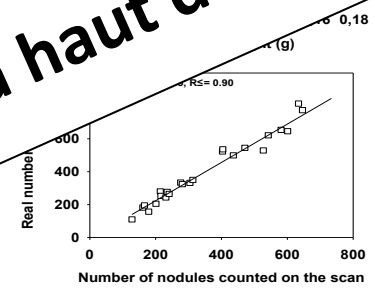
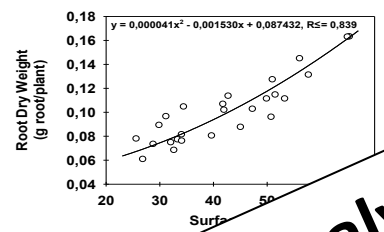
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?

# 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**

Vigne

Légumineuses

Objectifs

Diversité Génét.

Ident. Strategies

Traitements Image

Et ensuite ?

# Surface projetée de racine

*Thèse Simeng Han*

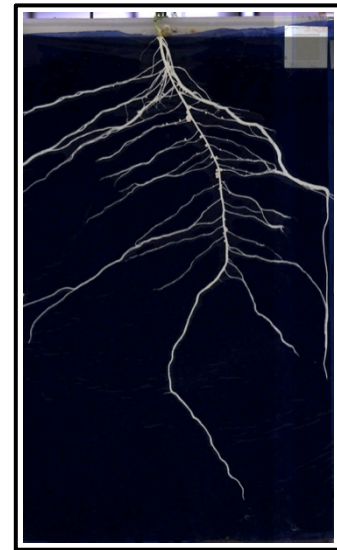
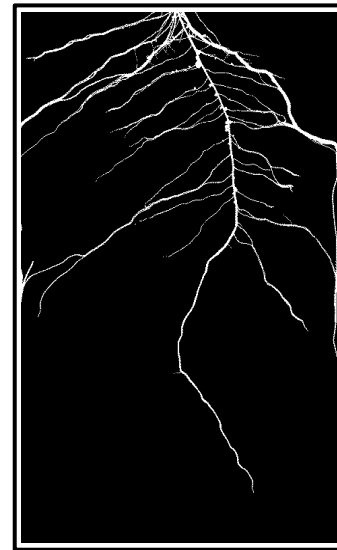
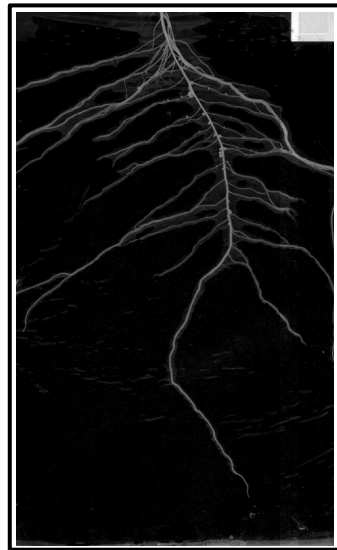
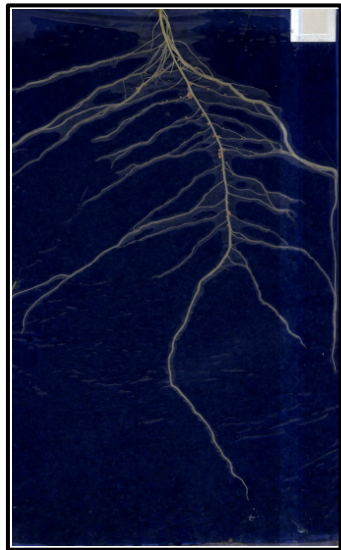


Image origine  
(A)

Meilleure bande

Image binaire  
(B)

Superposition  
(B/A)

# Longueur de racines

*Thèse Simeng Han*

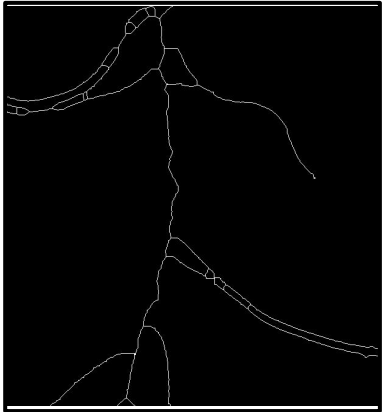
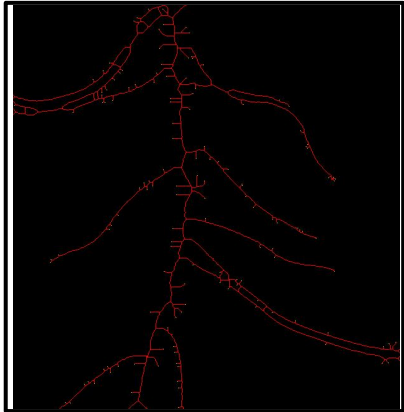
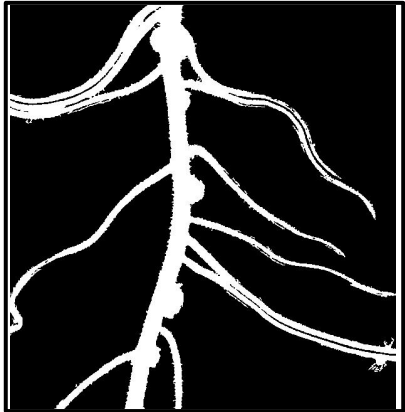
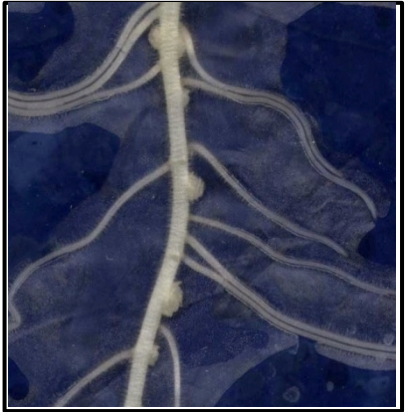


Image origine

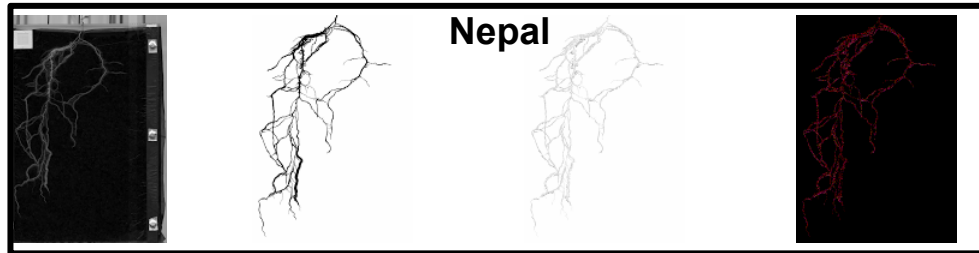
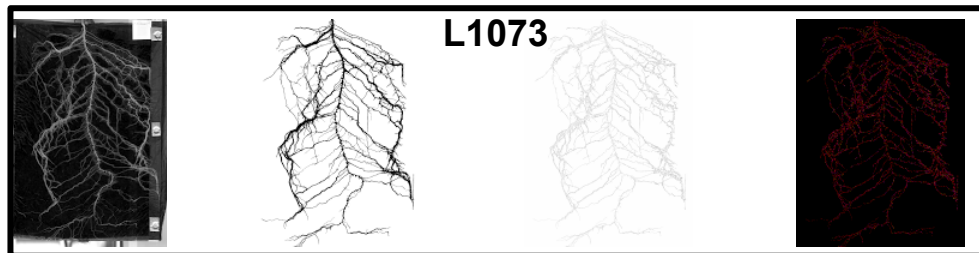
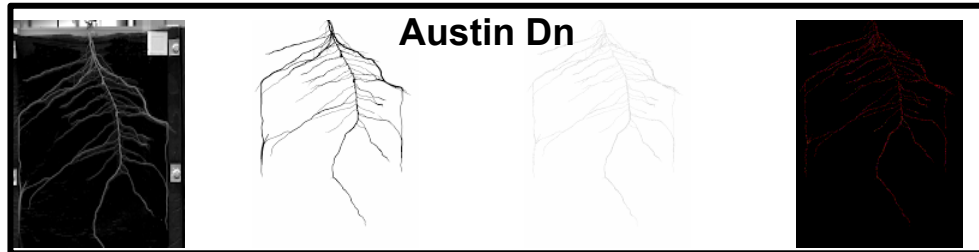
Binarisation

Squelettisation

Connectivité

# Résultats sur 4 images

*Thèse Simeng Han*



Vigne  
Légumineuses

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

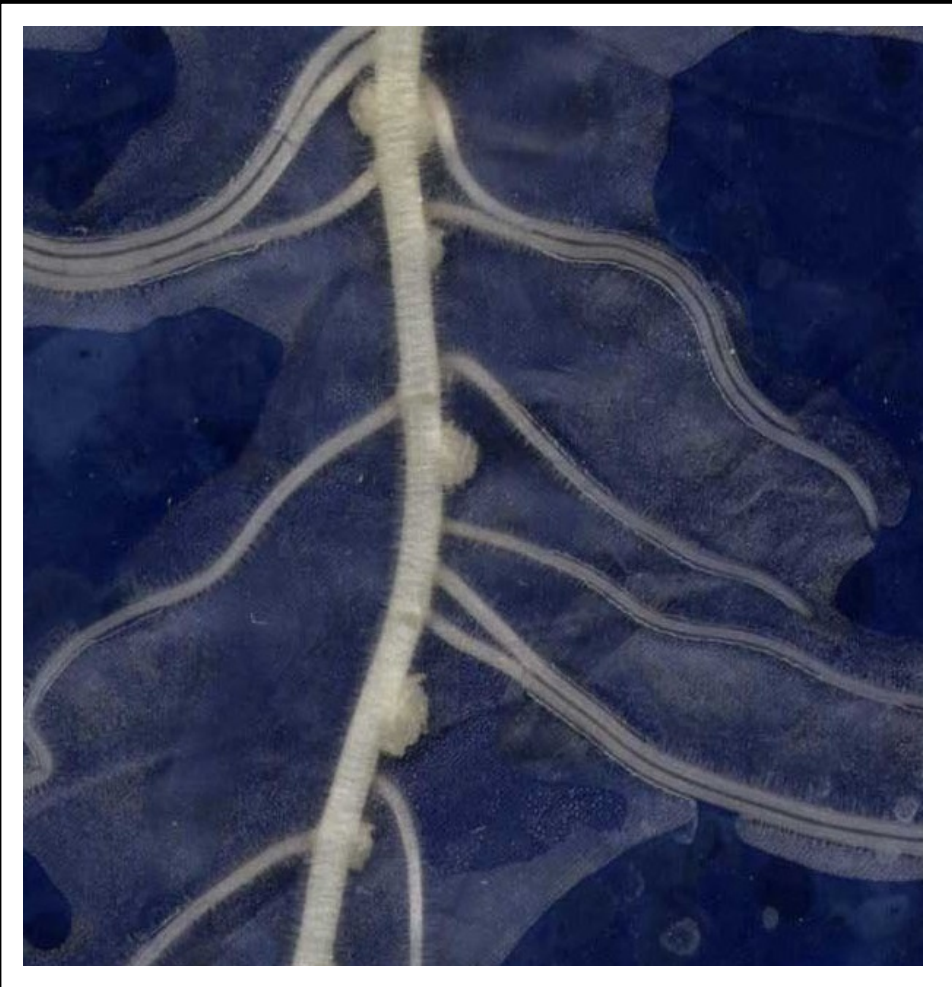


Nom	Surface	Longueur
Austin Dn	38 cm <sup>2</sup>	38cm
Austin Dn+5	58 cm <sup>2</sup>	40cm
L1073	105 cm <sup>2</sup>	40cm
Nepal	39 cm <sup>2</sup>	35 cm

Vigne
Légumineuses

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

# Détection de nodosités

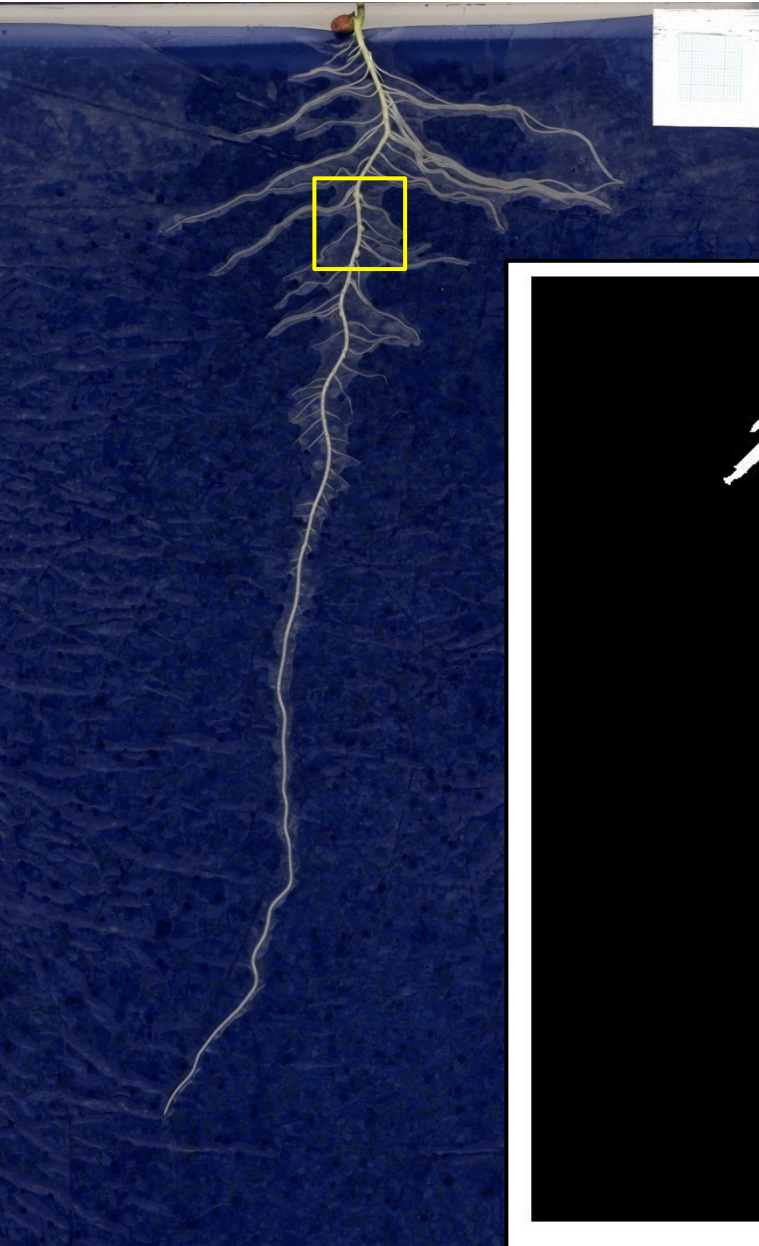


Jeune plante

Thèse Simeng Han (unpublished)

Vigne
Légumineuses

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



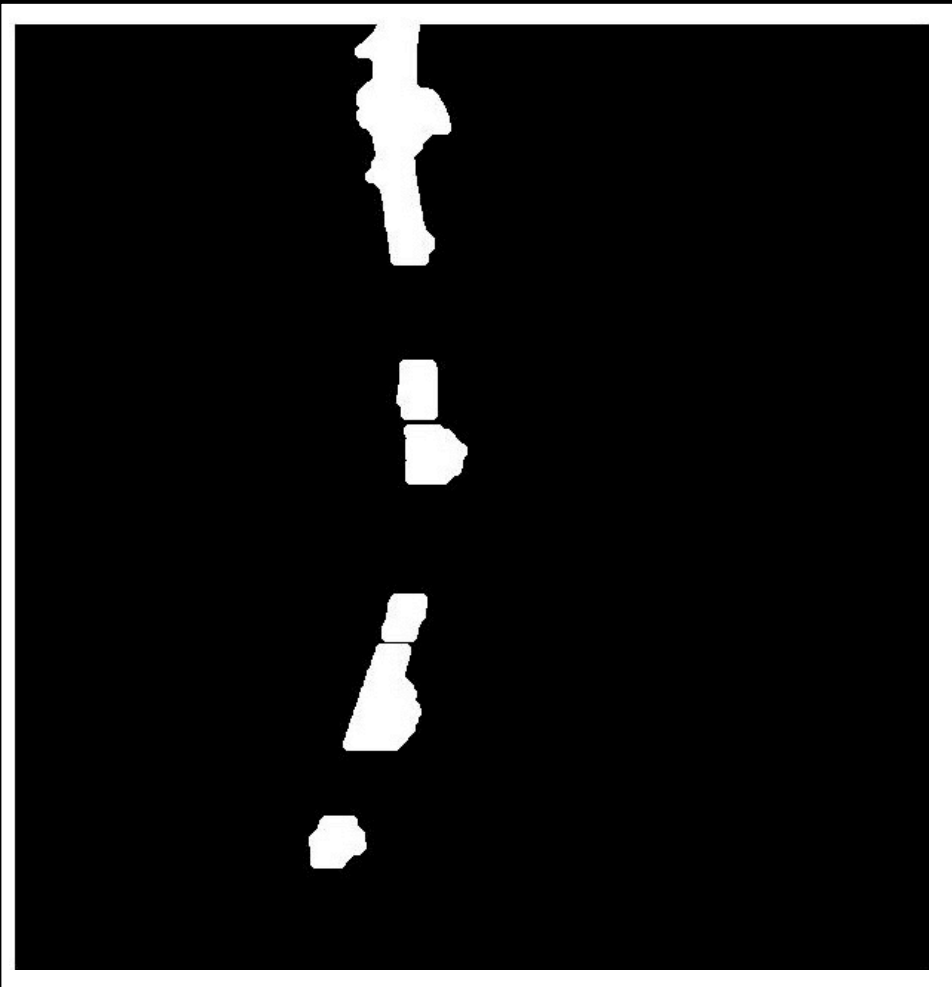
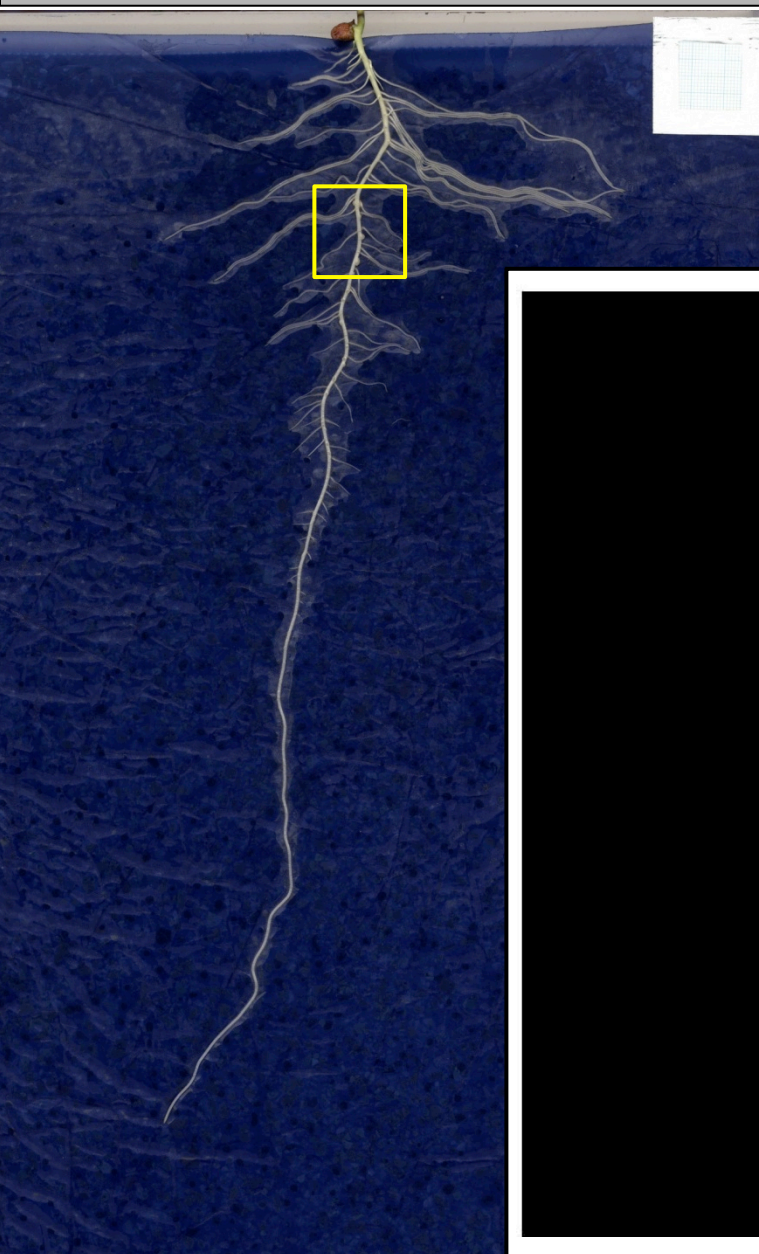
**Seuillage,  
image  
binaire**

**Jeune plante**

Thèse Simeng Han (unpublished)

Vigne
Légumineuses

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



Lisser l'image

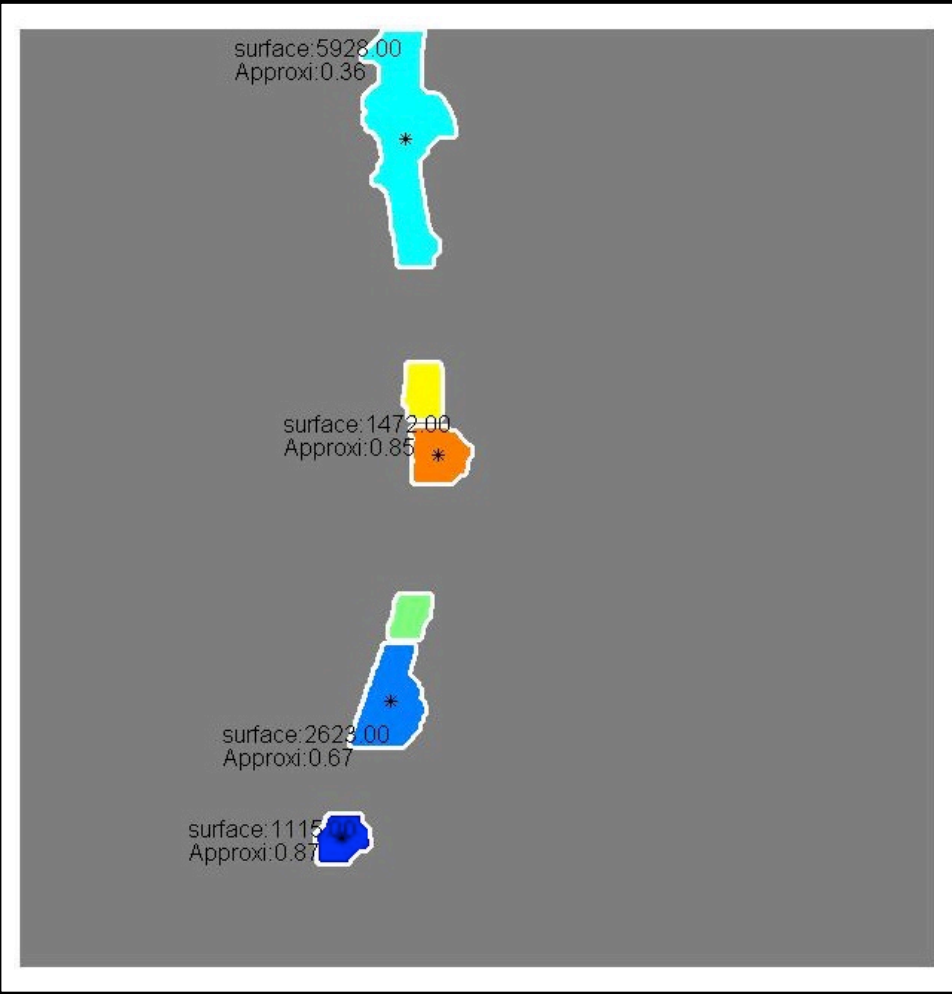
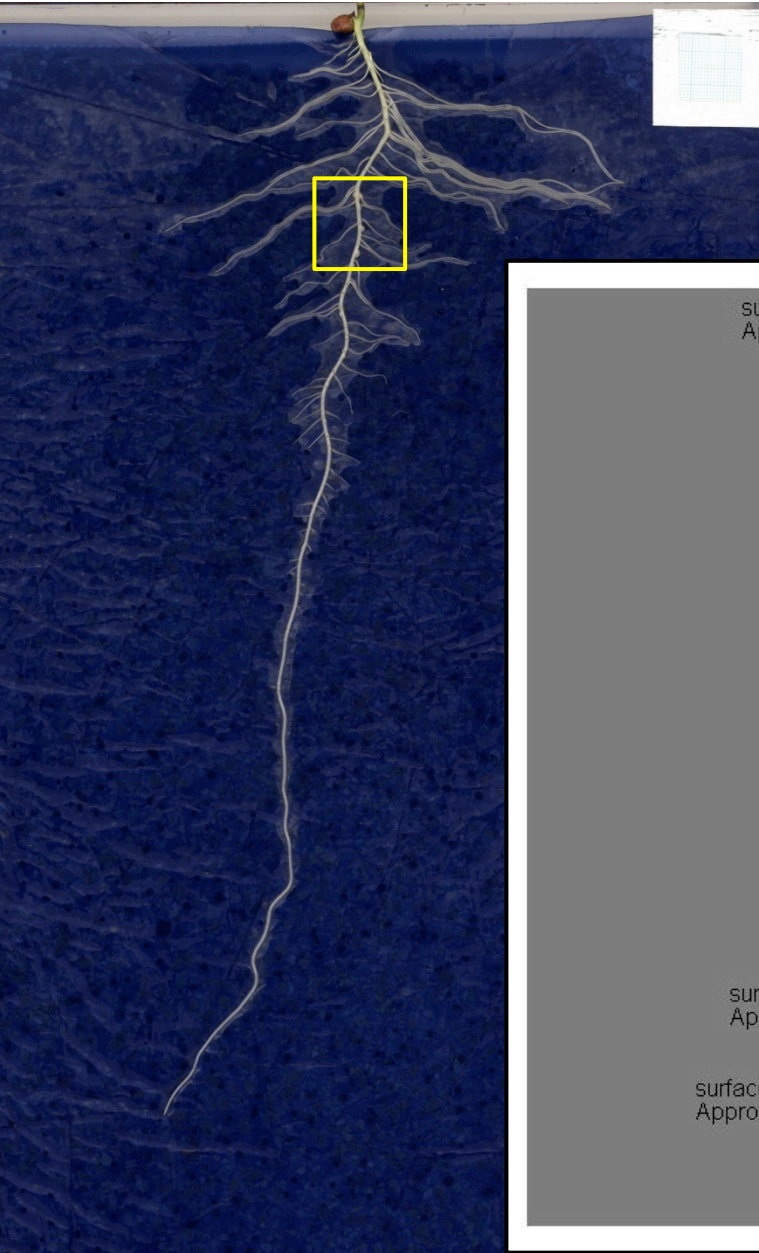
Jeune plante

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

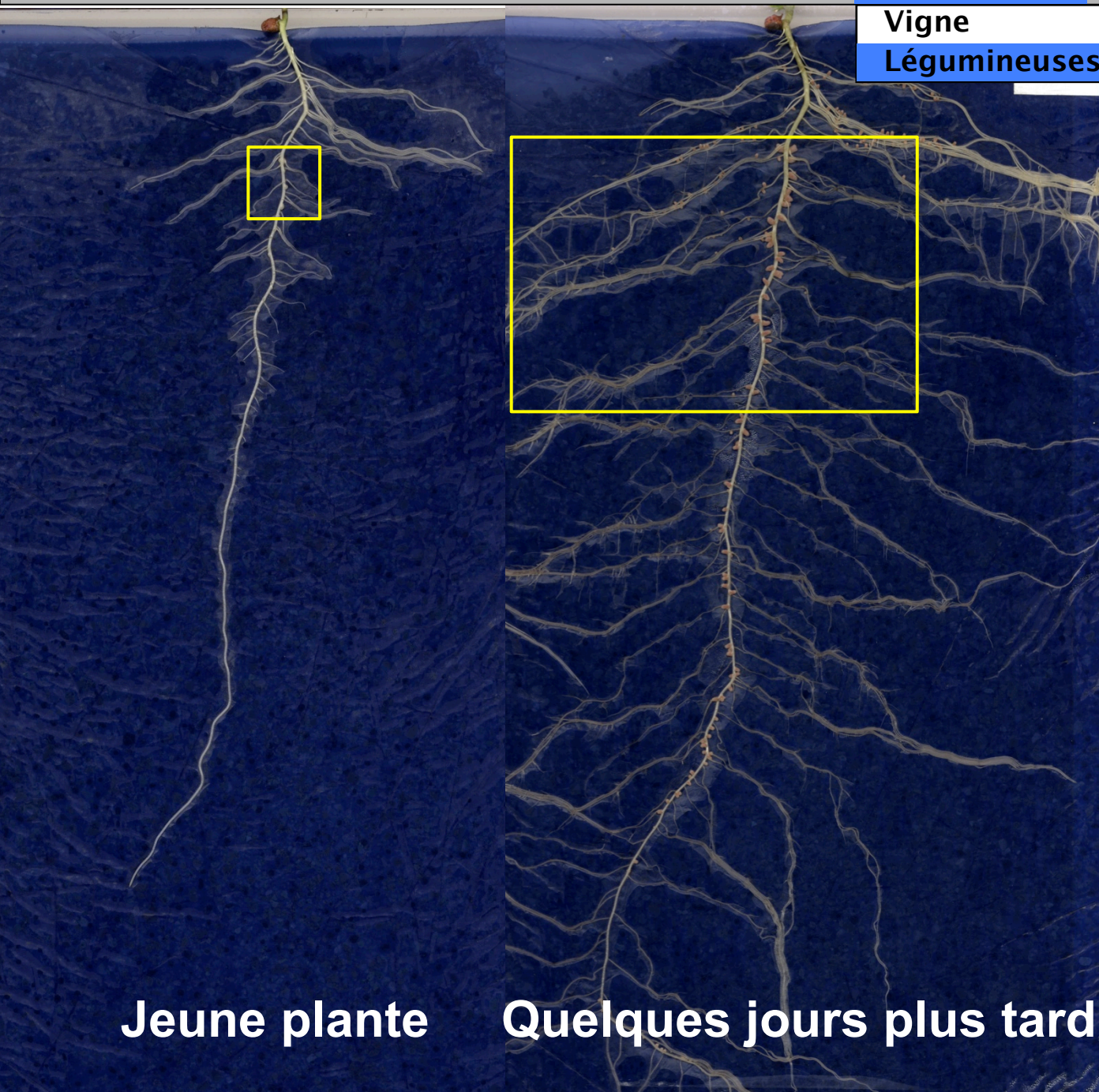
Objectifs
Diversité Génét.
Ident. Strategies
Traitements Image
Et ensuite ?



**Original image  
+ nodosités  
superposées**

**Jeune plante**

Thèse Simeng Han (unpublished)

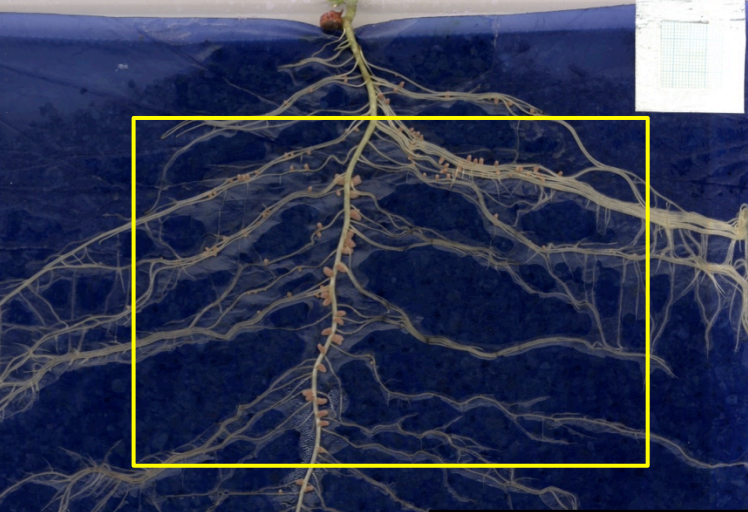



Vigne  
Légumineuses

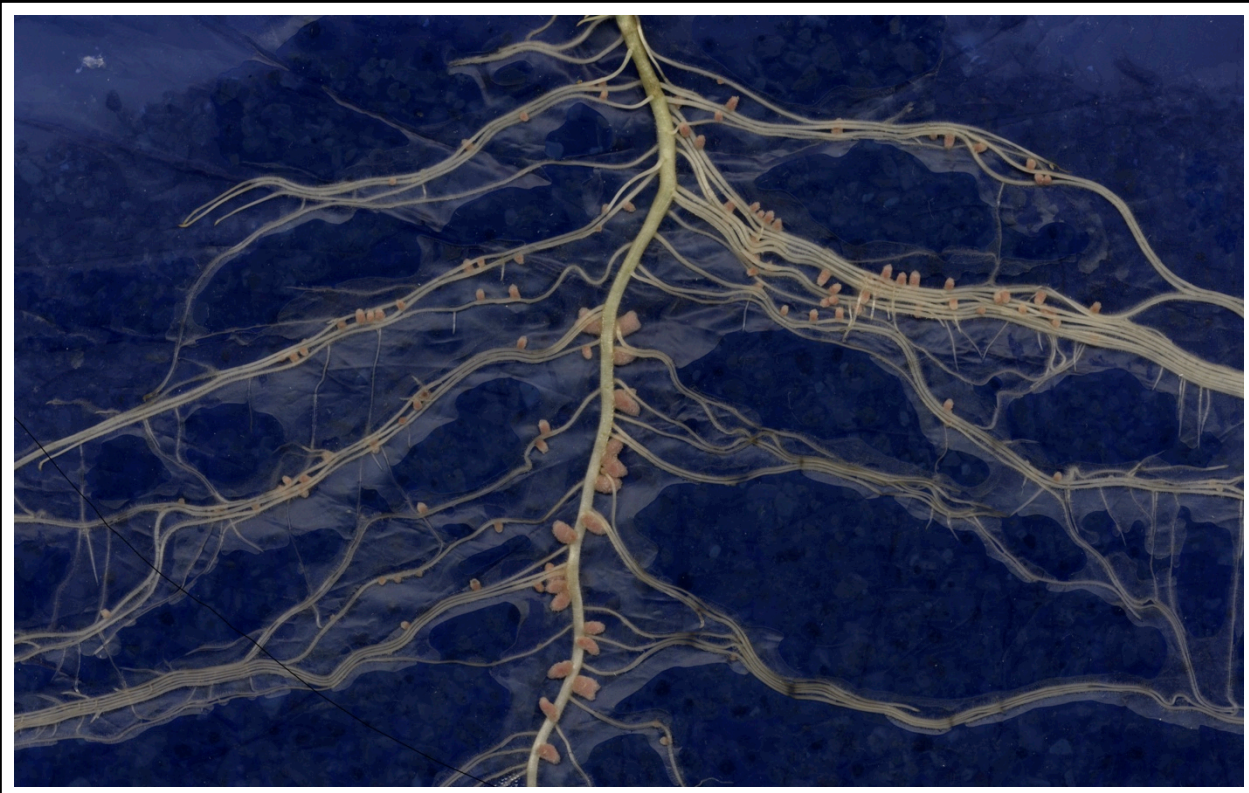
Objectifs  
Diversité Génét.  
Ident. Strategies  
Traitements Image  
Et ensuite ?

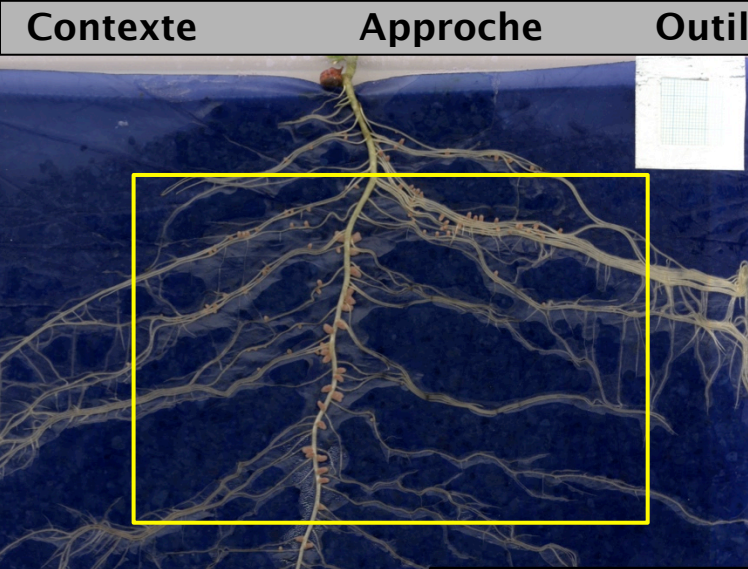

Jeune plante

Quelques jours plus tard.

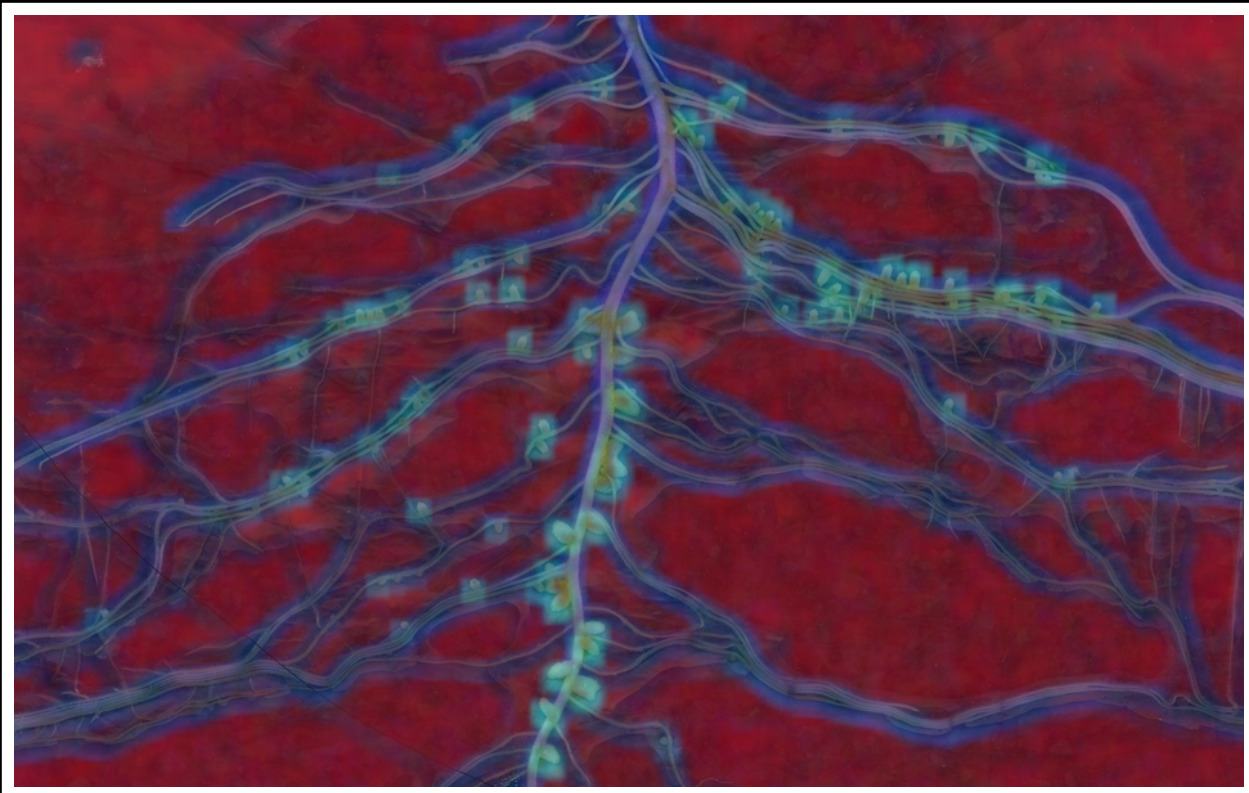
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		<b>Objectifs</b> Diversité Génét. Ident. Strategies <b>Traitements Image</b> Et ensuite ?
			Légumineuses		

Focus sur image



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

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



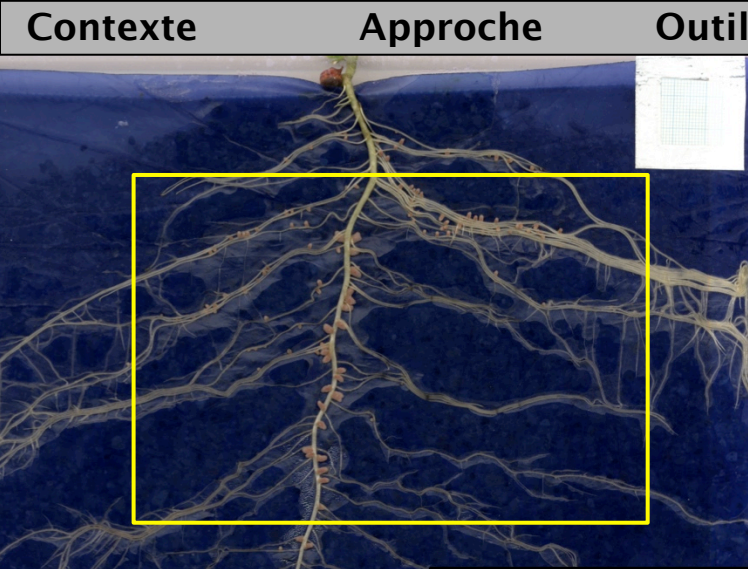

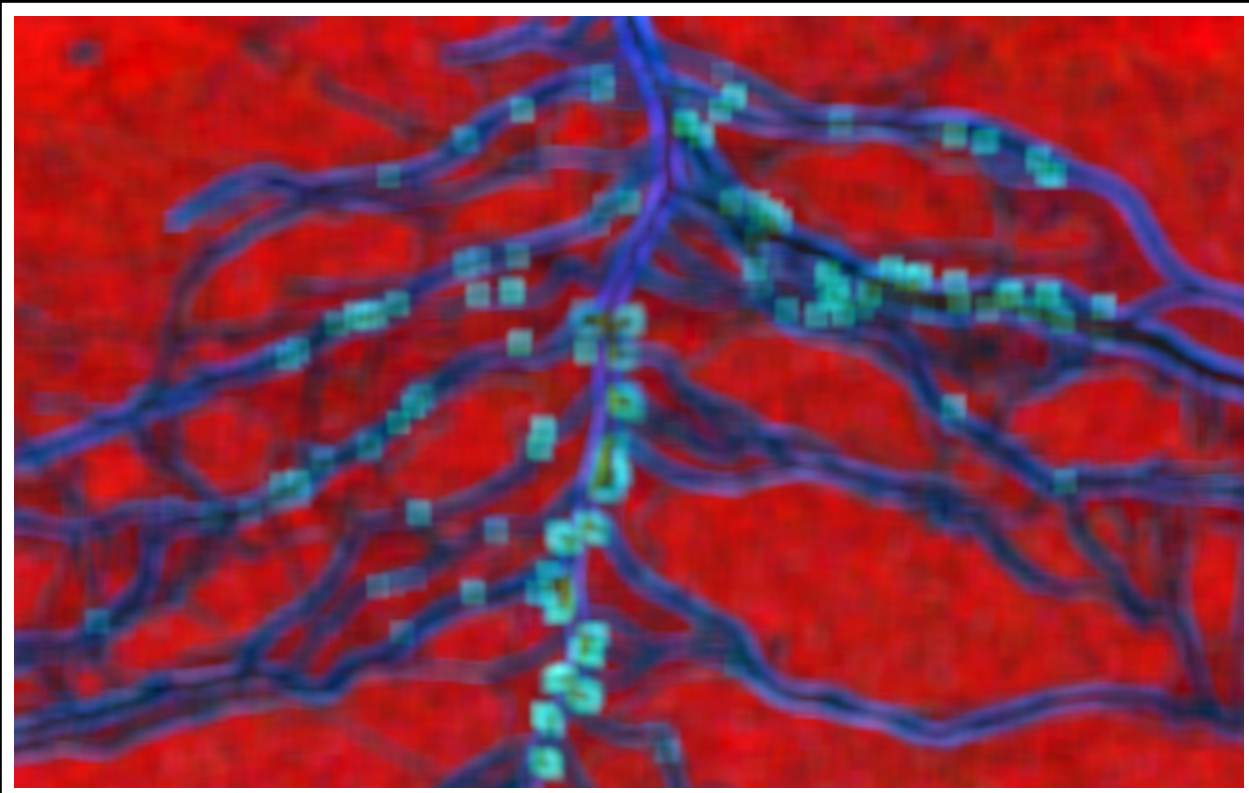
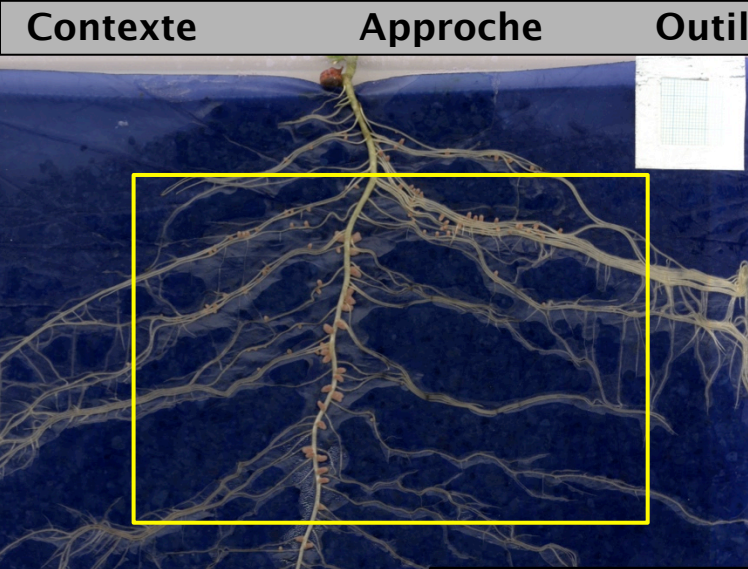

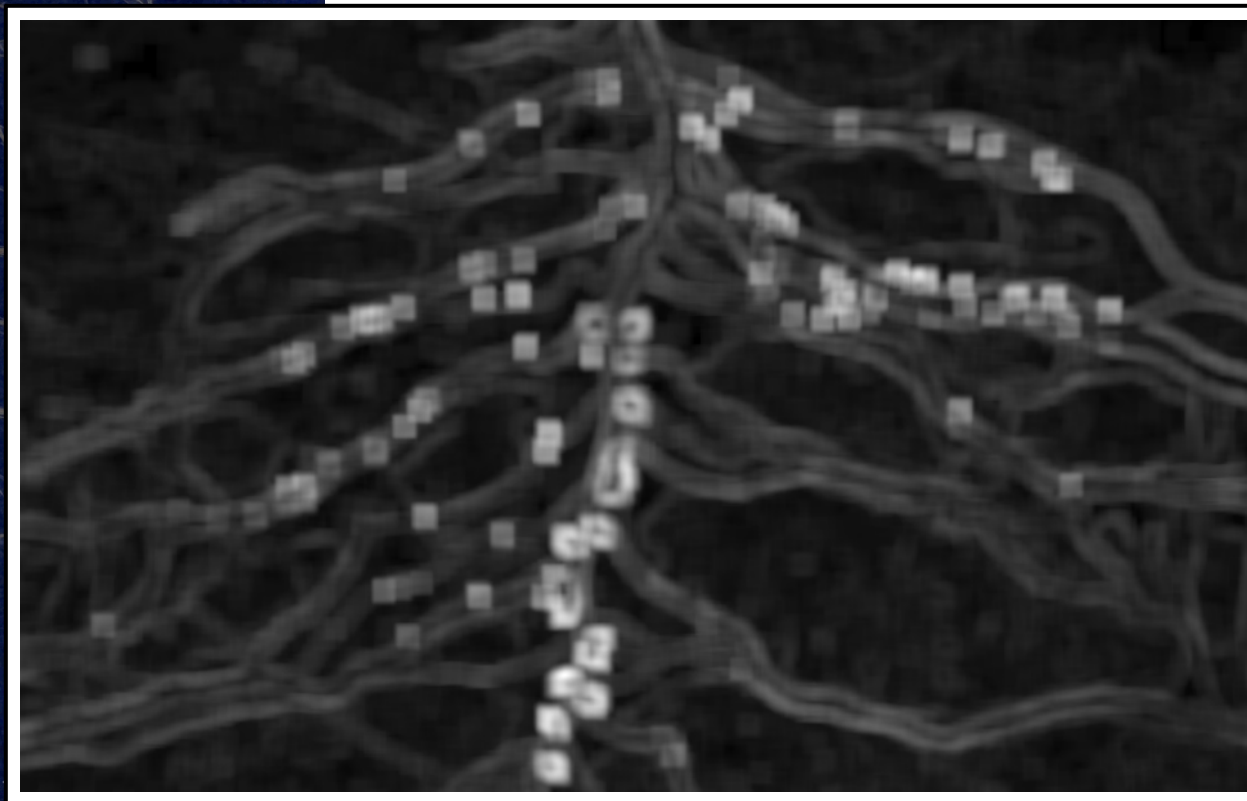
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		<b>Objectifs</b> Diversité Génét. Ident. Strategies <b>Traitements Image</b> Et ensuite ?
			Légumineuses		

Image RVB de nodosités



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

**Bande d'image RVB**



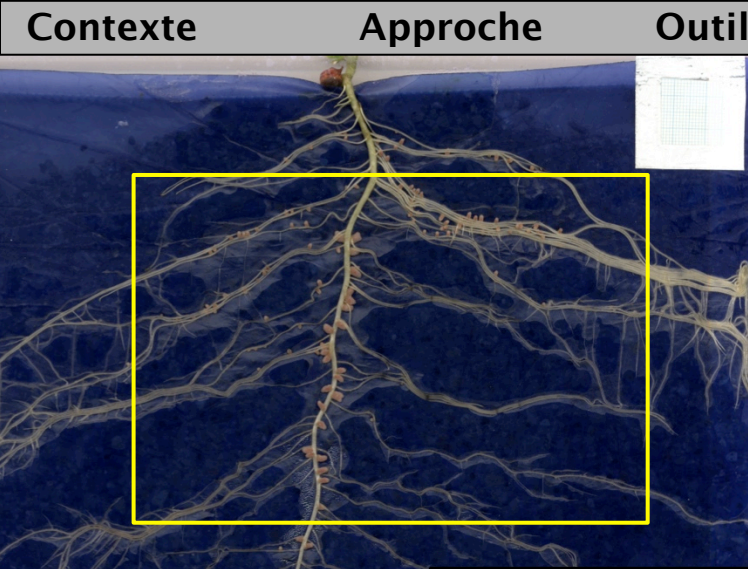

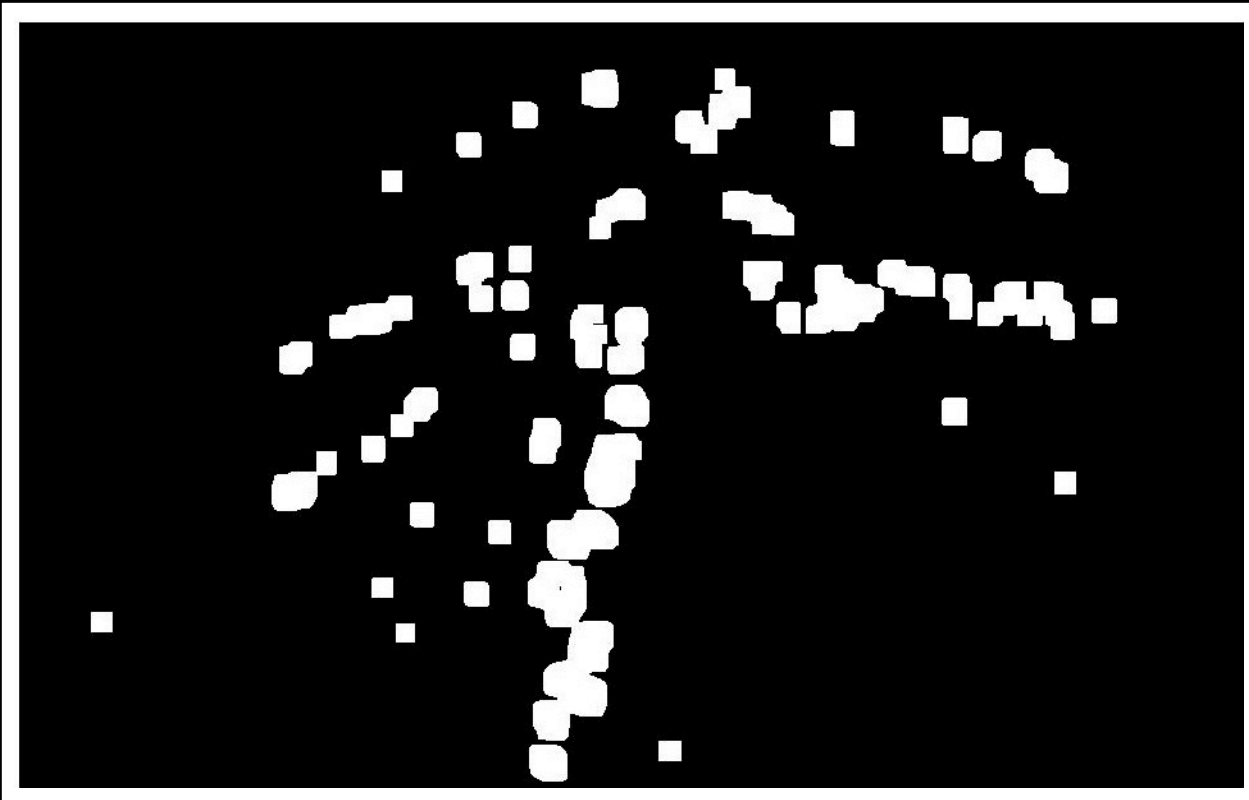
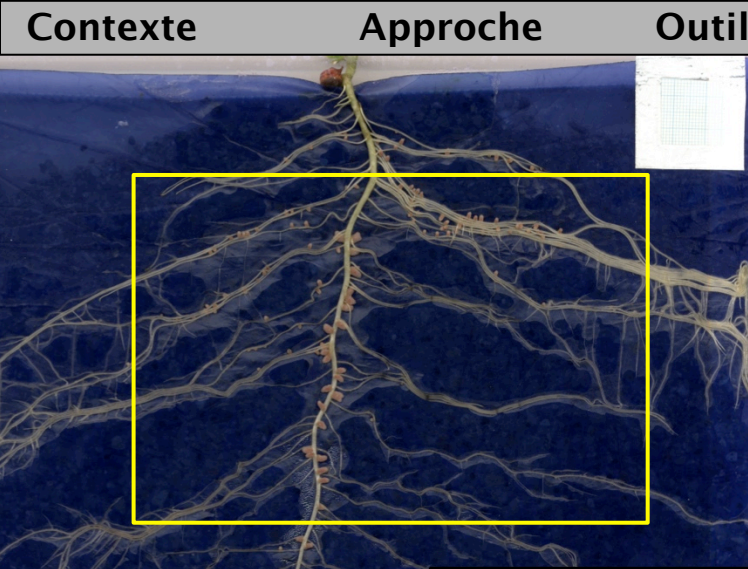

Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		<b>Objectifs</b> Diversité Génét. Ident. Strategies <b>Traitements Image</b> Et ensuite ?
			Légumineuses		

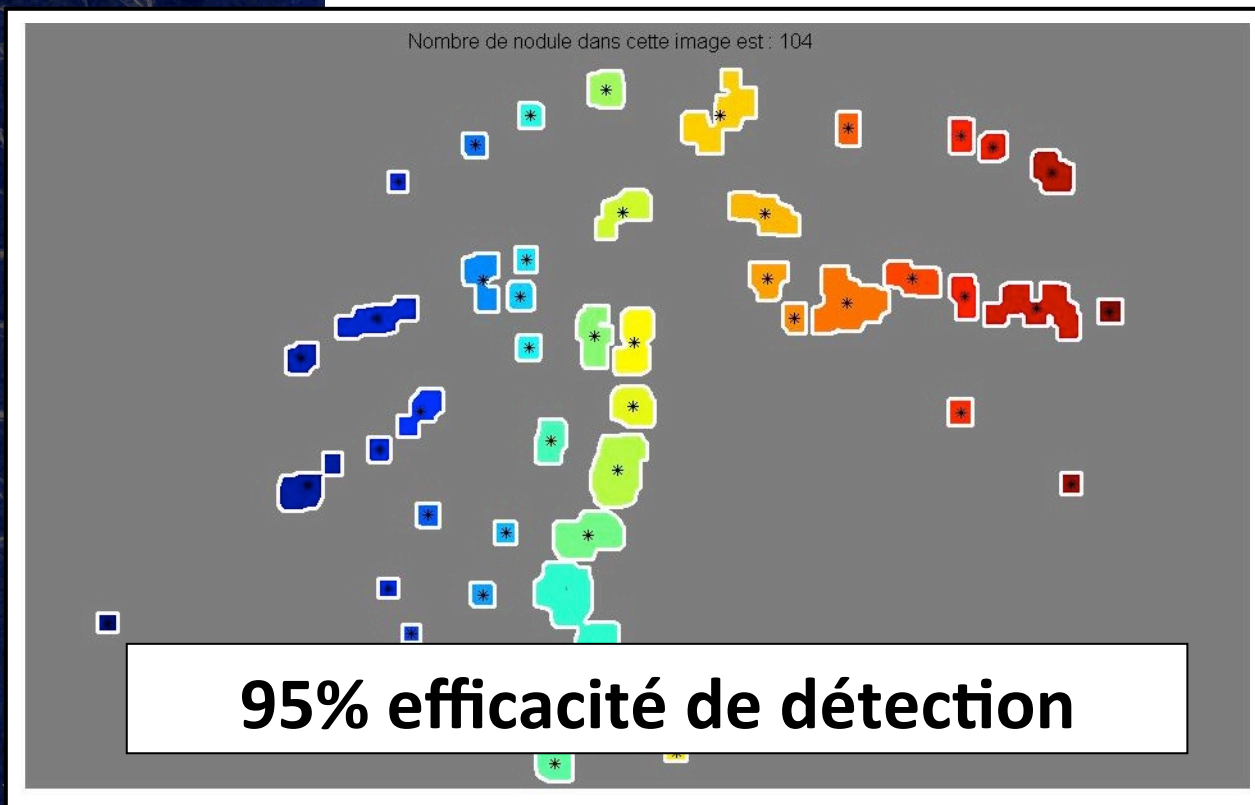
Image avec nodosités

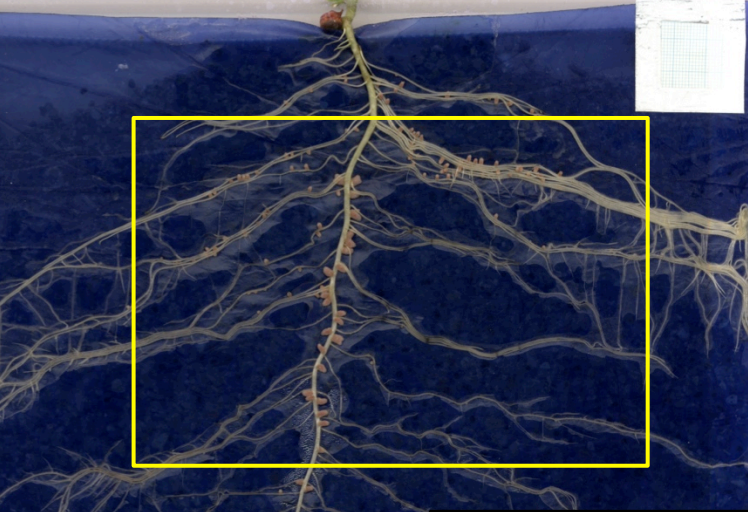





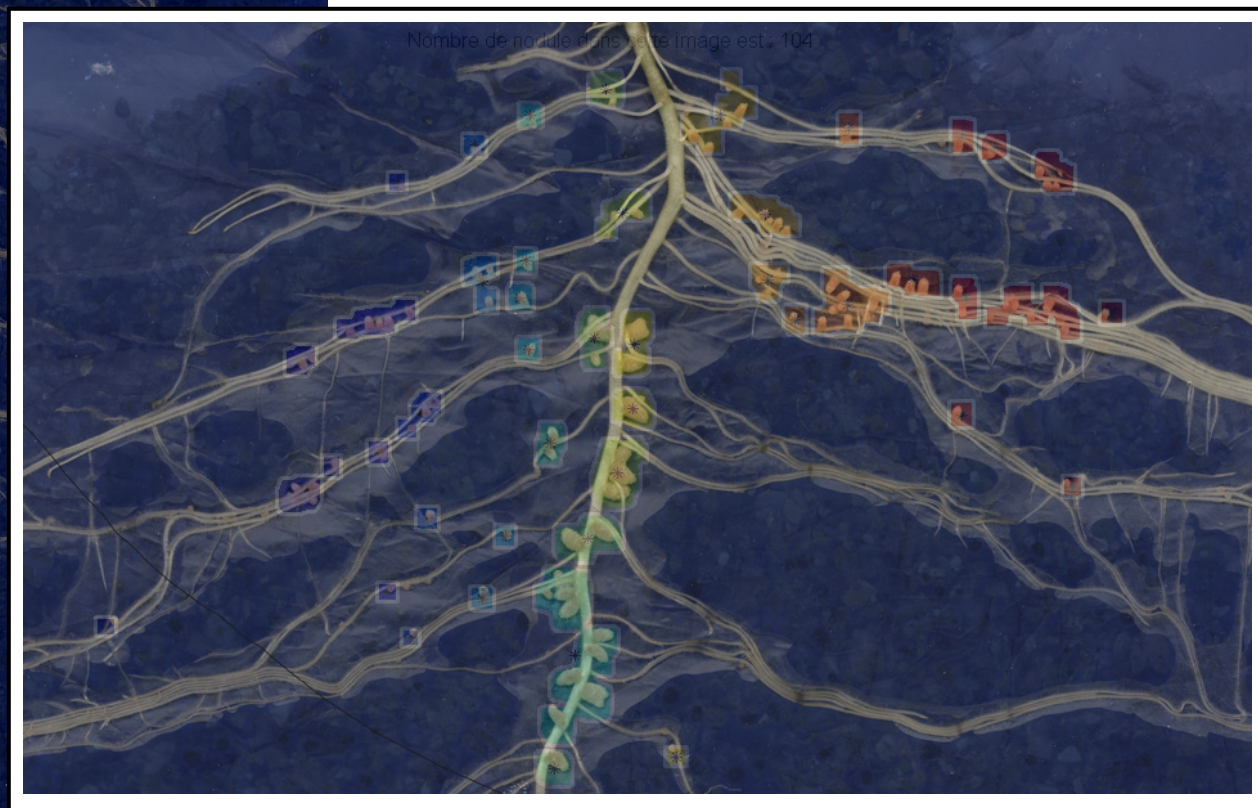
Contexte	Approche	Outils	Exemples	Modèles	Conclusion
			Vigne		<b>Objectifs</b> Diversité Génét. Ident. Strategies <b>Traitements Image</b> Et ensuite ?
			Légumineuses		

## Nodosités détectées automatiquement



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

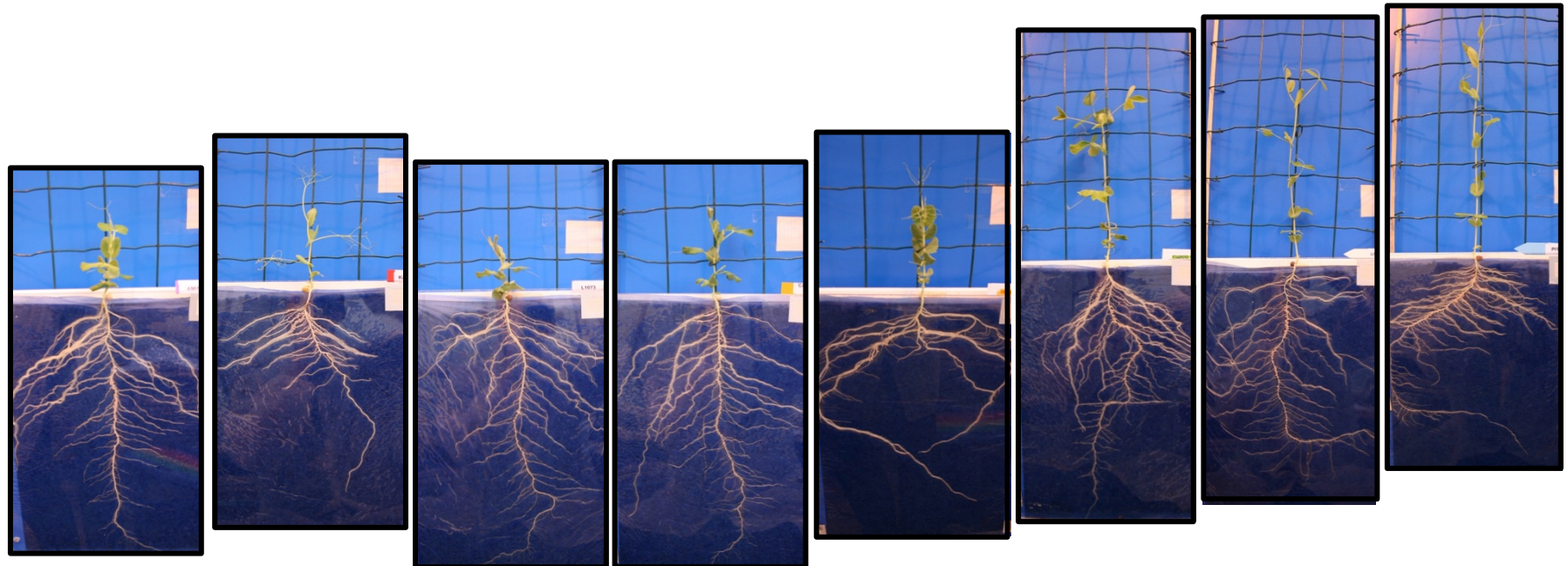
**Image originale + nodosités superposées**



Vigne
Légumineuses

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

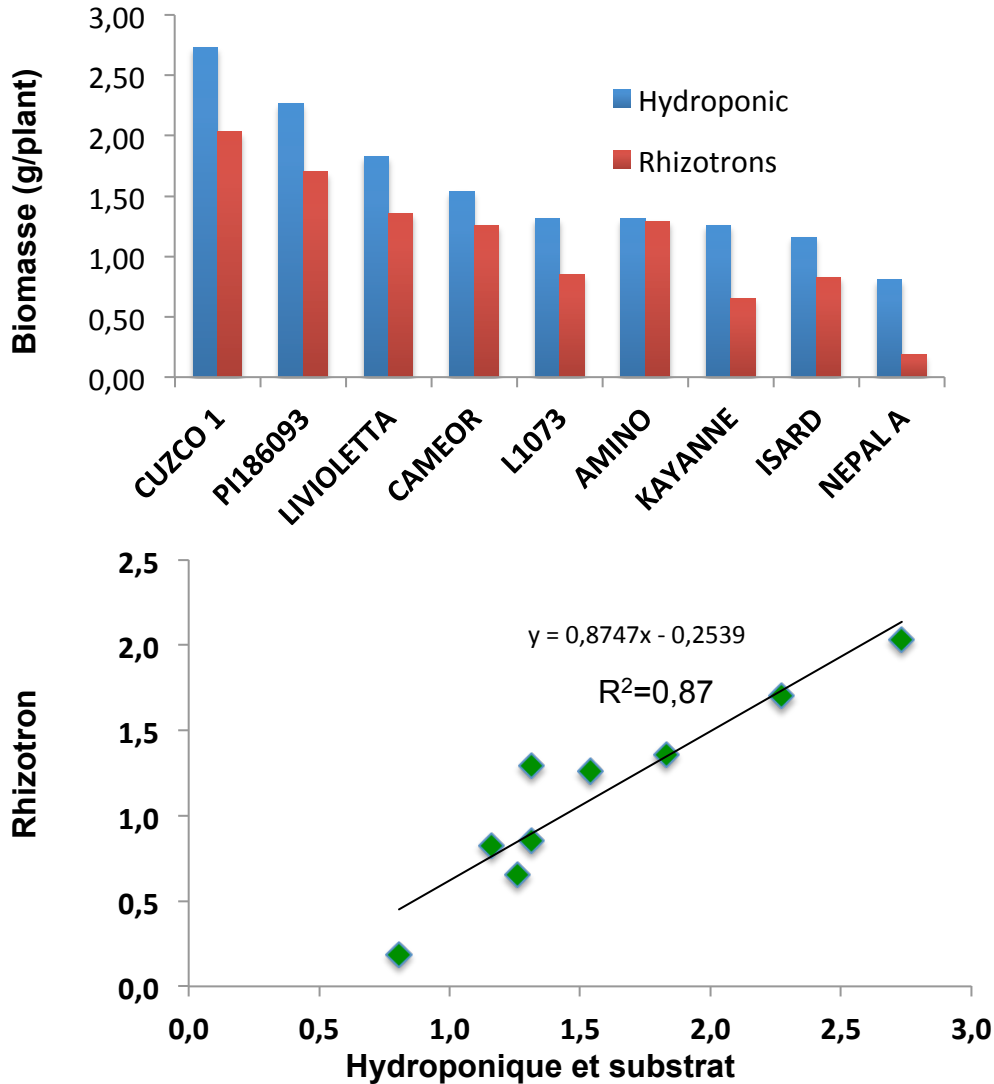
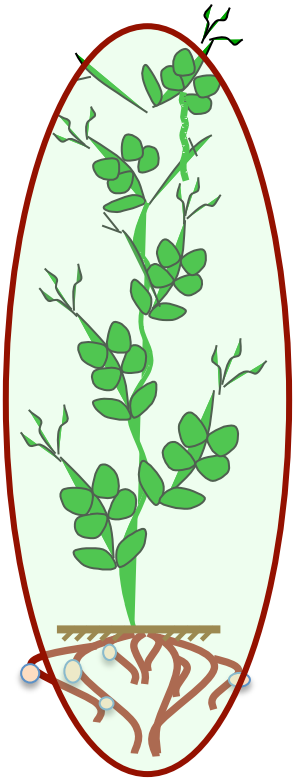
*Explorer la variabilité génétique intraspécifique :  
Pea core collection*



AMINO      KAYANNE      L1073      CAMEOR      ISARD      CUZCO      LIVIOLETTA      PI186093

**Classement de génotypes: Pea core collection**  
**Hydroponique versus rhizotron**

**Biomasse plante**



**La biomasse des plantes diminue dans les rhizotrons**

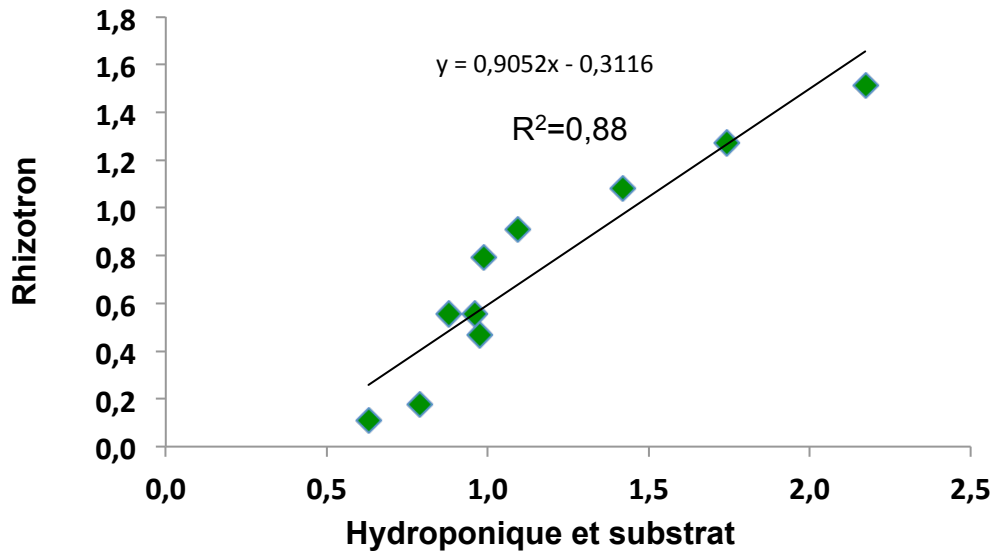
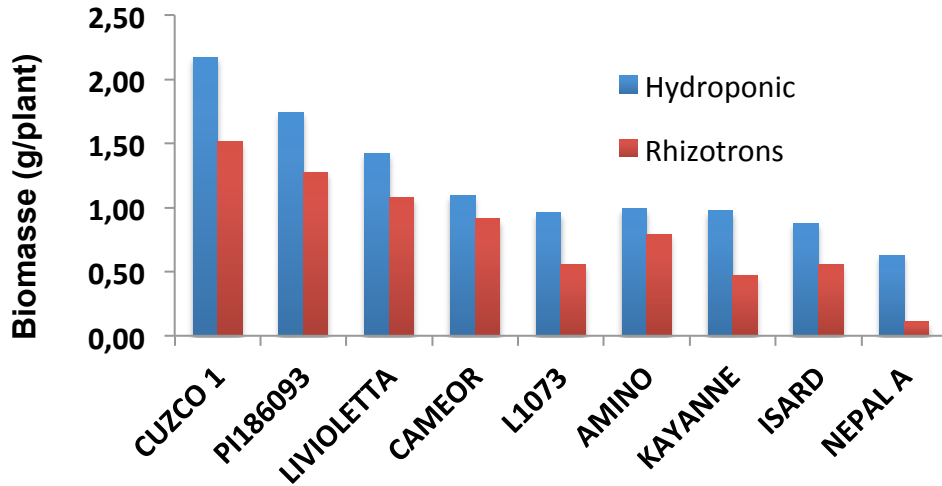
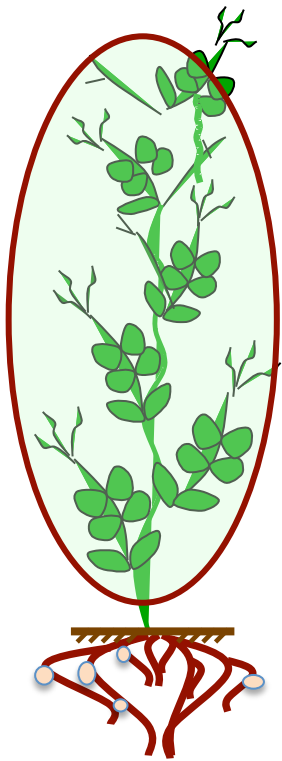
**Le classement des génotypes ne varie pas**

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**

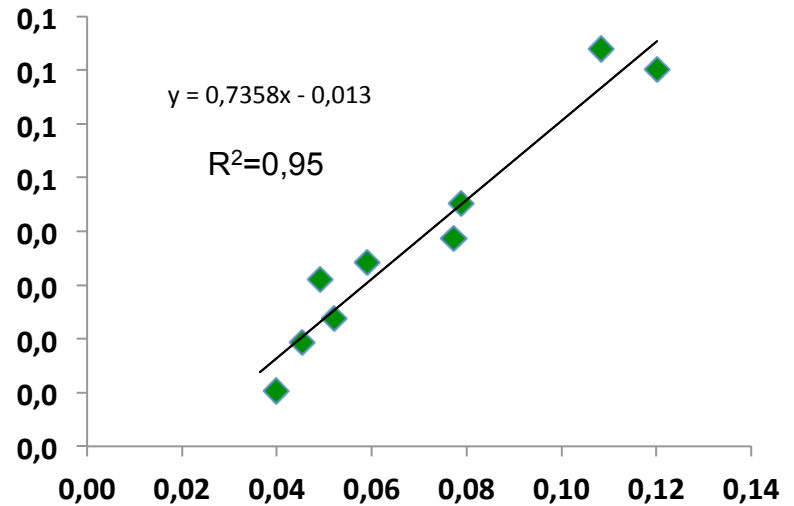
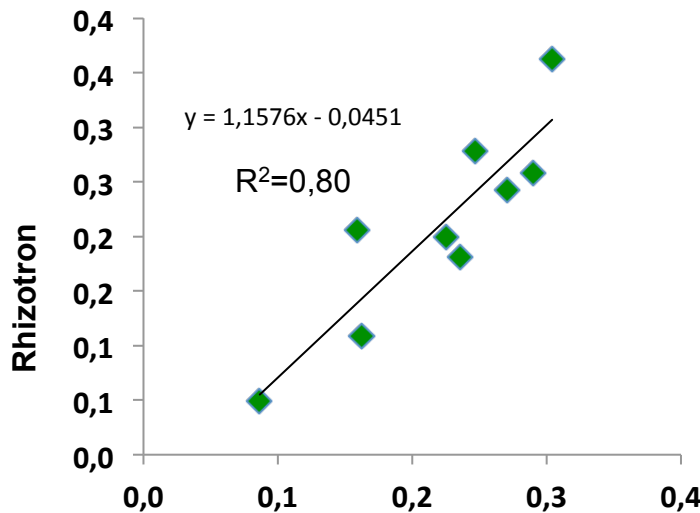
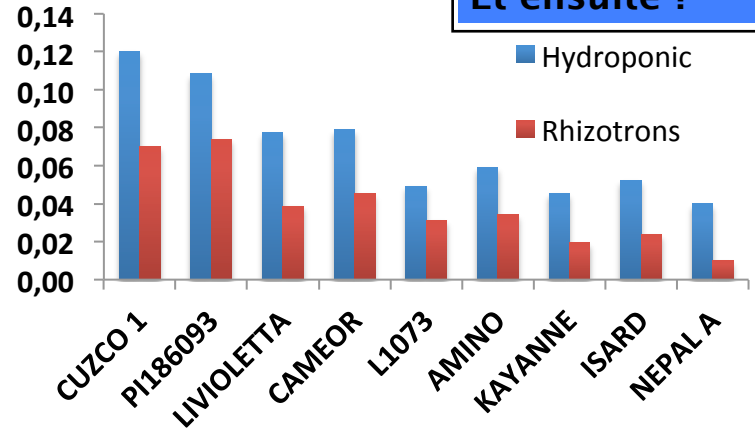
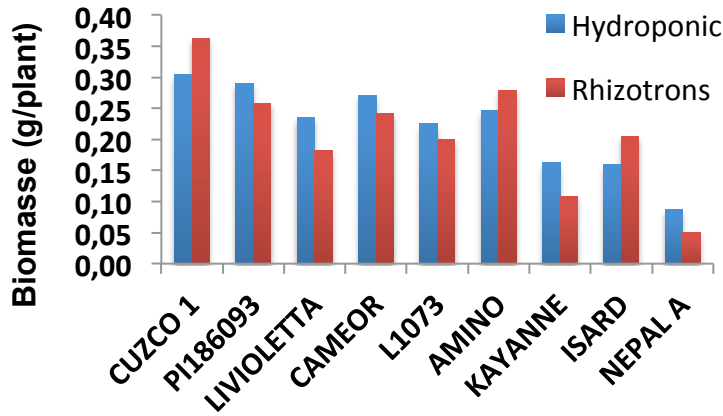
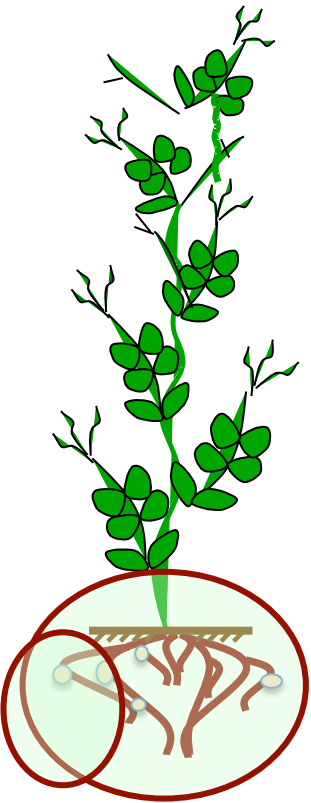
Vigne  
Légumineuses

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

## Classement de génotypes: Pea core collection

### Biomasse racinaires

### Biomasse nodosités

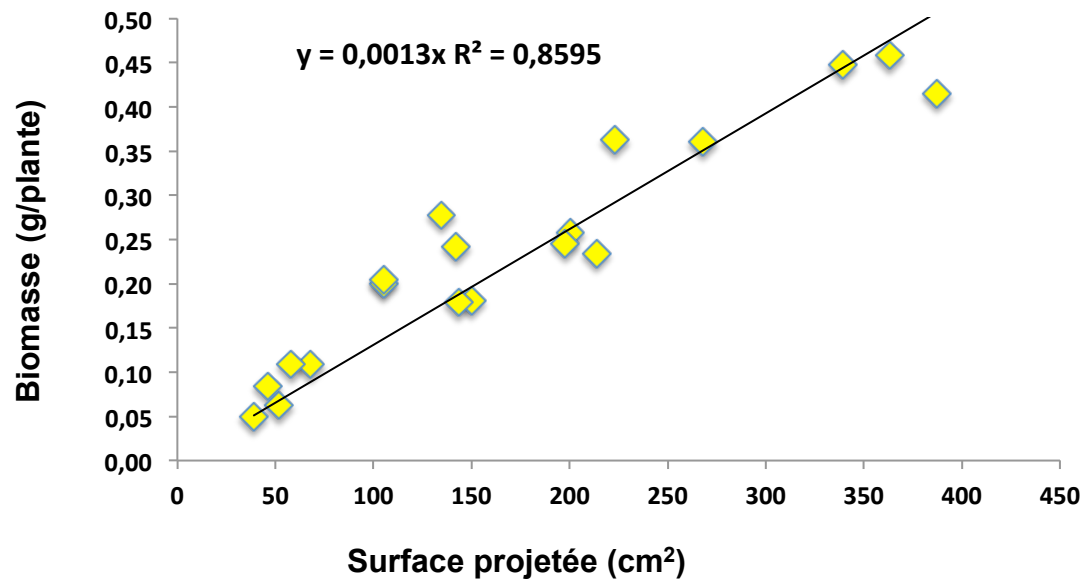
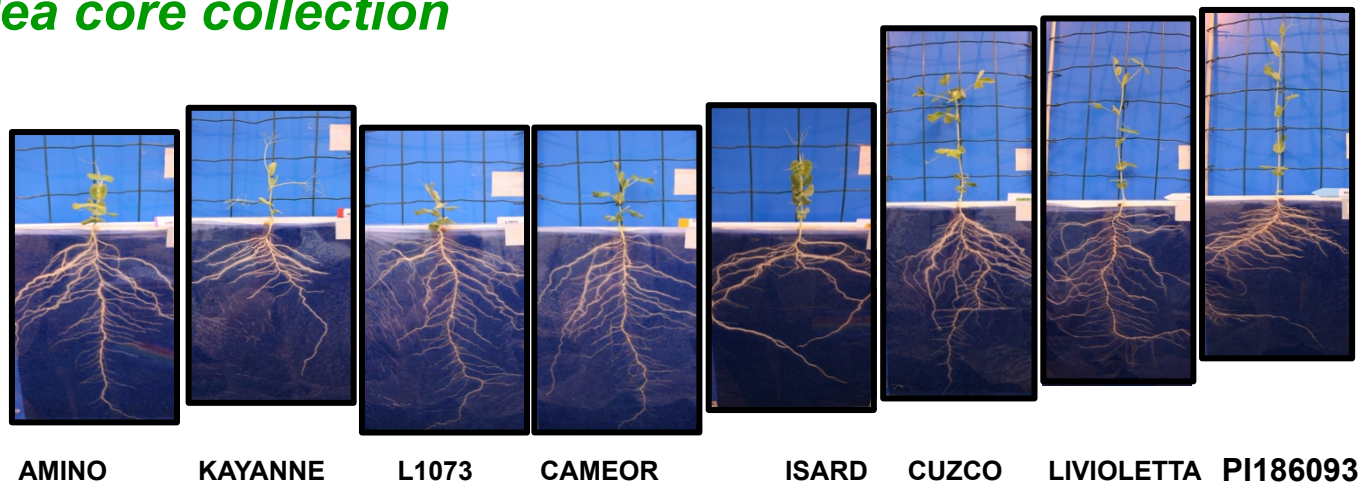


Hydroponique et substrat

Vigne
Légumineuses

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

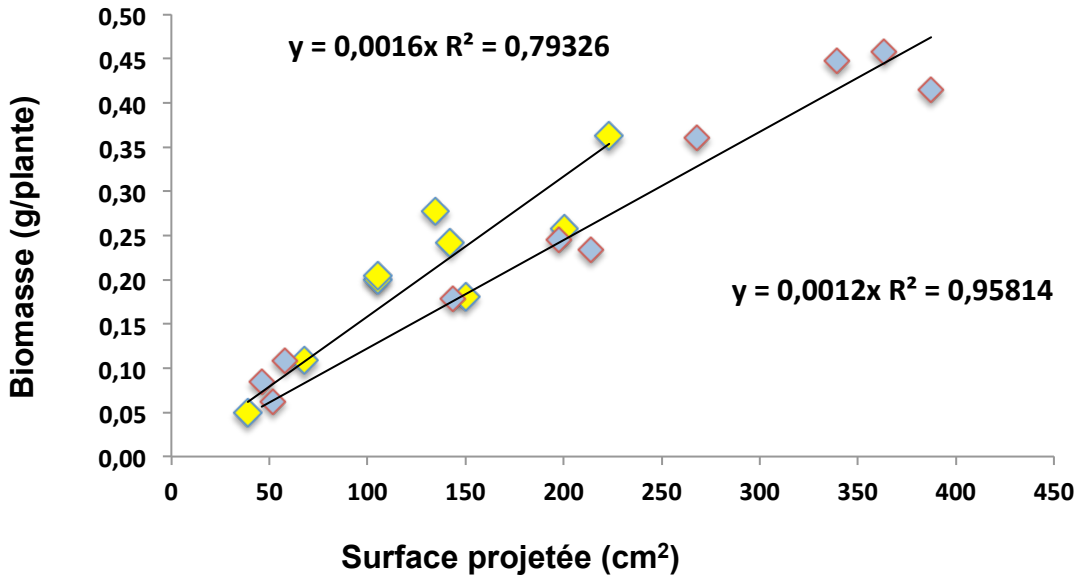
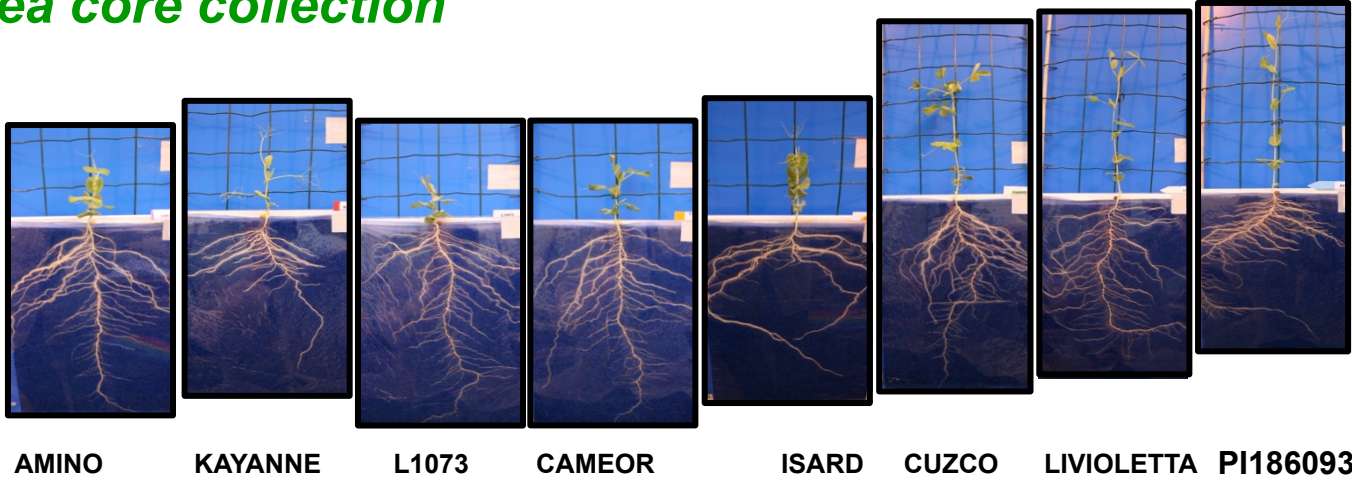
**Explorer la variabilité génétique intraspécifique :  
Pea core collection**



Vigne
Légumineuses

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

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

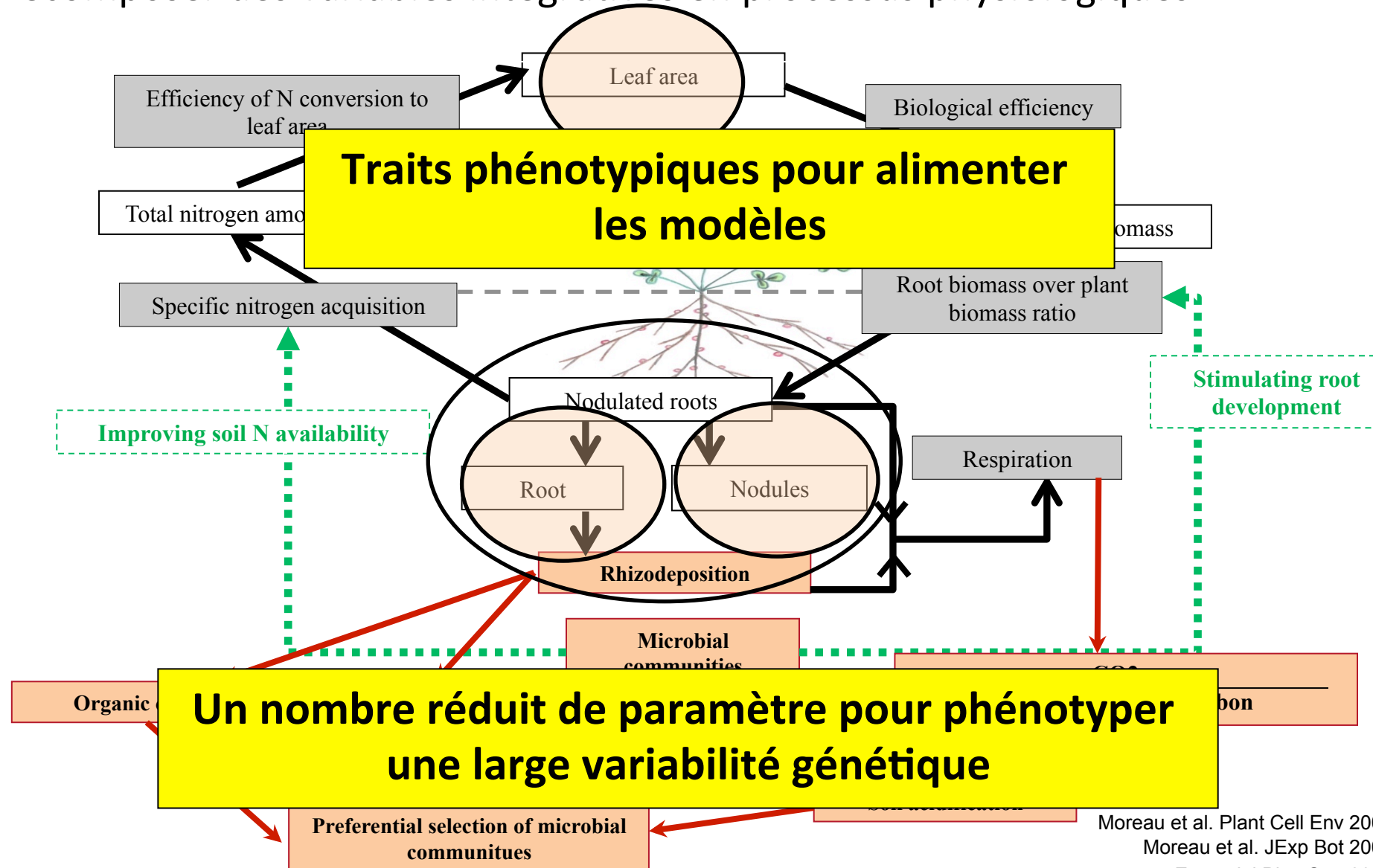


**Estimer la biomasse de manière non destructive**



# Modèle Intégratif: *Medicago*

Décomposer des variables intégratives en processus physiologiques

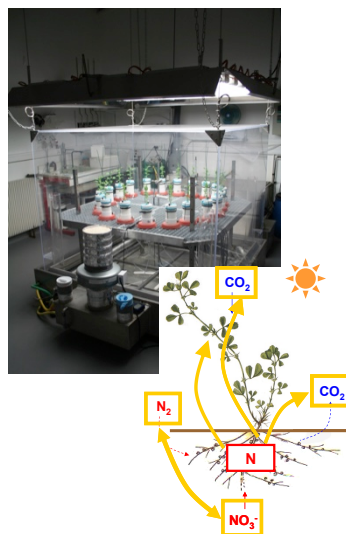
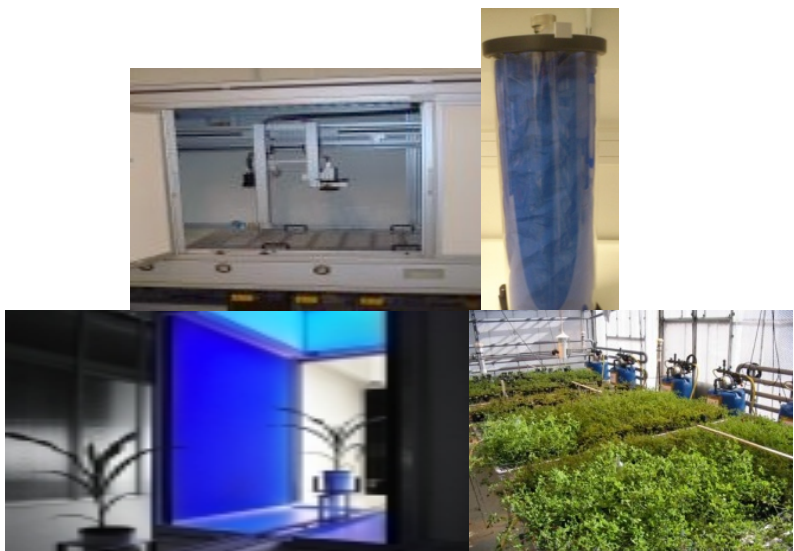


# Food for thoughts... Combiner les approches

## Phénotypage



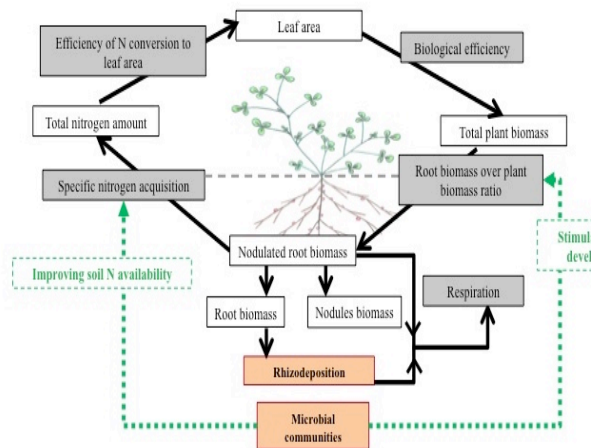
## Approche analytique



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



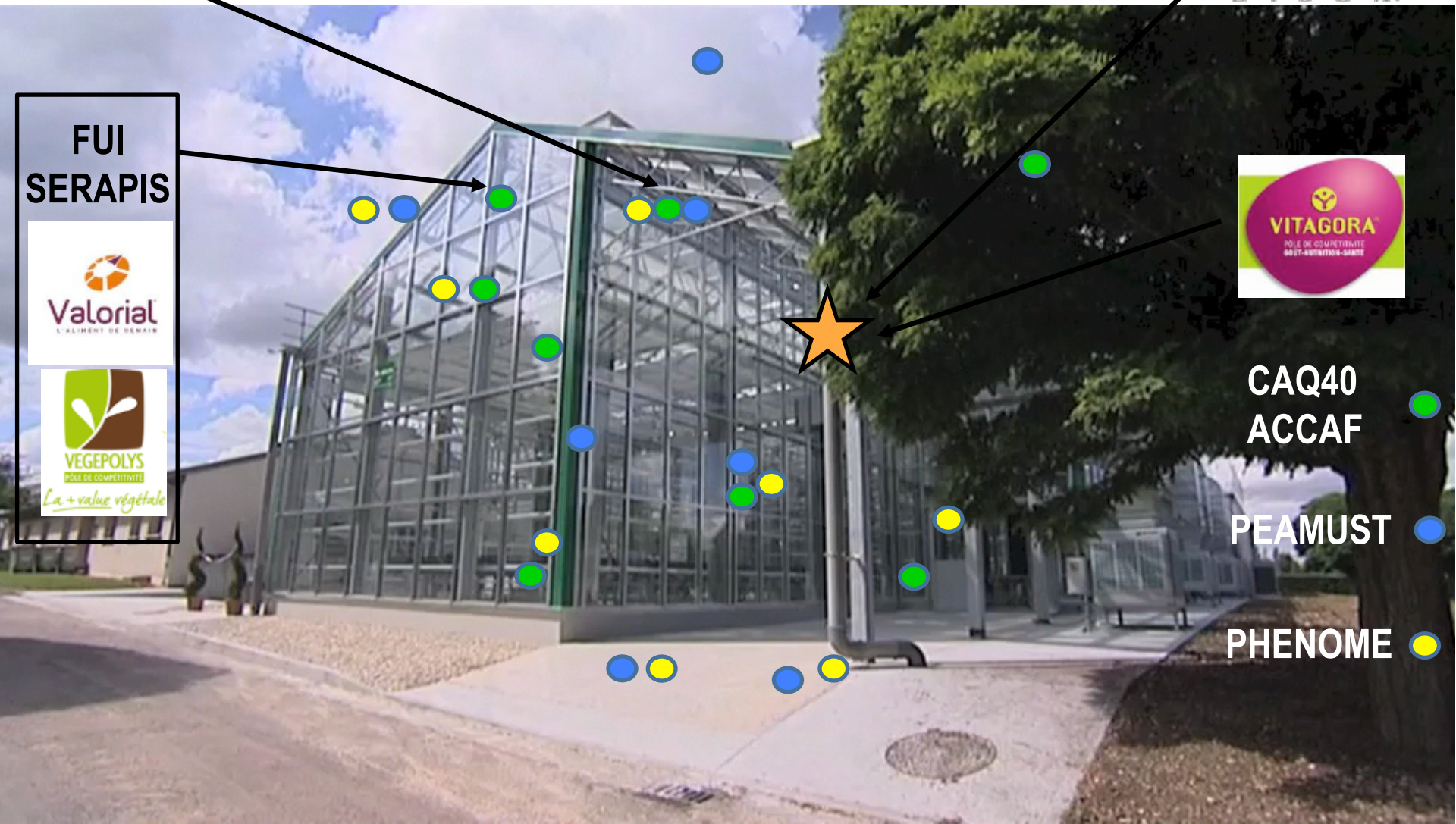
FUI  
SERAPIS

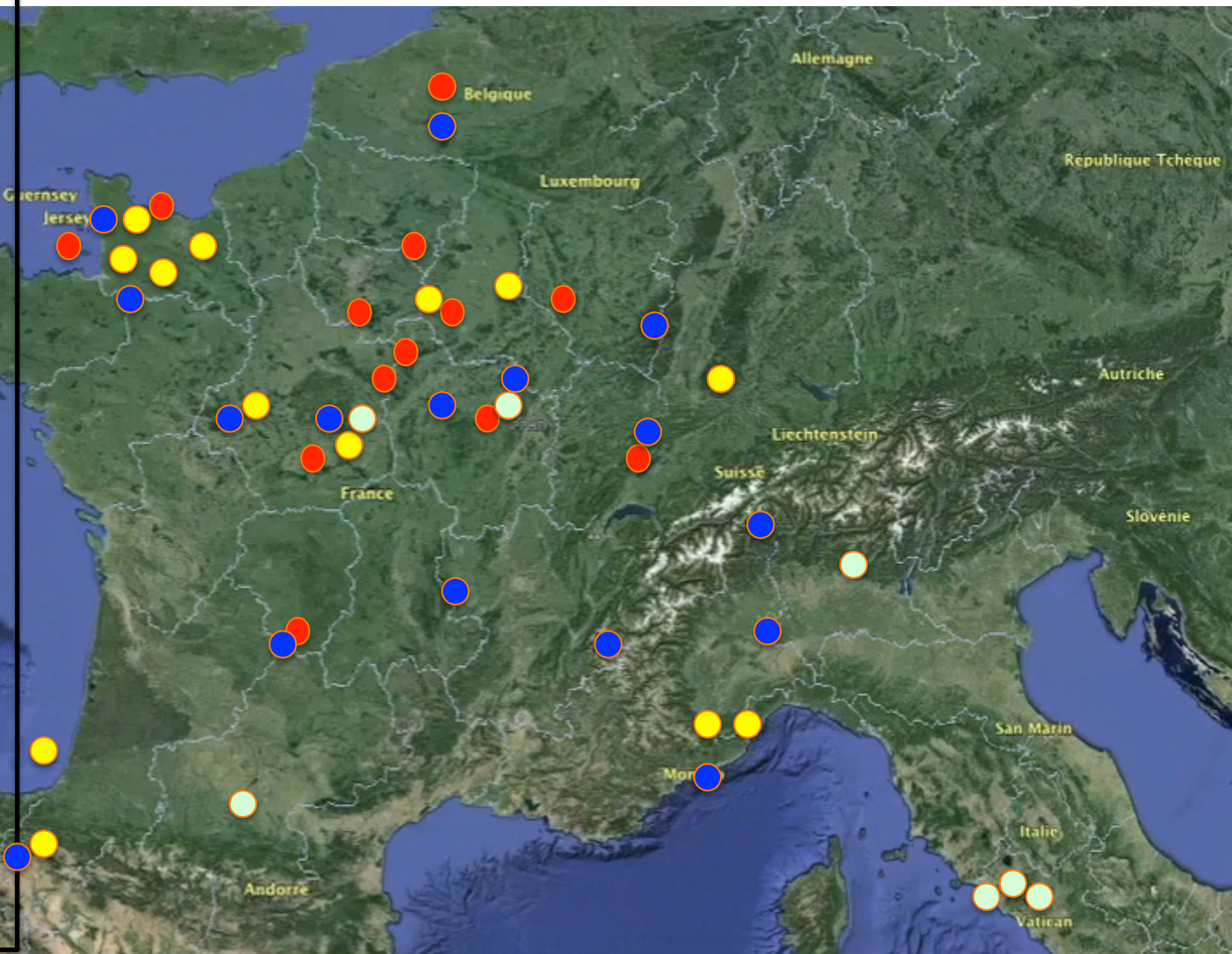


CAQ40  
ACCAF

PEAMUST

PHENOME





# *Distribution...*

**Christian JEUDY**



**Céline BERNARD**



**Jean-Claude SIMON**



**Frédéric COINTAULT**



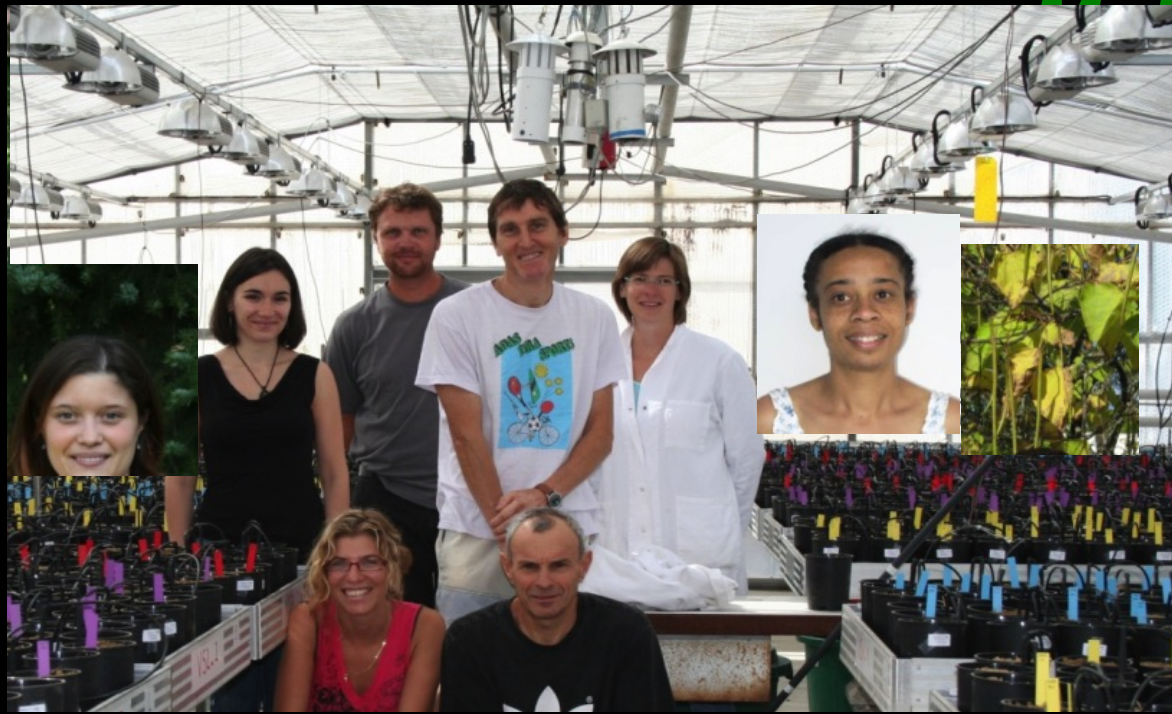
**Simeng HAN**



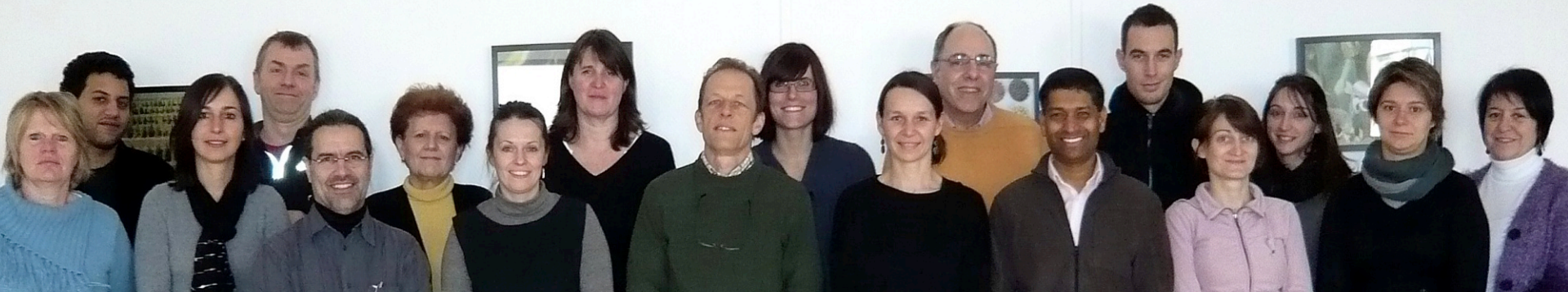
**Marielle ADRIAN**



*It's aussi...*



**Ecophysiology team**



**Medicago truncatula team**



**Rhizotrones  
(EU Licence INRA-  
Inoviaflow, 1300 units  
planed)**

Fluxomic
PPHD
<b>Rhizotrons</b>
Rhizobox

