



HAL
open science

Opportunités de Phénotypage racinaire en interaction avec les Micro organisms

Christophe Salon

► **To cite this version:**

Christophe Salon. Opportunités de Phénotypage racinaire en interaction avec les Micro organisms. Journées du Département SPE, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Dijon, FRA., Nov 2014, Paris, France. hal-02795992

HAL Id: hal-02795992

<https://hal.inrae.fr/hal-02795992>

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.

Opportunités de Phénotypage racinaire en interaction avec les Micro organismes

Phenotyping Platform for Plant and Plant Micro organisms Interactions (4PMI, INRA Dijon)




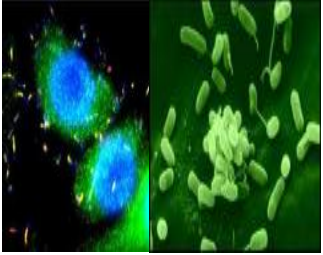
Christophe Salon

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



→ 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

Architecture aérienne



20 unités/h

Plantes des
agrosystèmes

Organes (graines...)

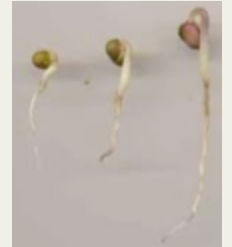


Petites plantes

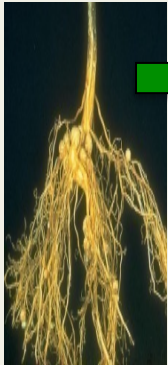


6 unités/h

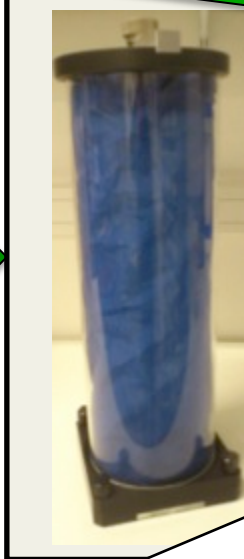
Germination



2 unités/h



Racines



120 unités/h



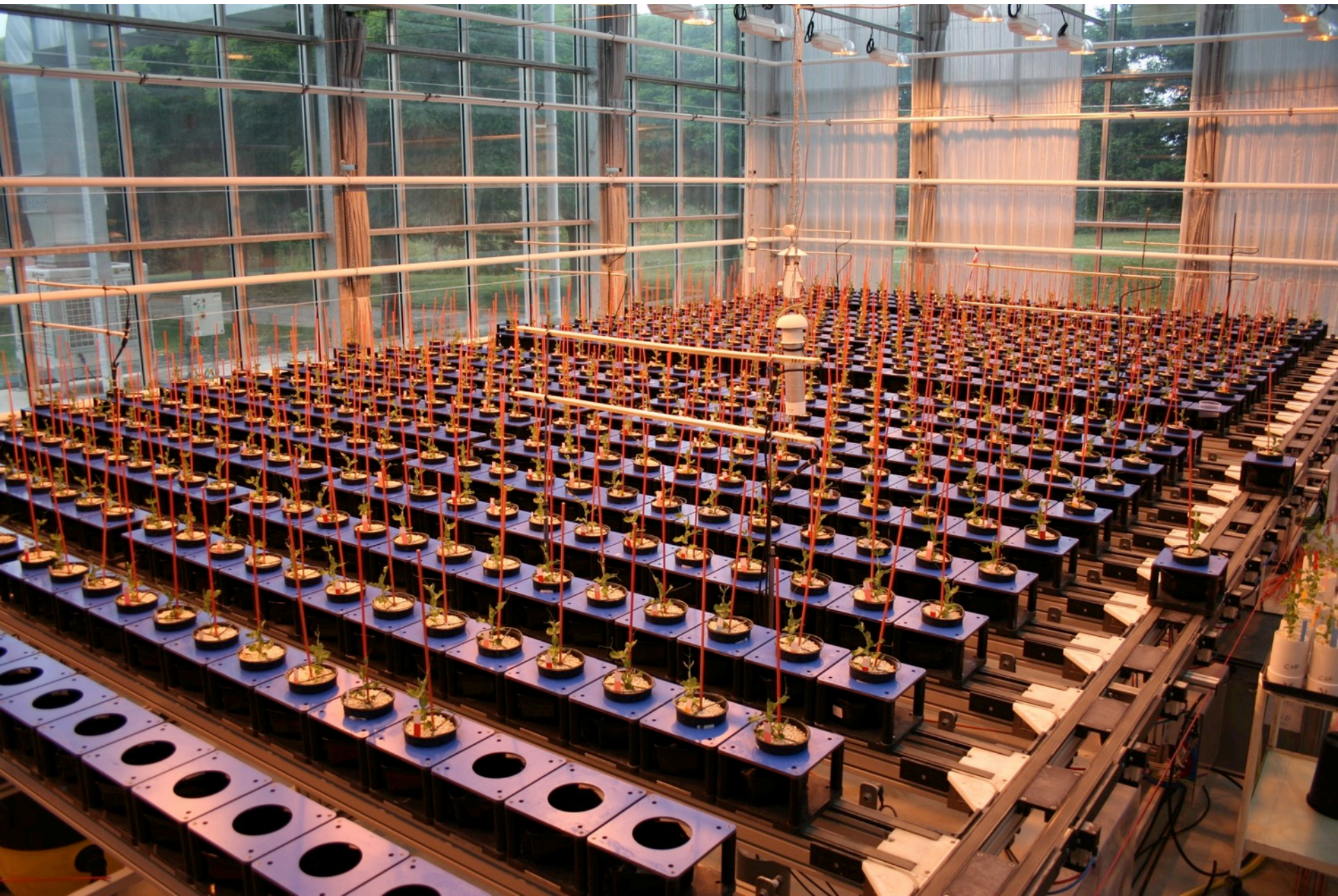
Cabines de phenotyping avec caméras et robots

Capacité \approx 1800 plantes

Très large capacité

100 unités/h





- **Un challenge double: nourrir la planète en préservant l'environnement.. dans un contexte de changement climatique**
- ➔ **Plantes avec des systèmes racinaires plus efficaces:**
 - **Améliorer le prélèvement des ressources, notre compréhension des interactions plantes – micro organismes**

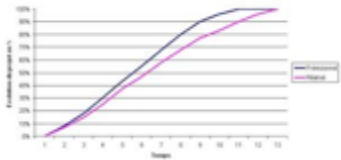
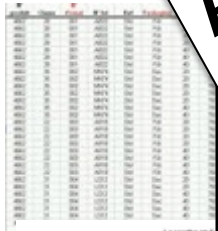
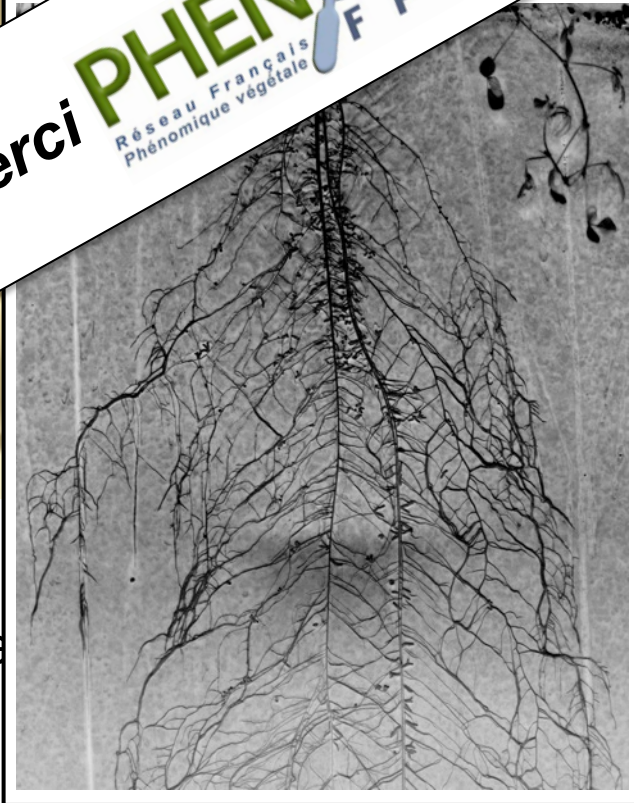
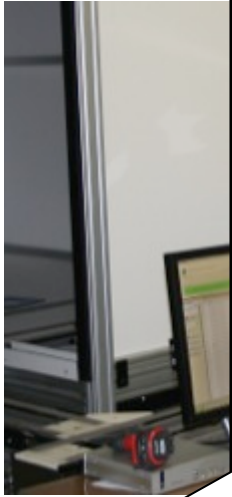
- ✓ **Caractériser les interactions plantes et micro-organismes rhizosphériques.**
 - ✓ **Travaux sur plantes modèles => plantes agrosystèmes**
 - **performance, compétition avec adventices**
 - **traits racinaires en génétique quantitative, d'association**
 - ✓ **Bases moléculaires de l'adaptation de traits structuraux/ fonctionnels aux contraintes (a)biotiques**
- => Dispositifs/méthodes pour phénotyper les systèmes racinaires.**

Méthodologies/outils pour accéder au système racinaire

- Visualiser (récupérer) le système racinaire,
 - à haute résolution,
 - de manière dynamique, automatiquement,
 - pour de nombreuses unités biologiques,
 - estimer traits structuraux (fonctionnels?),
 - éviter des conditions de croissance délétères (O_2 , pH, nutriments..).
-
- ✓ **Etudier les interactions plante-plante and plante-micro-organismes**
 - ✓ **Pour des plantes d'agrosystème (pas que modèles)**

Rhizotrons Brevet EU INRA-Inoviaflow

RhizotubeHD et Rhizocab, merci

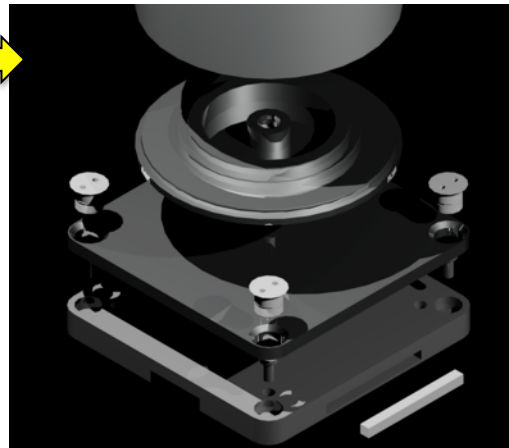
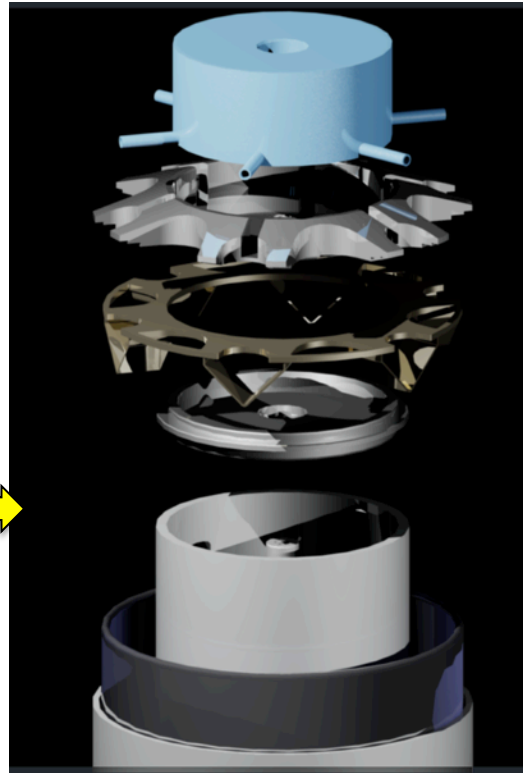
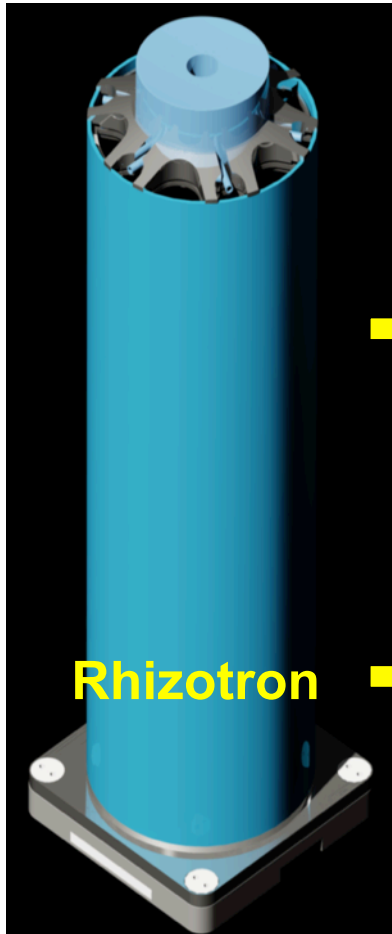


typique
a
le area

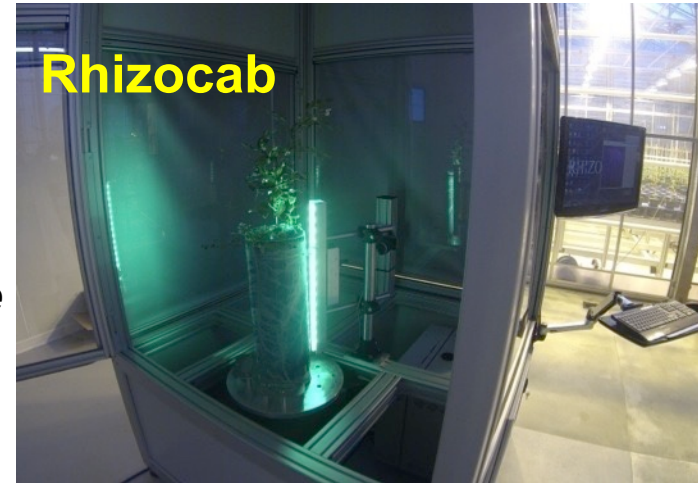
total nodule number
nodule size classification
total root length....

Haute résolution

Rhizotube HD... and RhizoCab



Standalone

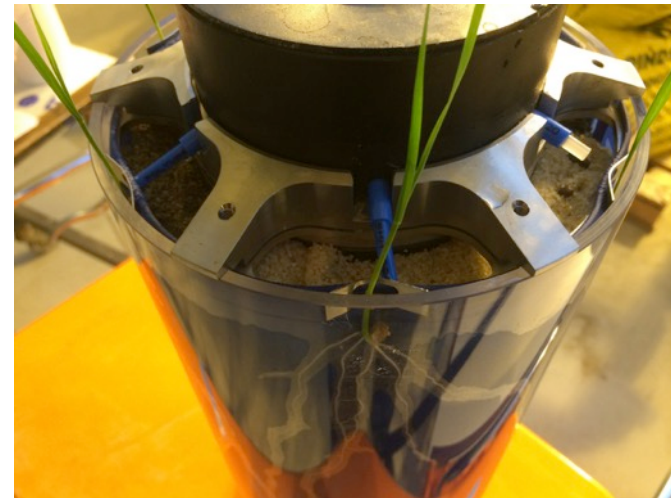
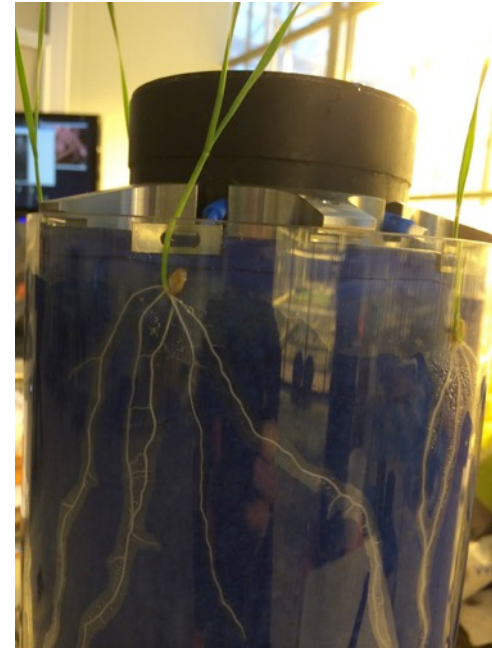
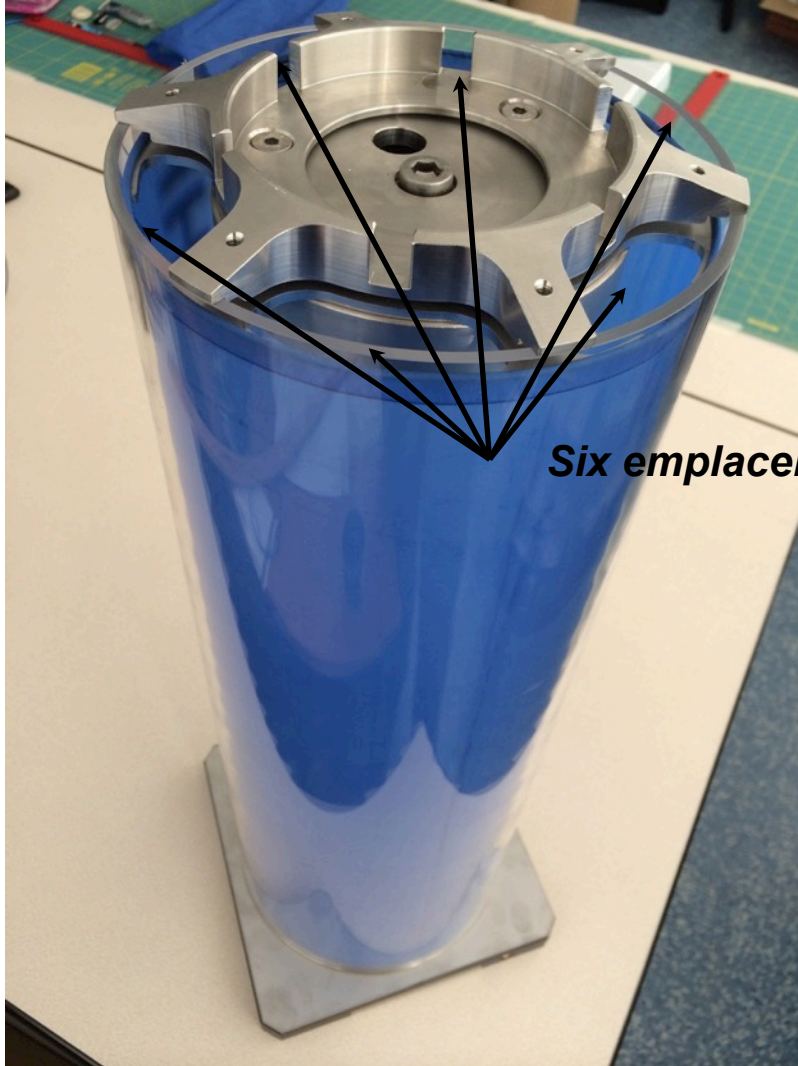


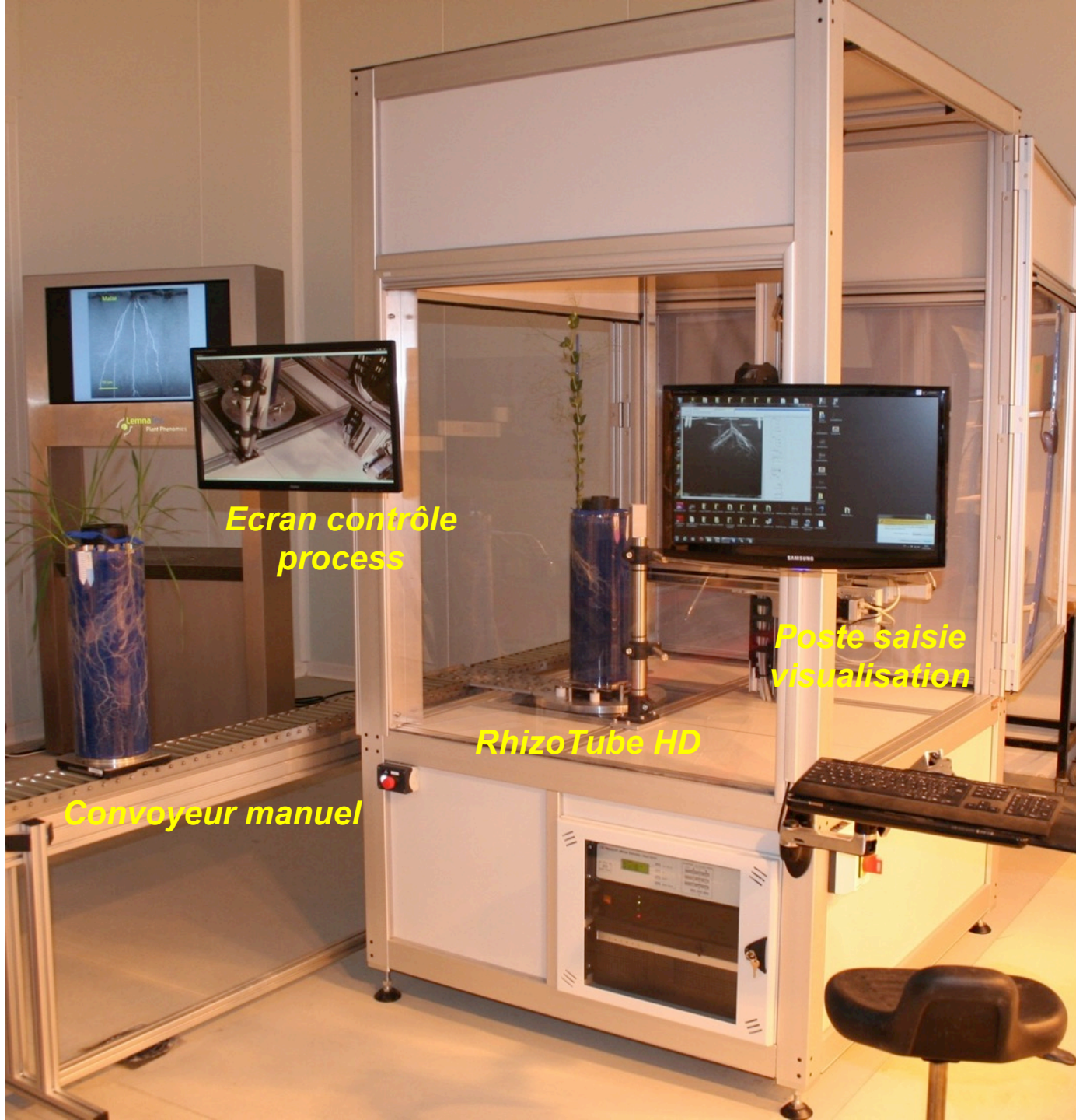
Transfert de technologie



Adaptation de la base





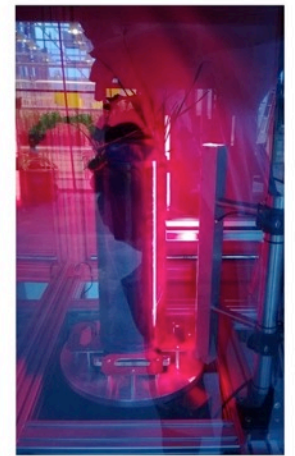


*Ecran contrôle
process*

*Poste saisie
visualisation*

RhizoTube HD

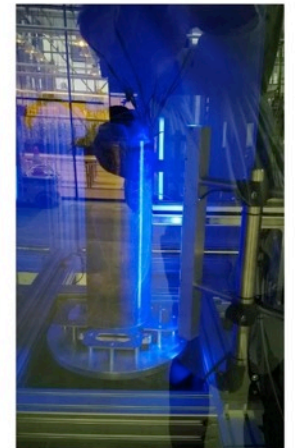
Convoyeur manuel



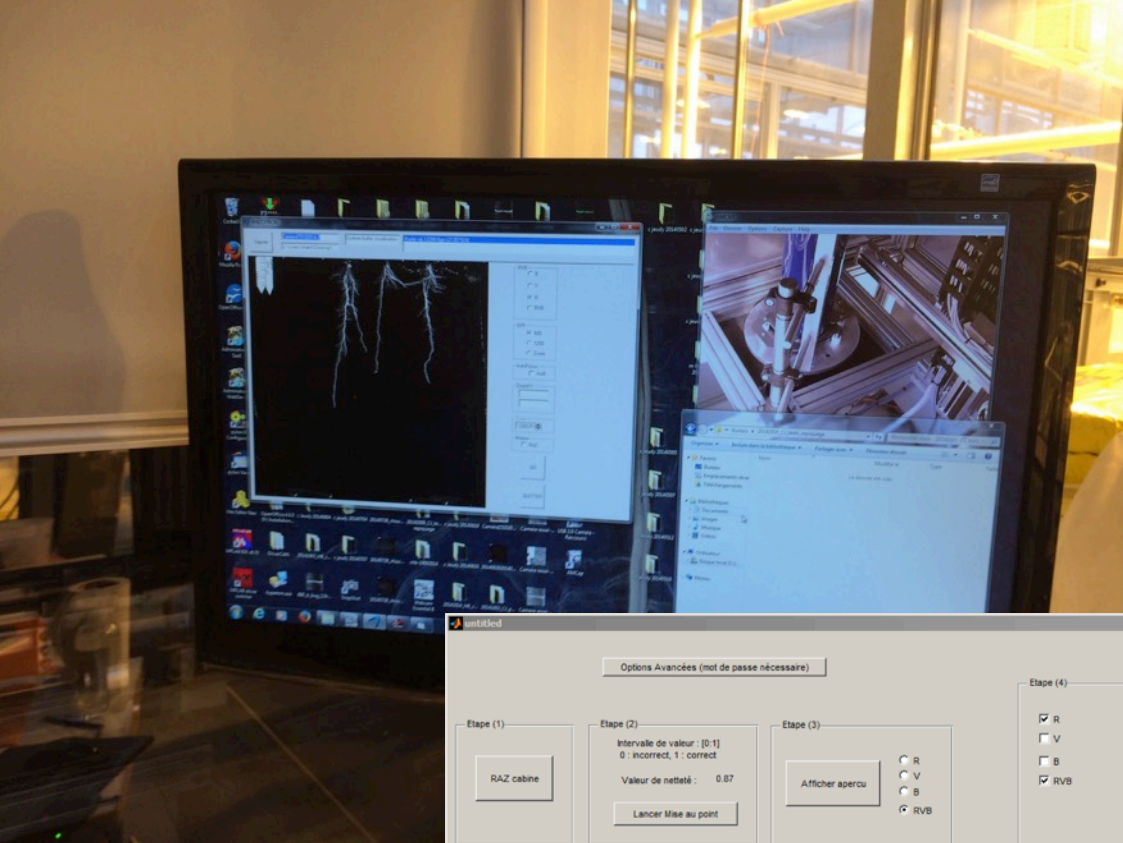
Rouge



Vert



Bleu



Options Avancées (mot de passe nécessaire)

Etape (1) RAZ cabine

Etape (2) Intervalle de valeur : [0;1]
0 : incorrect, 1 : correct
Valeur de netteté : 0.87
Lancer Mise au point

Etape (3) Afficher aperçu R V B RVB

Etape (4) R 600dpi (full) 1200dpi (full) V Zoom 1200 dpi Position X 12000 Position Y 6000

Etape (5) Référence Expérimentation BOM Référence rhizotron Rhizo 001 Opérateur Jeud Dossier d'enregistrement C:\dossier_images\ Parcourir

Etape (6) Lancer Acquisition Arrêter Acquisition

APERCU 600dpi (Etape 3) X Y 0 50mm

VERIFICATION DE L'ACQUISITION 600dpi (Etape 6) 20140612_BOM_Rhizo001_600dpi_R_M_Jeud_001.bmp 0 50mm

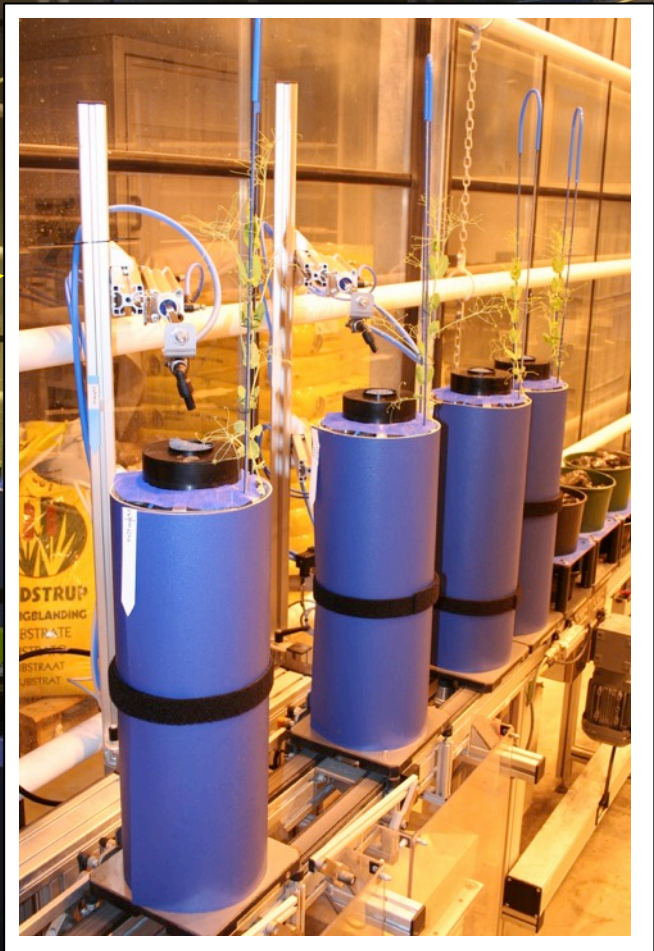
Etape (7) Liste des images qui seront générées lors de cette acquisition
20140612_BOM_Rhizo001_600dpi_R_M_Jeud_001.bmp
20140612_BOM_Rhizo001_600dpi_RVB_M_Jeud_001.bmp
20140612_BOM_Rhizo001_600dpi_R_X12000_Y6000_Jeud_001.bmp
20140612_BOM_Rhizo001_600dpi_RVB_X12000_Y6000_Jeud_001.bmp
20140612_BOM_Rhizo001_1200dpi_R_X12000_Y6000_Jeud_001.bmp
20140612_BOM_Rhizo001_1200dpi_RVB_X12000_Y6000_Jeud_001.bmp
4

Remarques écrites manuellement pour cette acquisition : listing problèmes etc.
A enregistrer sous la forme :
20140612_BOM_Rhizo001_Jeud.bt
Si vide, ne pas enregistrer

Vider la liste

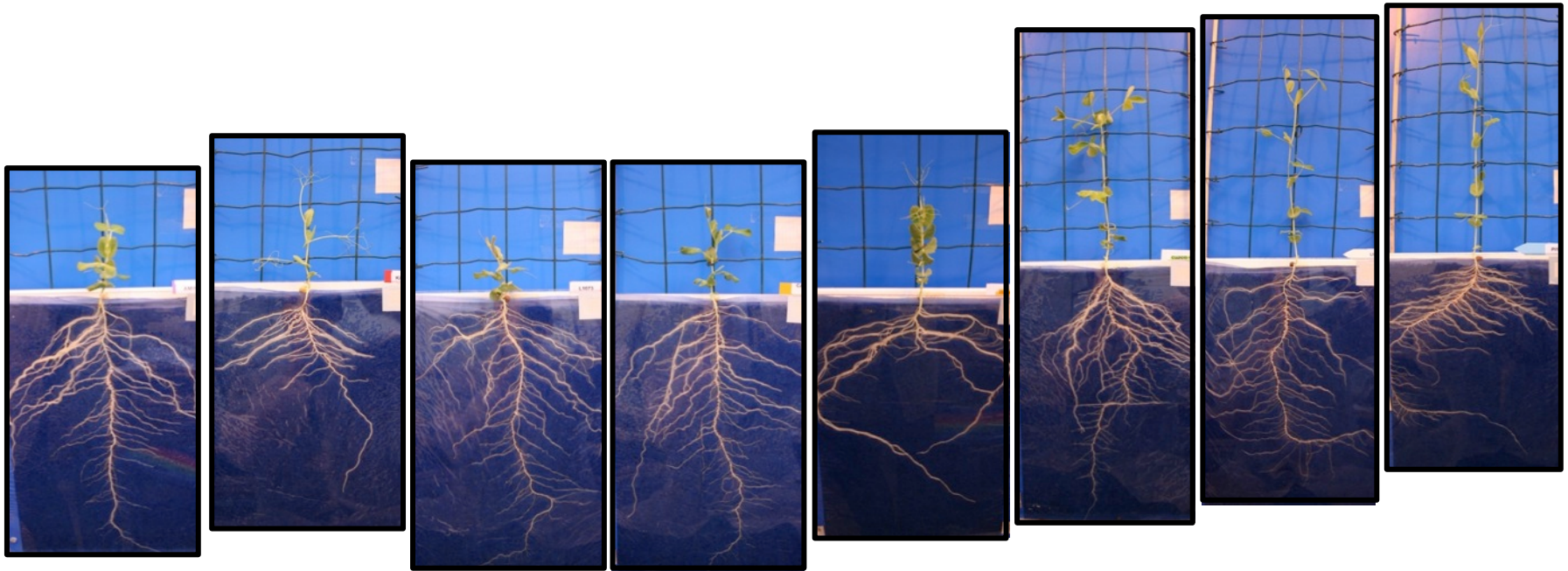
Statuts - description de ce qui se passe pour informer l'utilisateur.

Sauver Supprimer





*Pea core collection
(coll. V Bourion, G Duc, J Burstin)*



AMINO

KAYANNE

L1073

CAMEOR

ISARD

CUZCO

LIVIOLETTA

PI186093

Description level 1 :

Root projected surface

Nodule projected surface

Nodule number

Total root length

Root prospection

Description level 2 :

Main root length

Longest lateral root length

Number of lateral roots

Number of secondary roots on lateral roots

Number of nodules on each root

Nodule positions (individual and by class) on all of the roots and distances

Apical diameter of roots

« Convention » :

Number: total and by segment-segment length

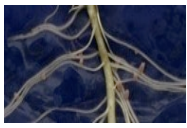
Projected surface : individual and by class

Position: : individual and by class

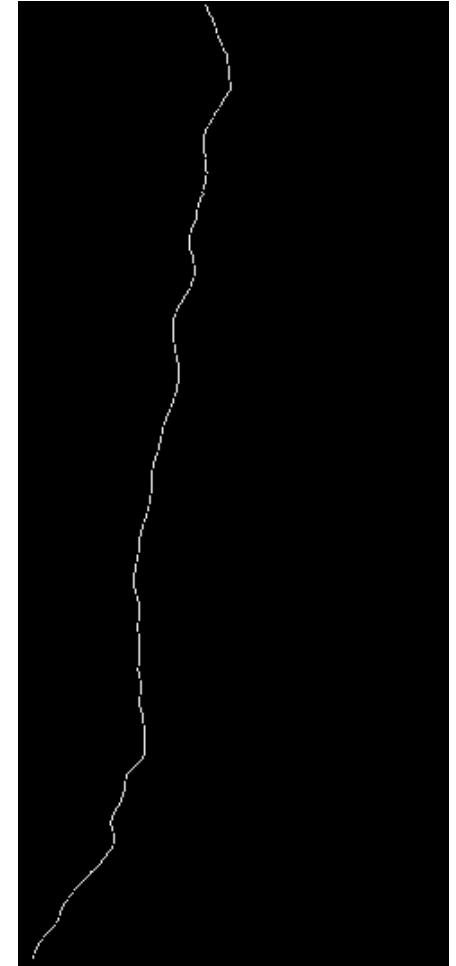
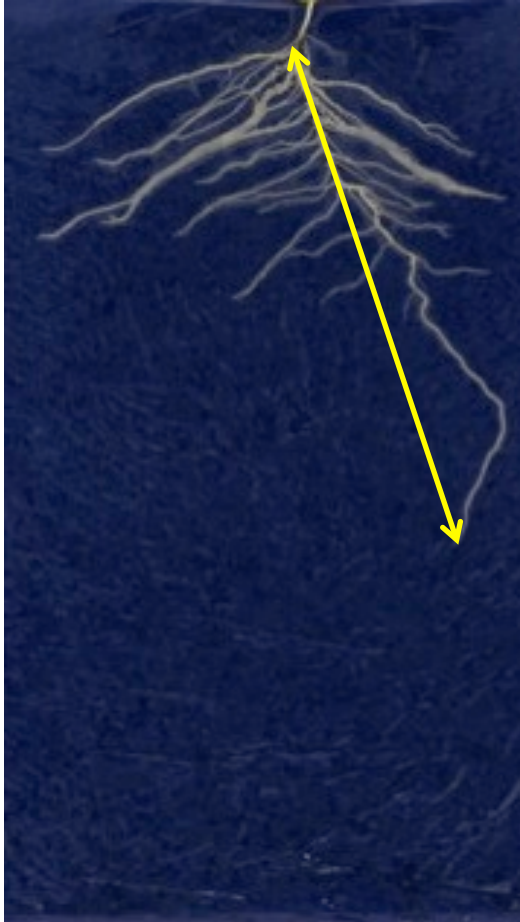
Nodule efficiency : individual and by class

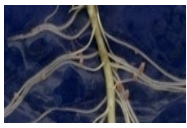
Estimated biovolume : a root = cylinder

Biomass estimation by calibration

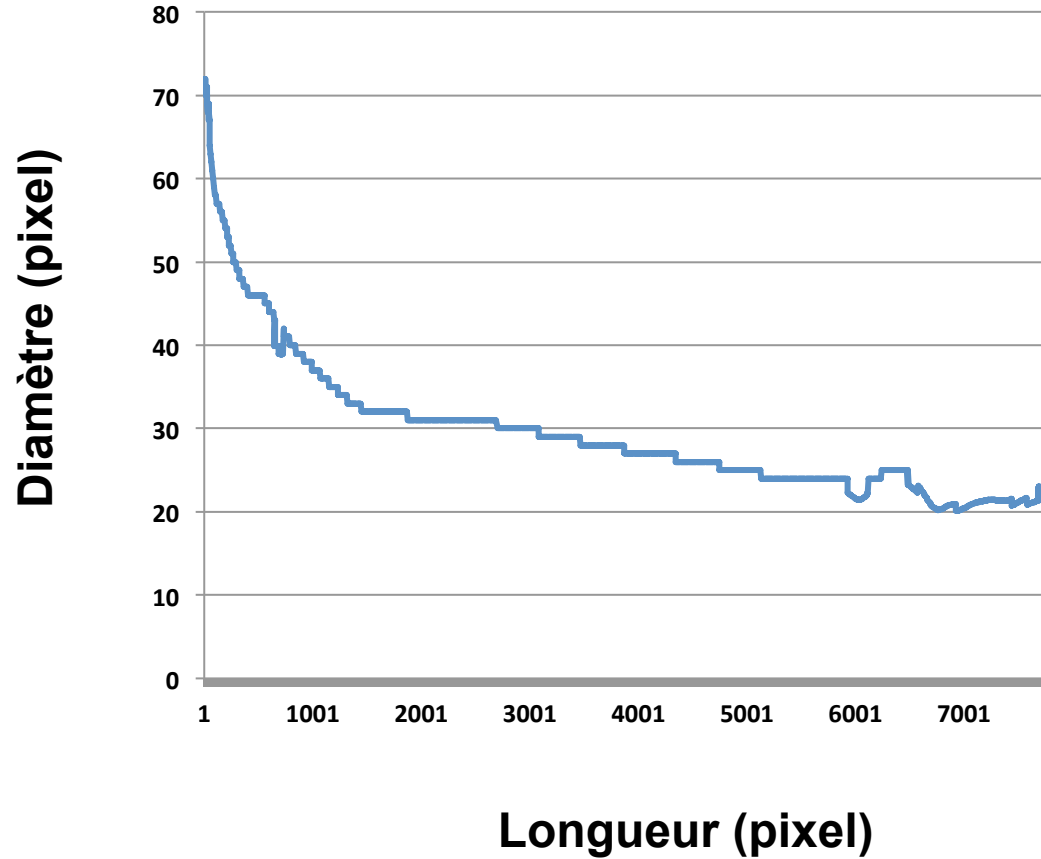
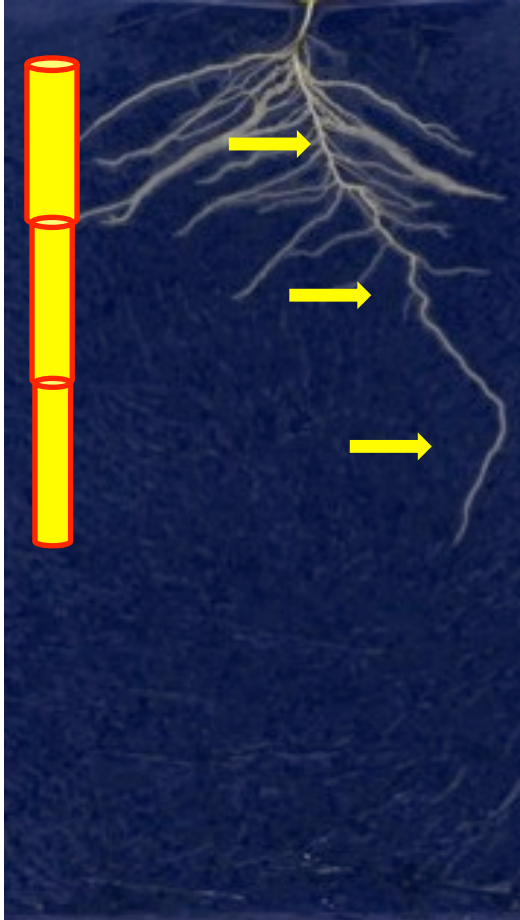


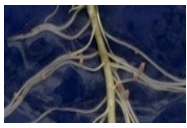
Racines: Longueur





Racines: Longueur, diamètre





Racines: Longueur, diamètre, surface projetée

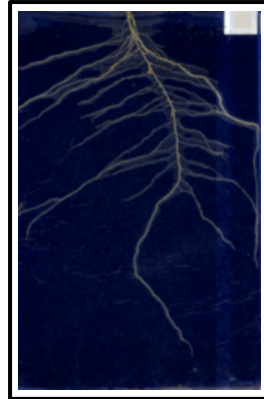
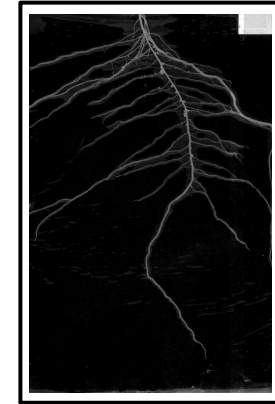


Image originale (A)



Meilleure bande

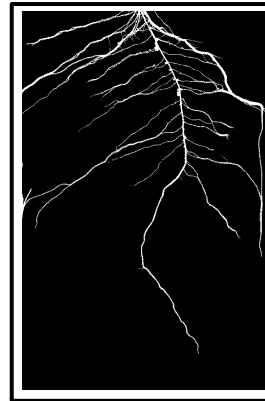
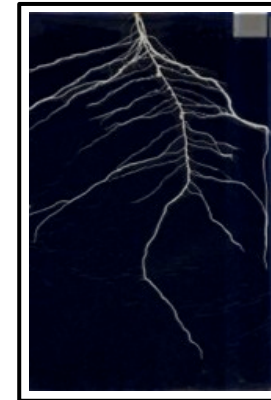
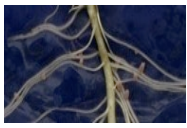


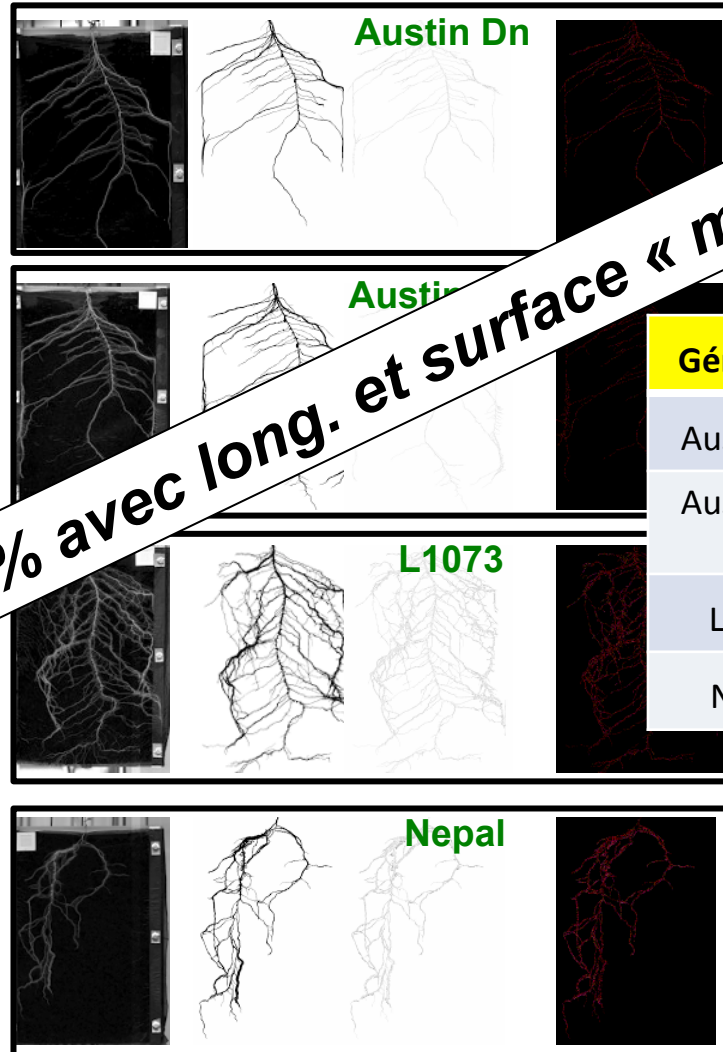
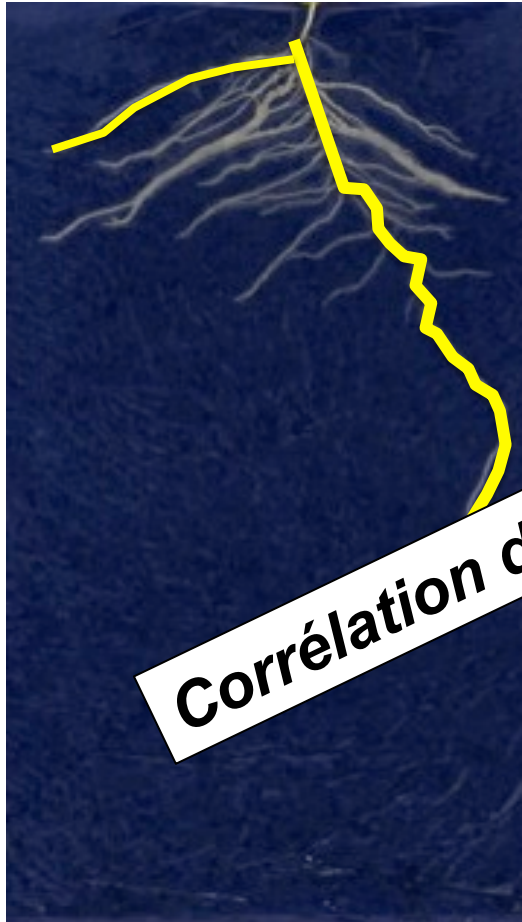
Image binaire (B)



Superposition (B/A)

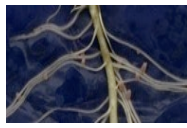


Racines: Longueur, diamètre, surface projetée

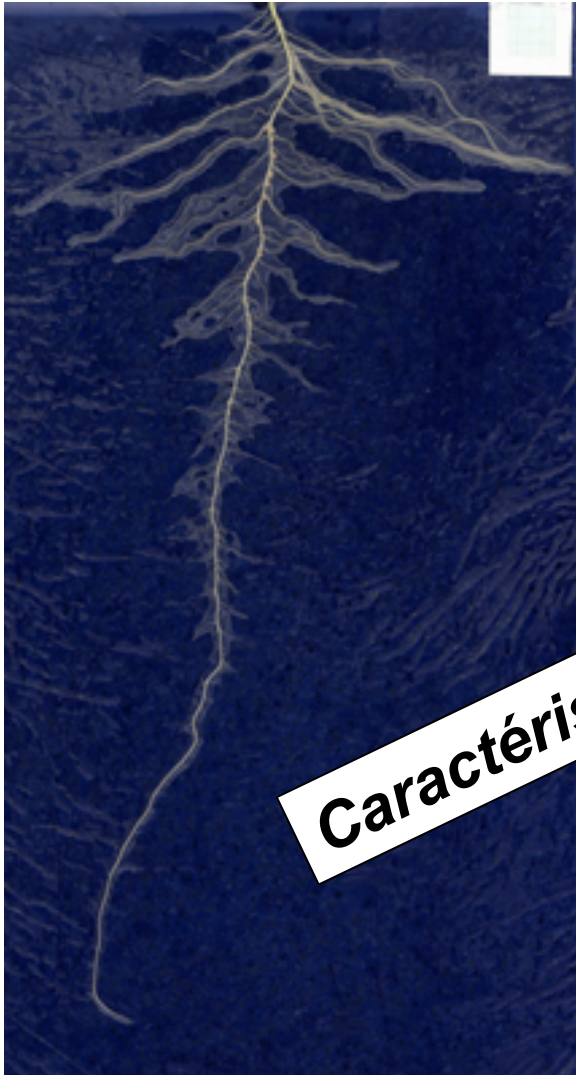


Corrélation de 95% avec long. et surface « manuelles »

Génotype	Surface	Longeur
Austin Dn	38 cm ²	38cm
Austin Dn +5	58 cm ²	40cm
L1073	105 cm ²	40cm
Nepal	39 cm ²	35 cm



Racines: Longueur, diamètre, surface projetée



Jour n

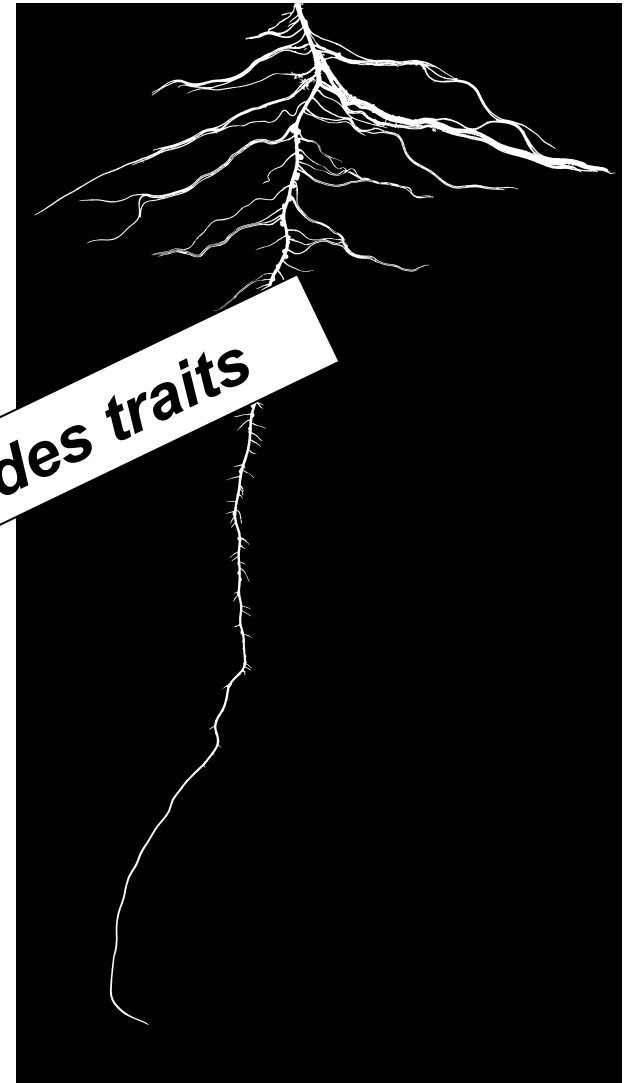
Jour n+1

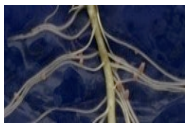
Jour n+2

Jour n+3

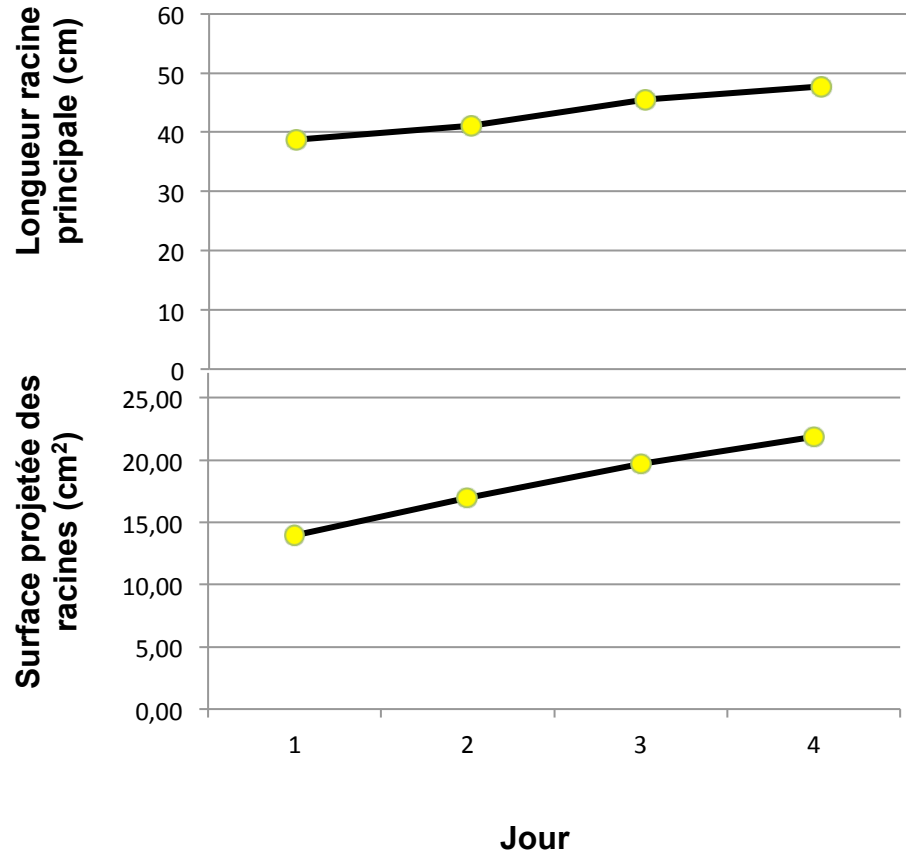
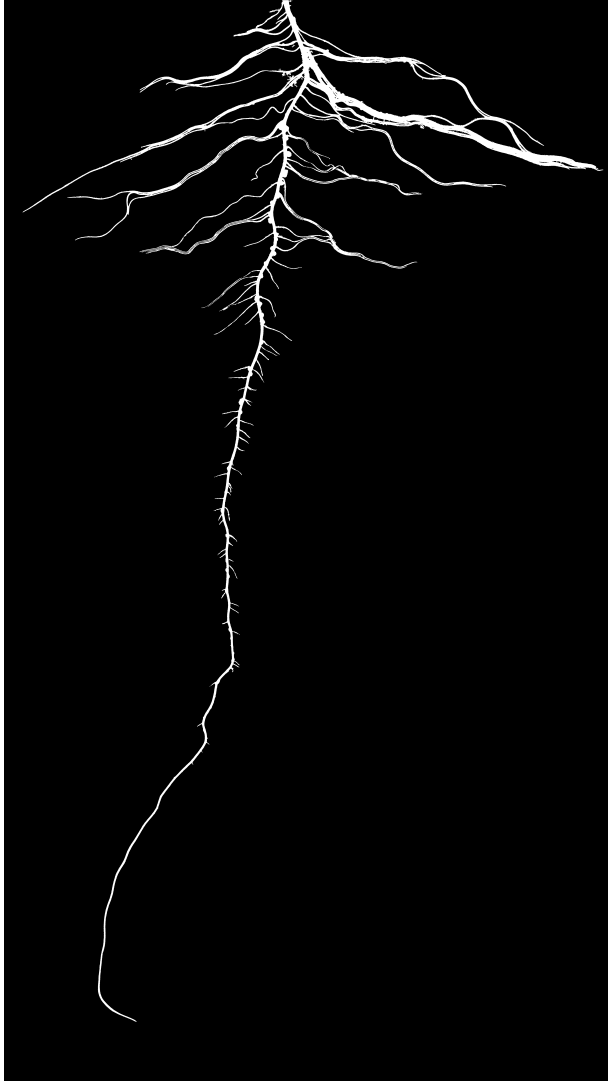
Jour

Caractérisation dynamique des traits



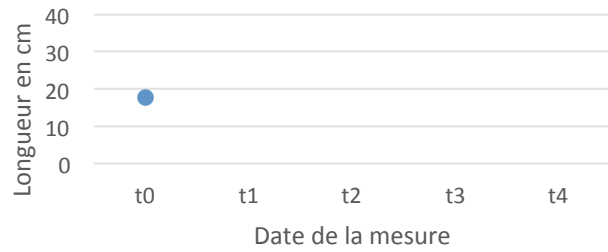


Racines: Longueur, diamètre, surface projetée



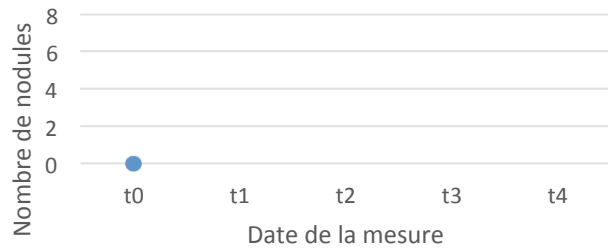
Cinétique 1

—●— Longueur du pivot



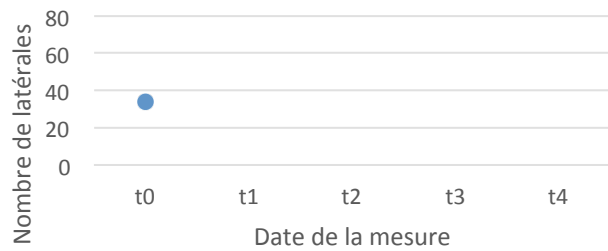
Cinétique 2

—●— Nombre nodules sur le pivot



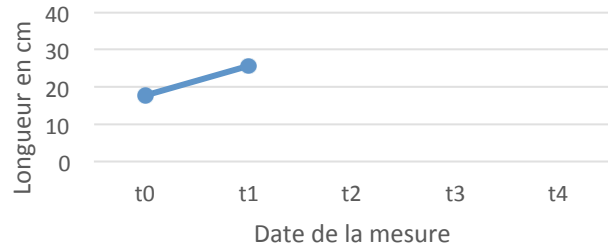
Cinétique 3

—●— Nombre de latérales sur le pivot



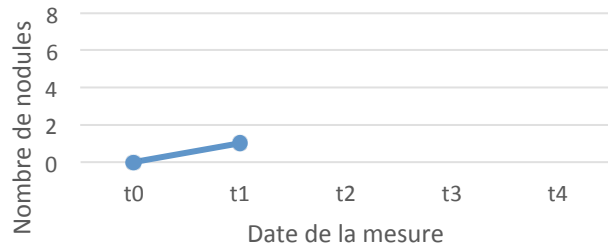
Cinétique 1

—●— Longueur du pivot



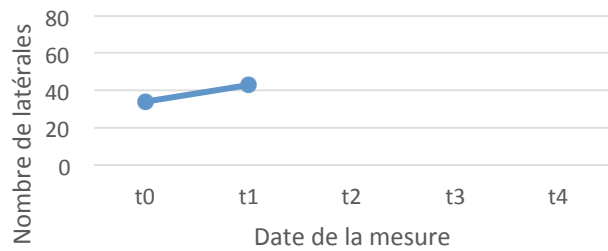
Cinétique 2

—●— Nombre nodules sur le pivot



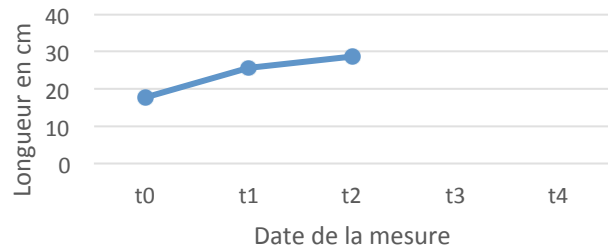
Cinétique 3

—●— Nombre de latérales sur le pivot



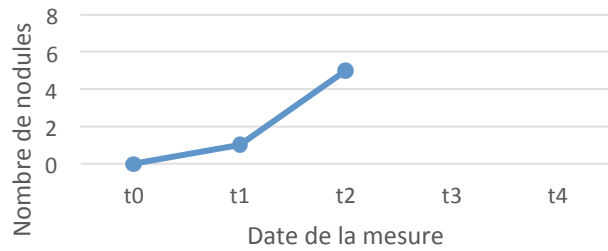
Cinétique 1

—●— Longueur du pivot



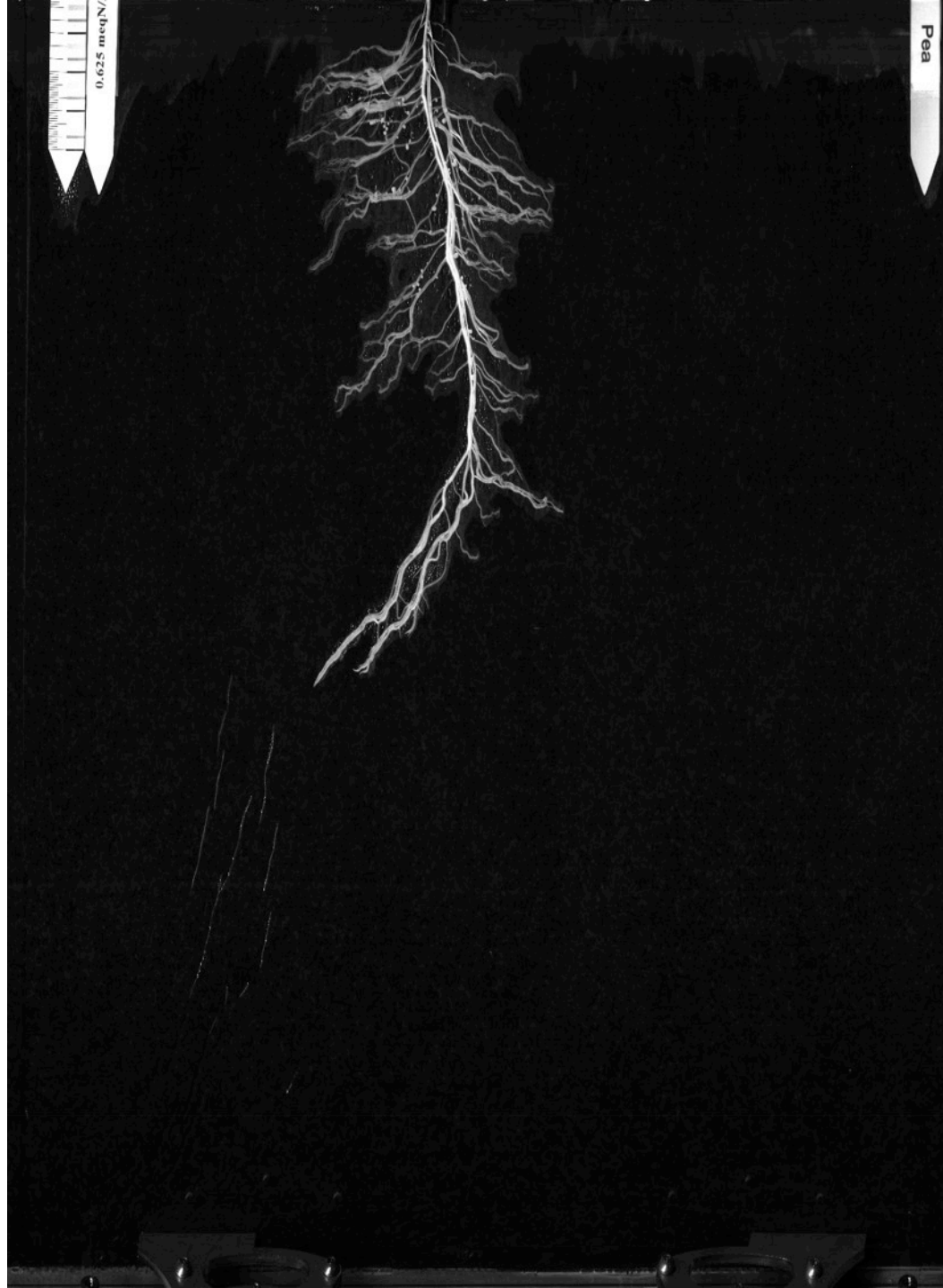
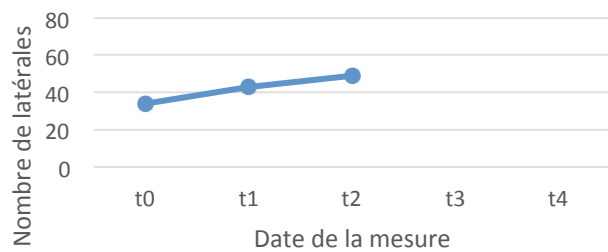
Cinétique 2

—●— Nombre nodules sur le pivot



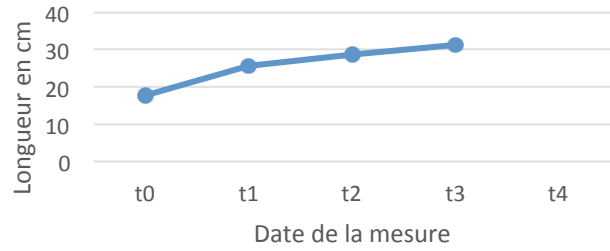
Cinétique 3

—●— Nombre de latérales sur le pivot



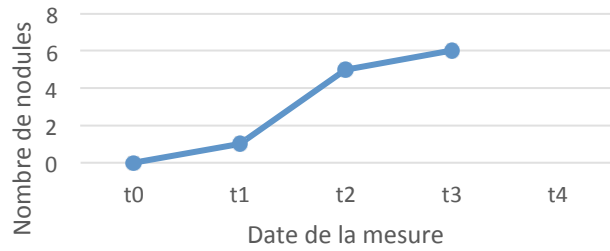
Cinétique 1

—●— Longueur du pivot



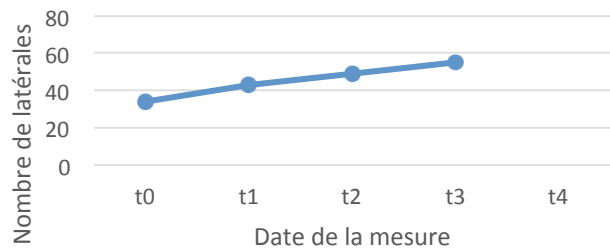
Cinétique 2

—●— Nombre nodules sur le pivot



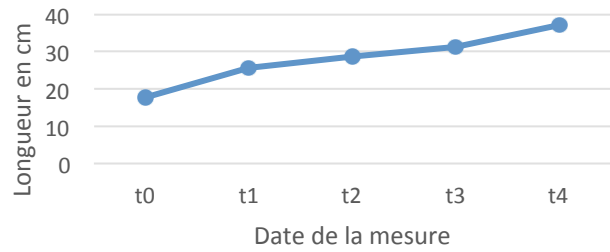
Cinétique 3

—●— Nombre de latérales sur le pivot



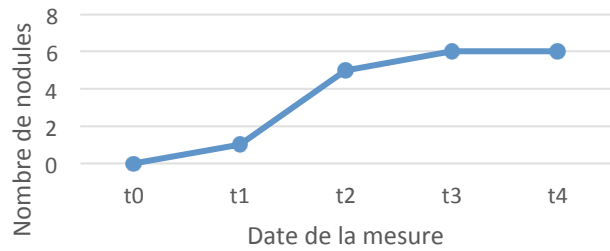
Cinétique 1

—●— Longueur du pivot



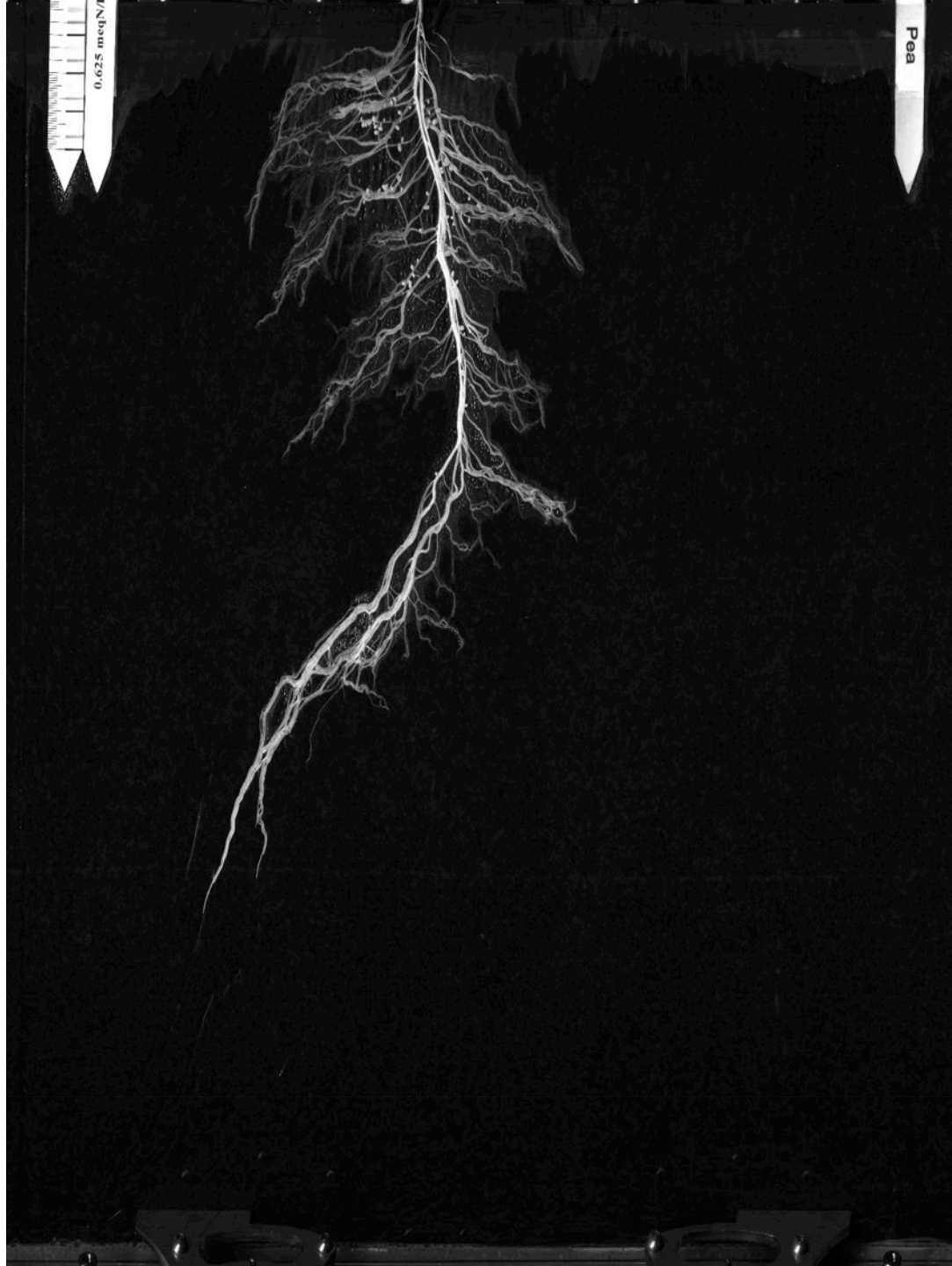
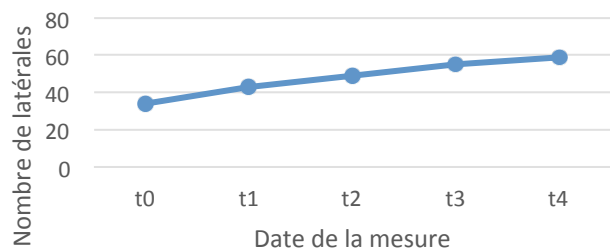
Cinétique 2

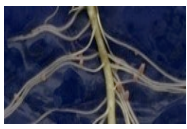
—●— Nombre nodules sur le pivot



Cinétique 3

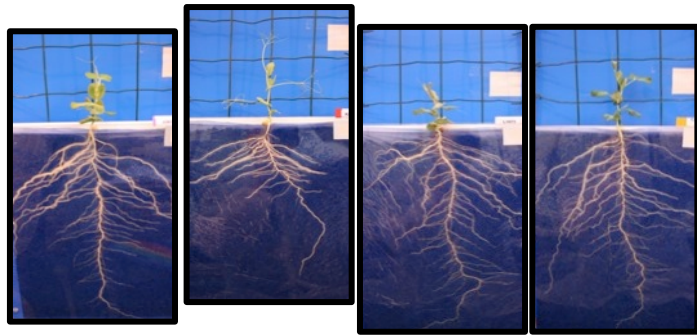
—●— Nombre de latérales sur le pivot



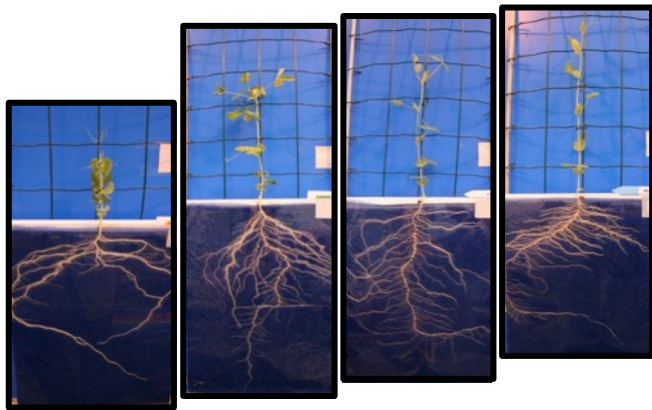


Racines: Longueur, diamètre, surface projetée, **biovolume**

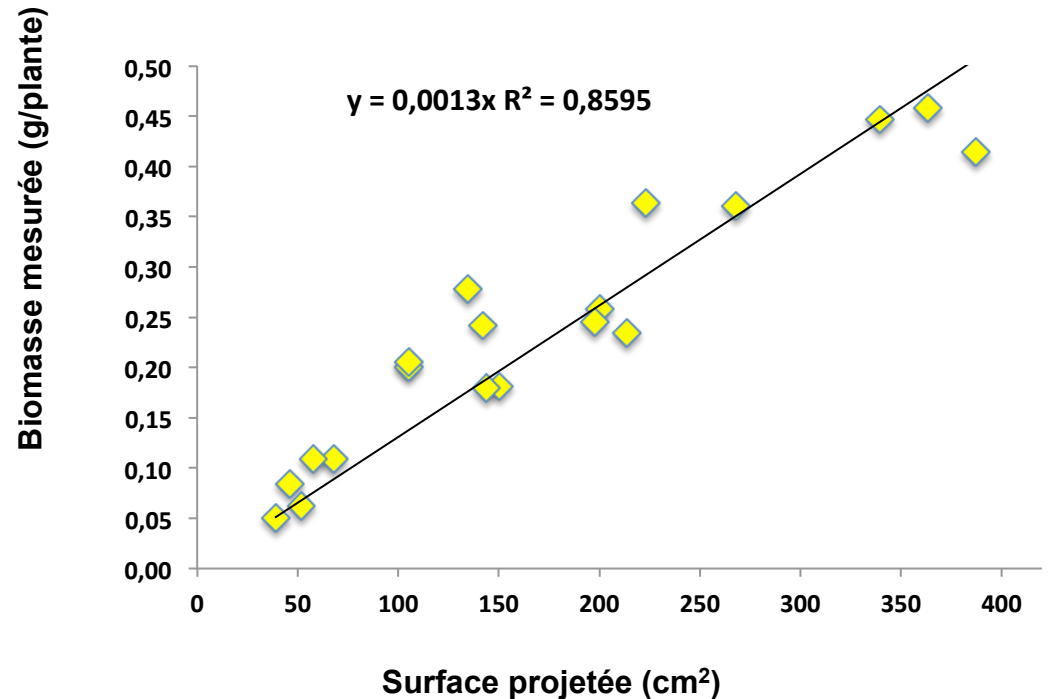
Pea core collection (coll. V Bourion, G Duc, J Burstin)

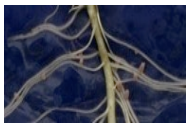


AMINO KAYANNE L1073 CAMEOR



ISARD CUZCO LIVIOLETTA PI186093

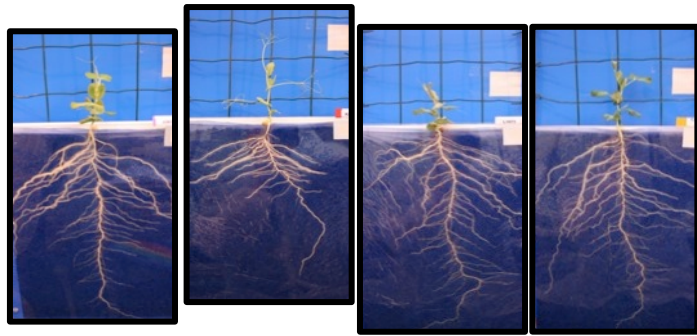




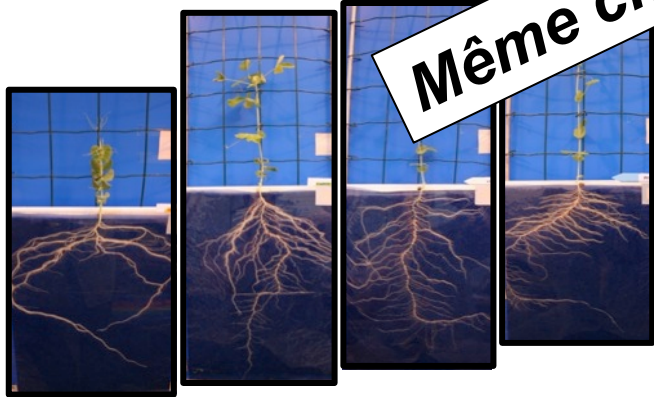
Traits phénotypiques, exemples

Racines: Longueur, diamètre, surface projetée, **biovolume = f(conditions)**

Pea core collection (coll. V Bourion, G Duc, J Burstin)

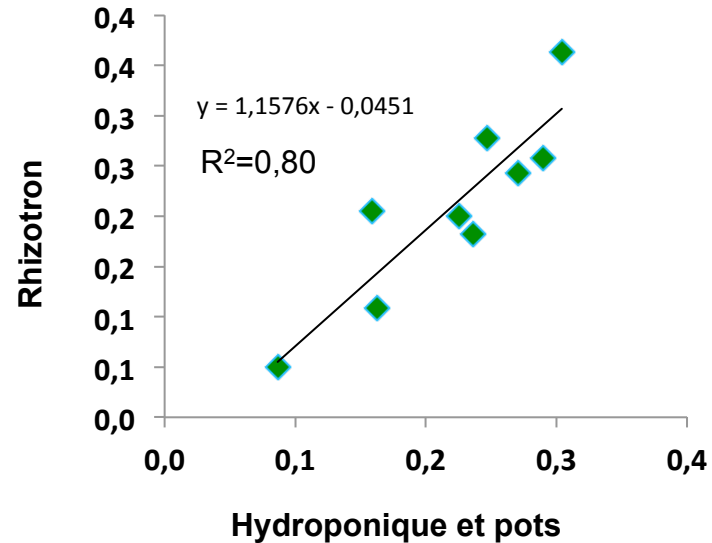
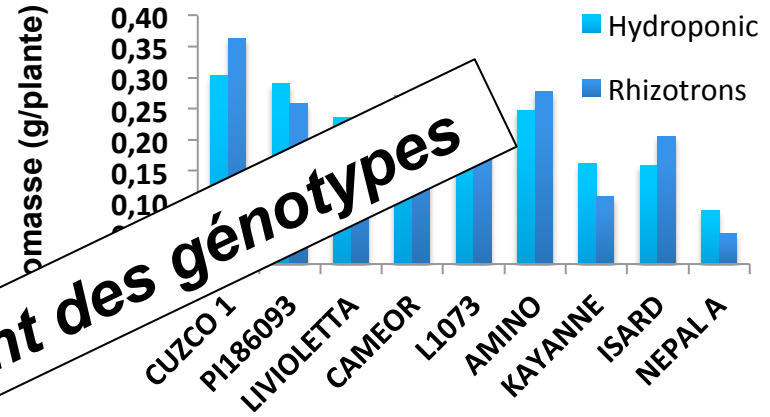


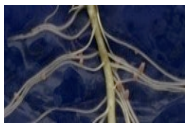
AMINO KAYANNE L1073 CAMEOR



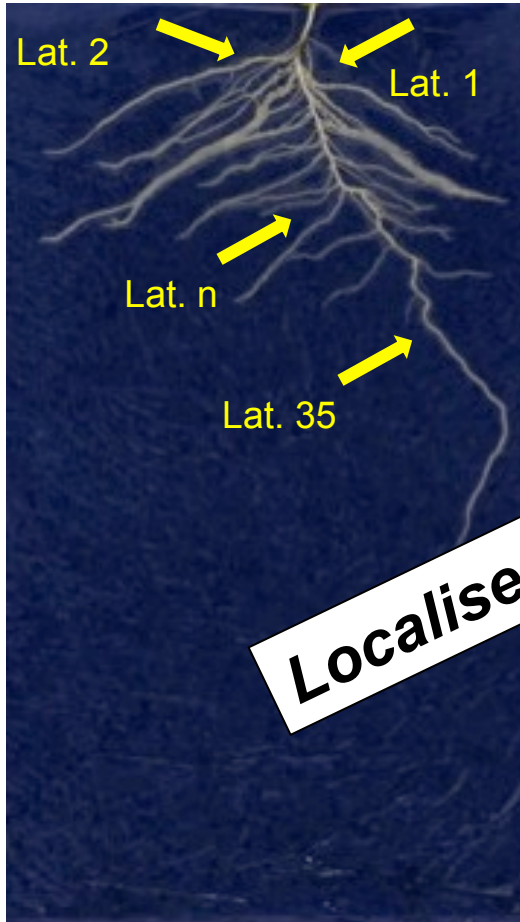
ISARD CUZCO LIVIOLETTA PI186093

Même classement des génotypes

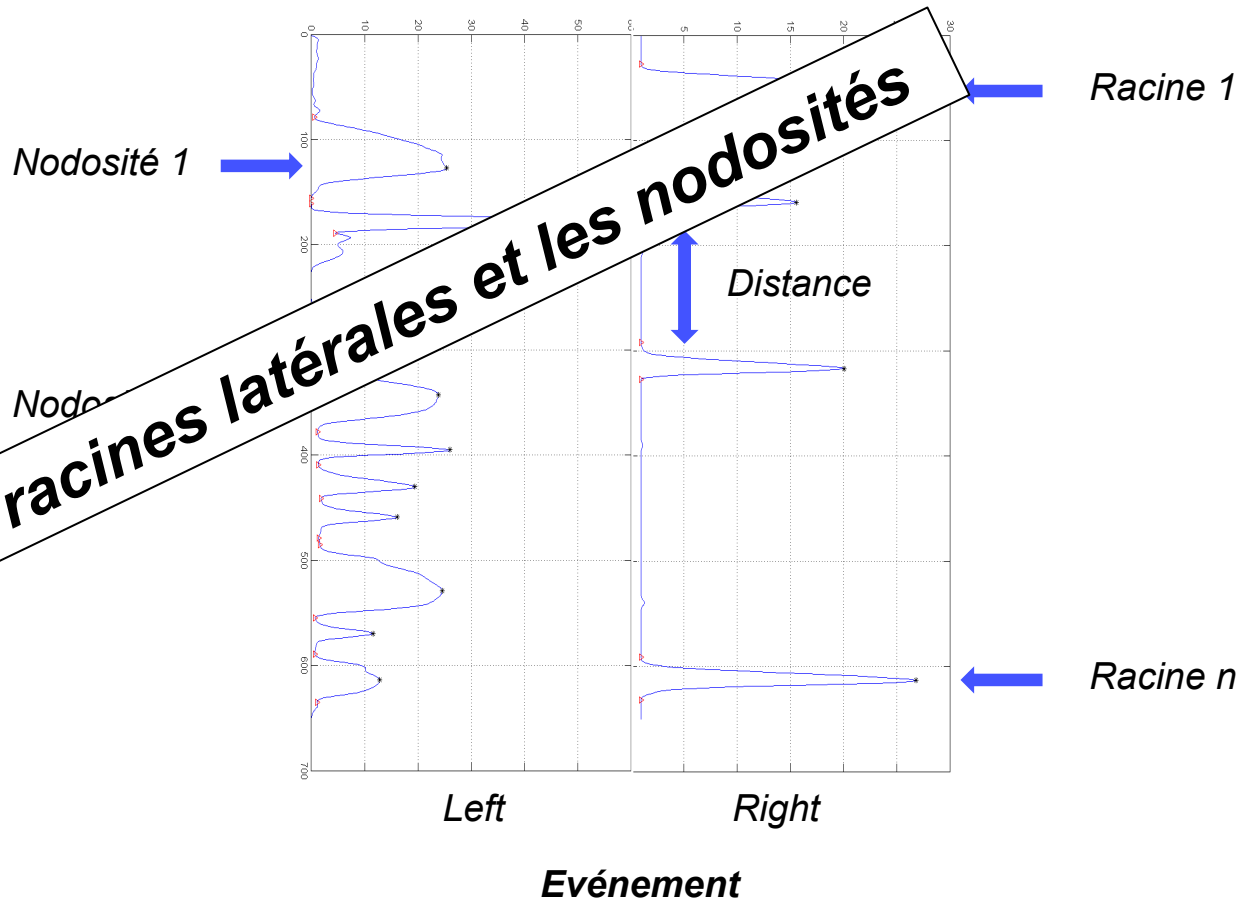




Racines: Longueur, diamètre, surface projetée, biovolume, événements

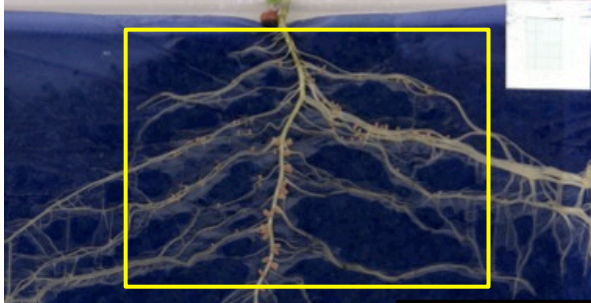


Localise les racines latérales et les nodosités

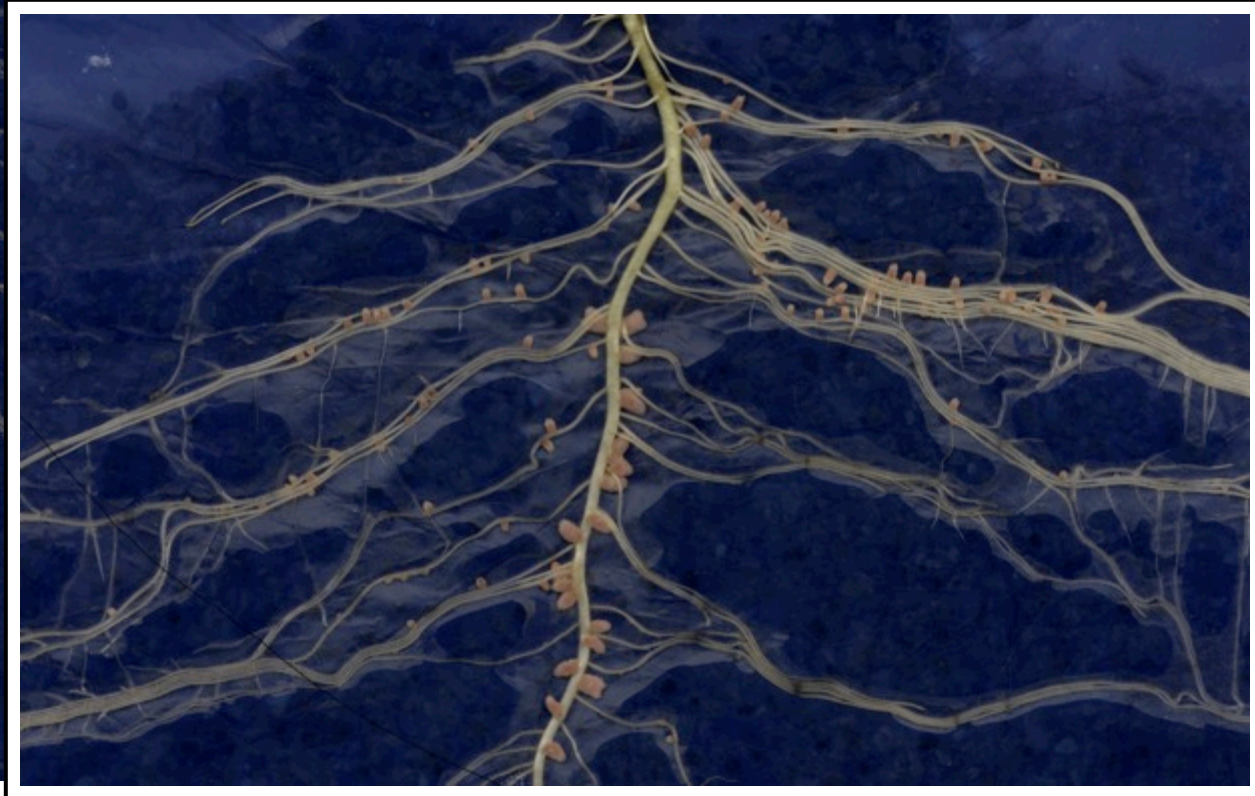




Nodosités: Nombre

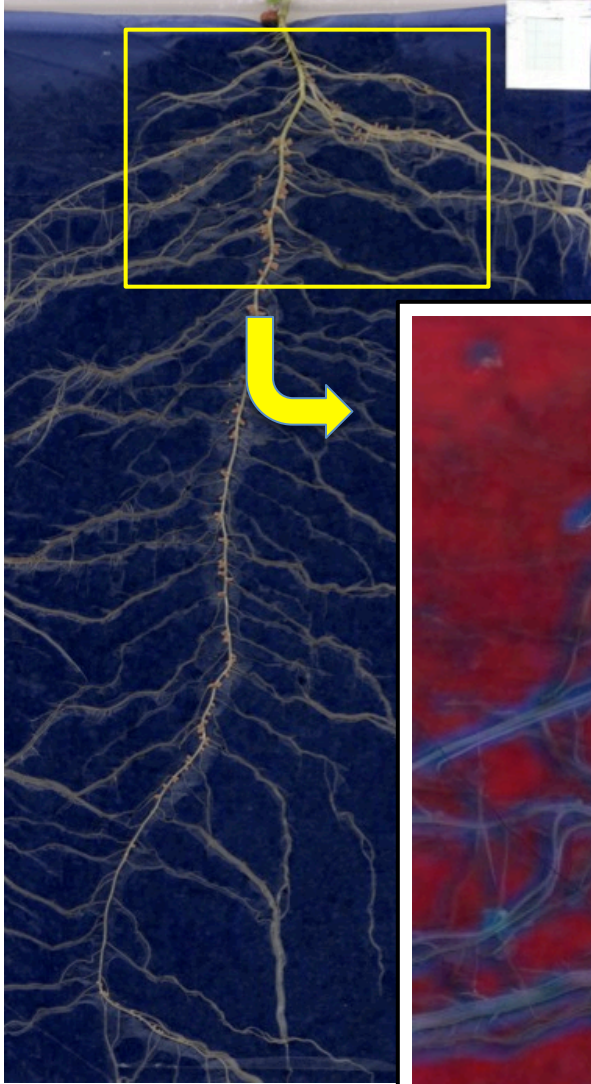


Focus sur image

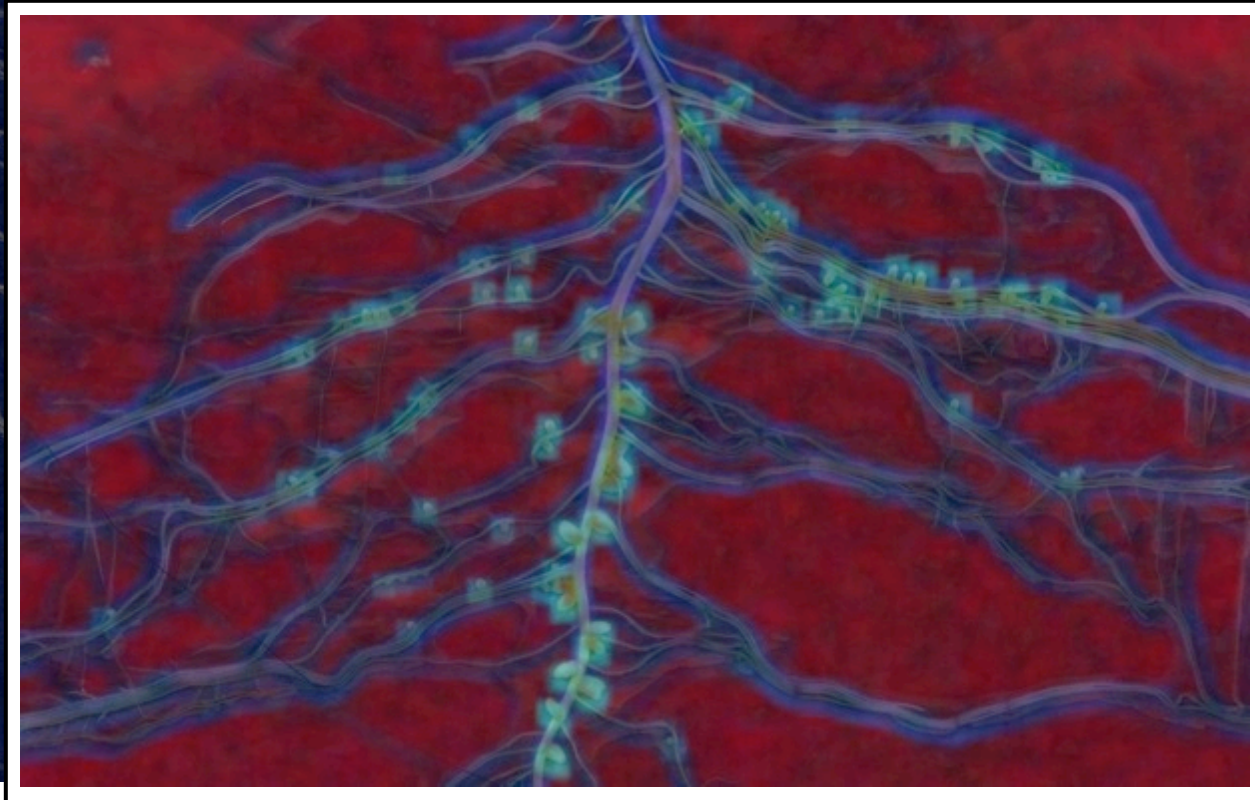




Nodosités: Nombre



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





Nodosités: Nombre

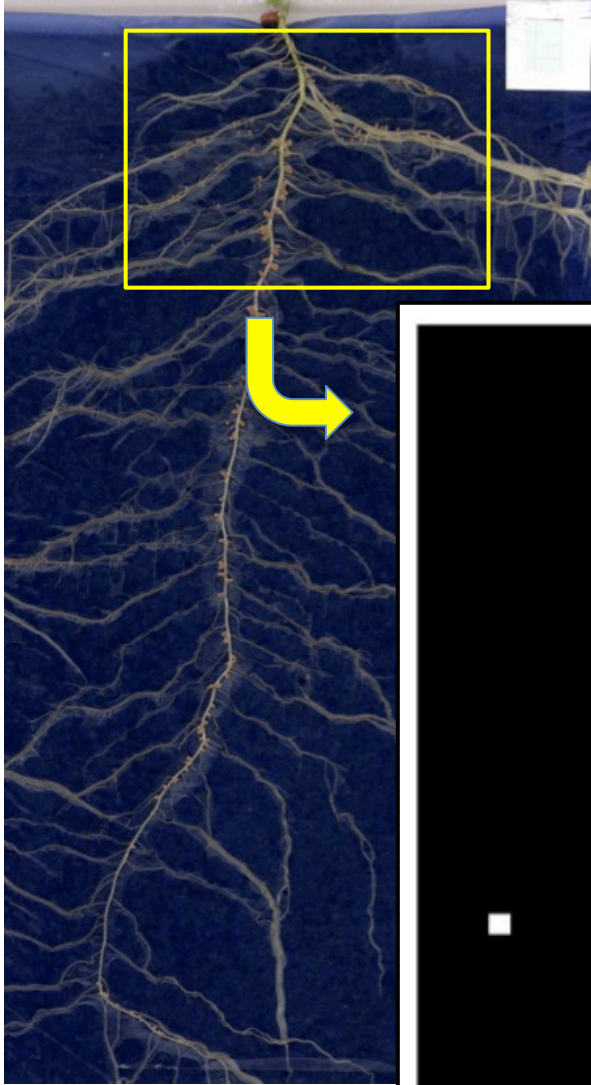


Image avec nodosités





Nodosités: Nombre

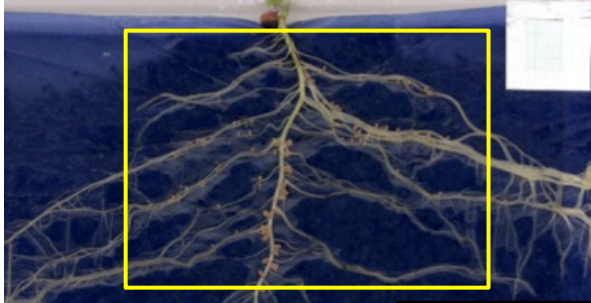
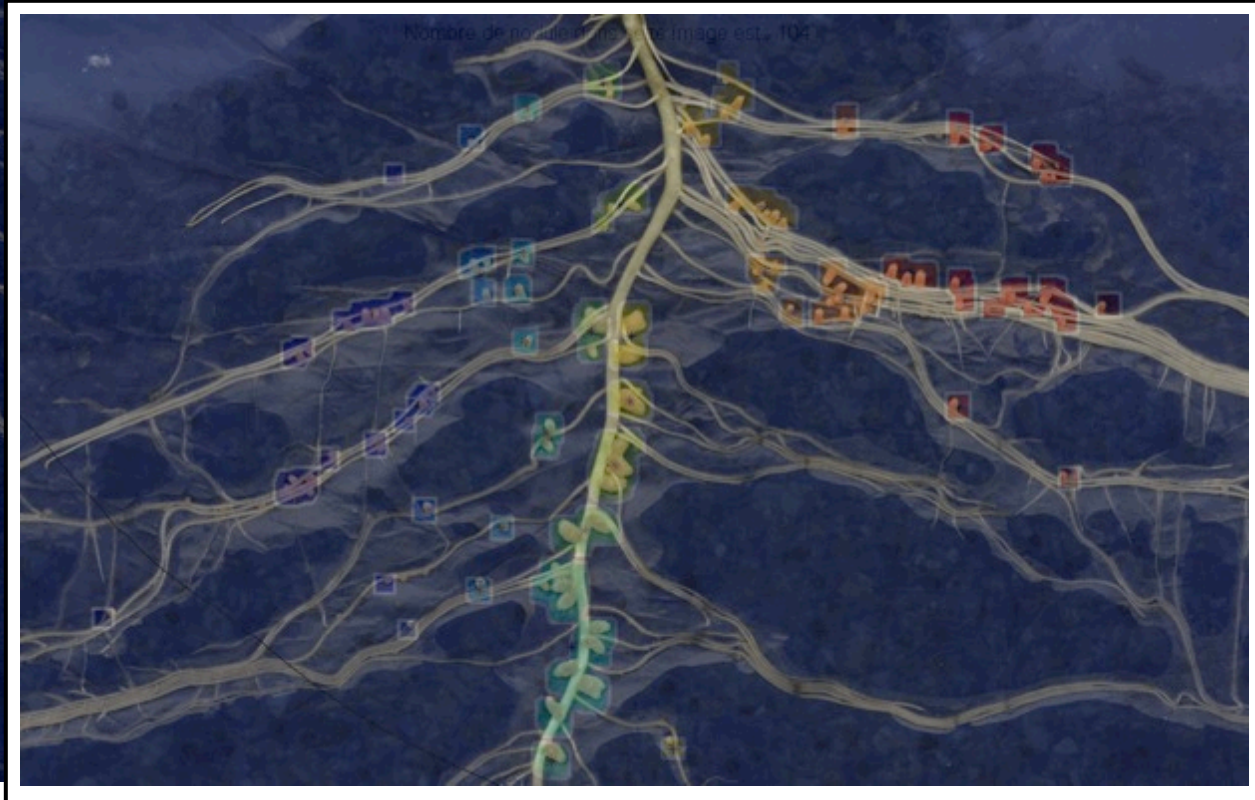
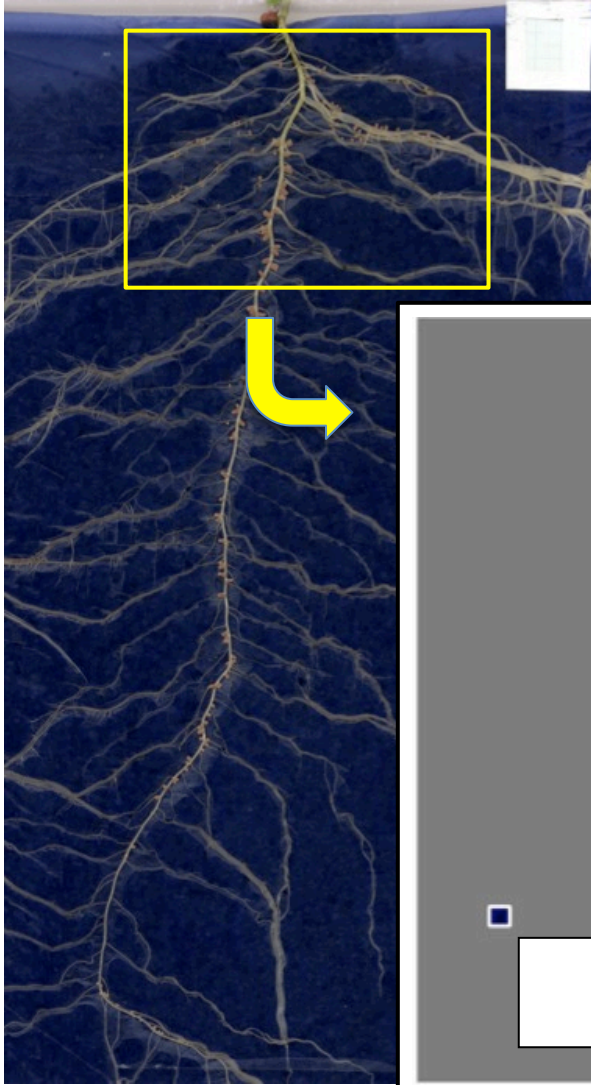


Image originale + nodosités détectées

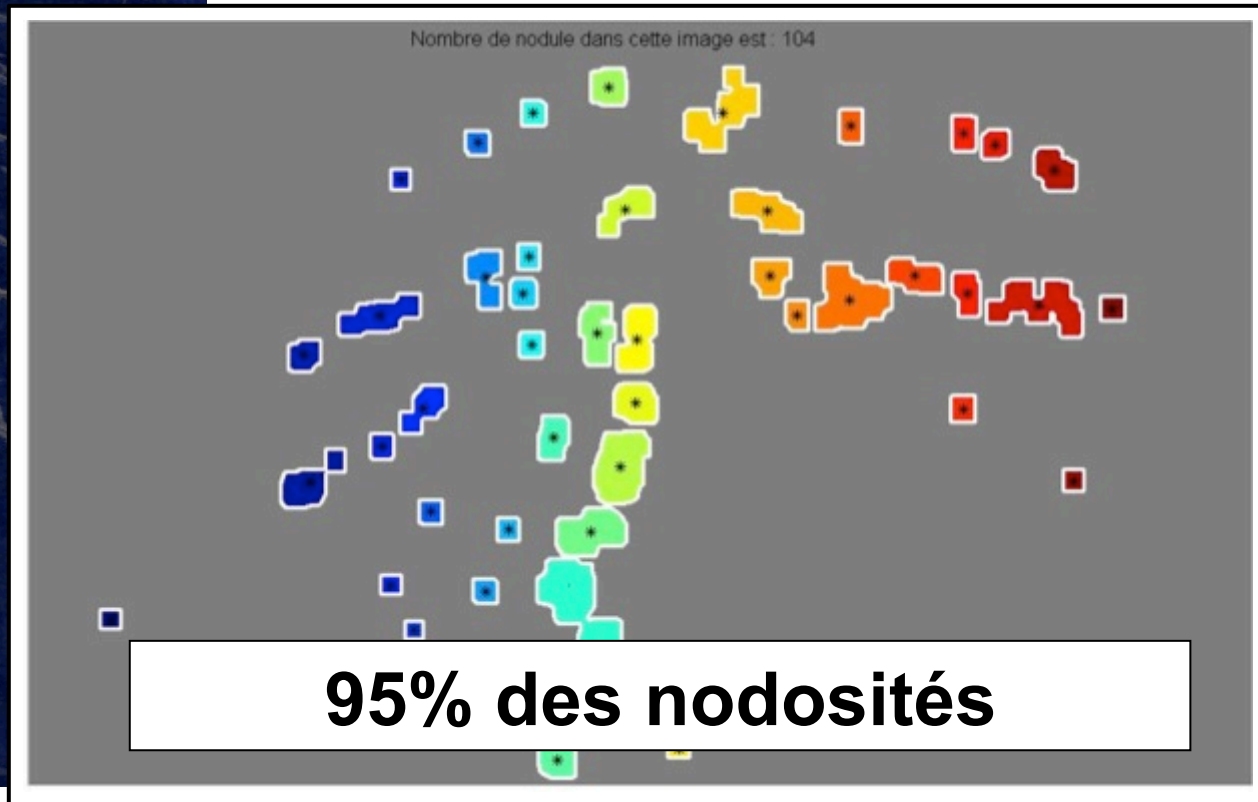




Nodosités: Nombre

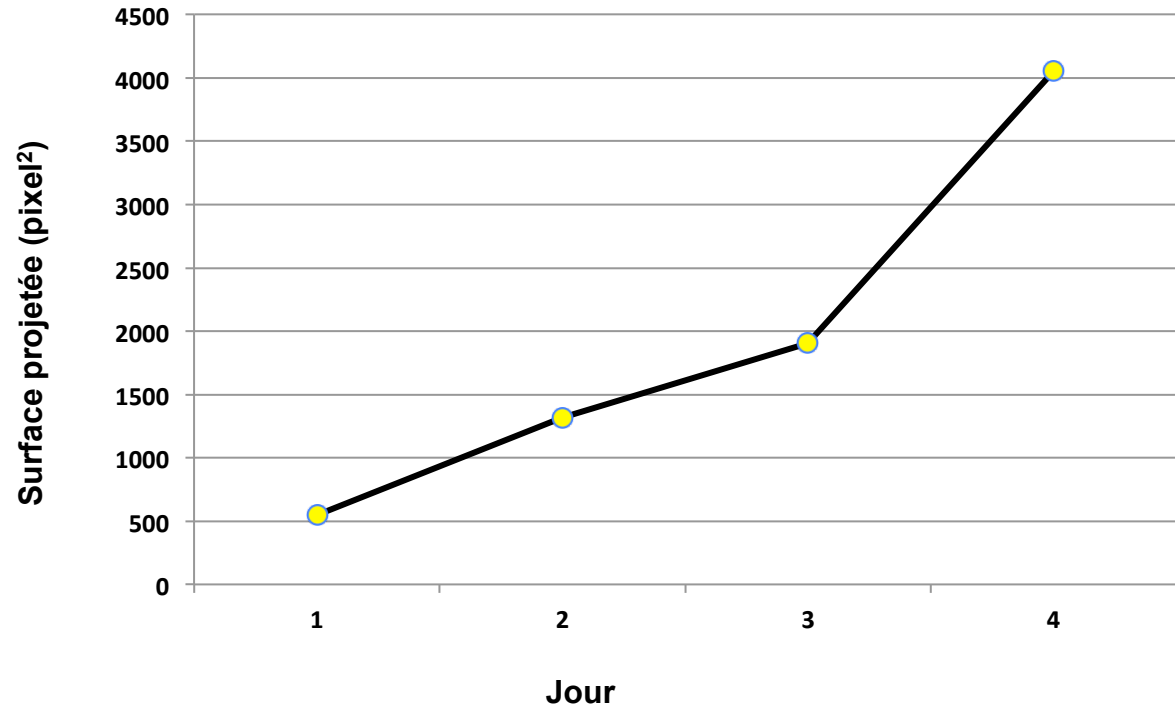
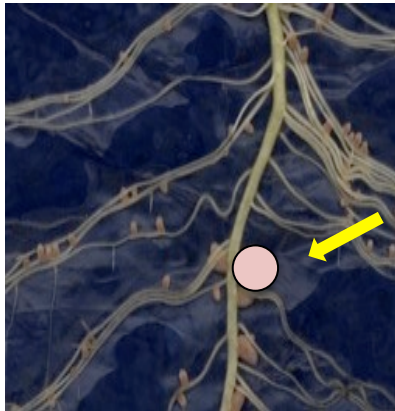


Nodosités détectées automatiquement





Nodosités: Nombre, surface projetée, position, couleur



Dynamique de la croissance nodulaire

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.

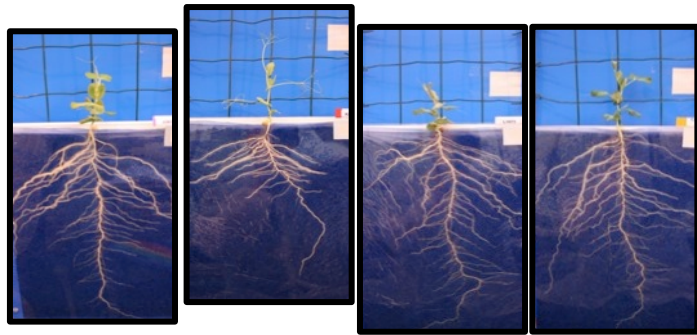
Thèse Simeng Han (unpublished)



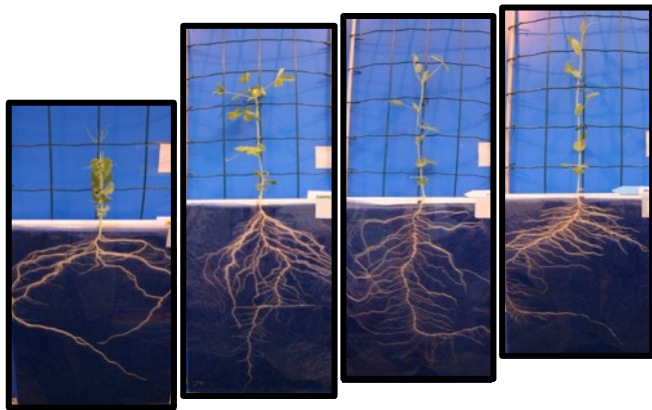
Traits phénotypiques, exemples

Nodosités: biomasse comparée entre différentes conditions de croissance

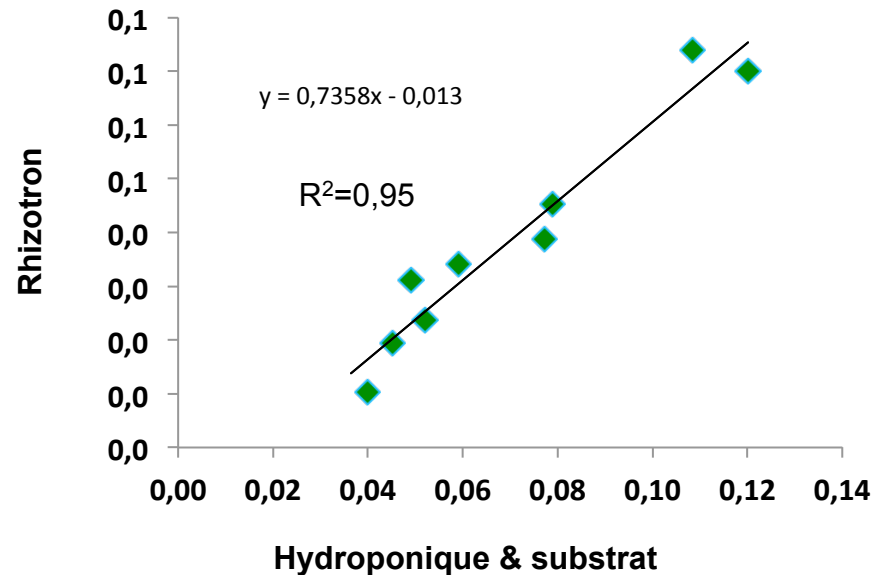
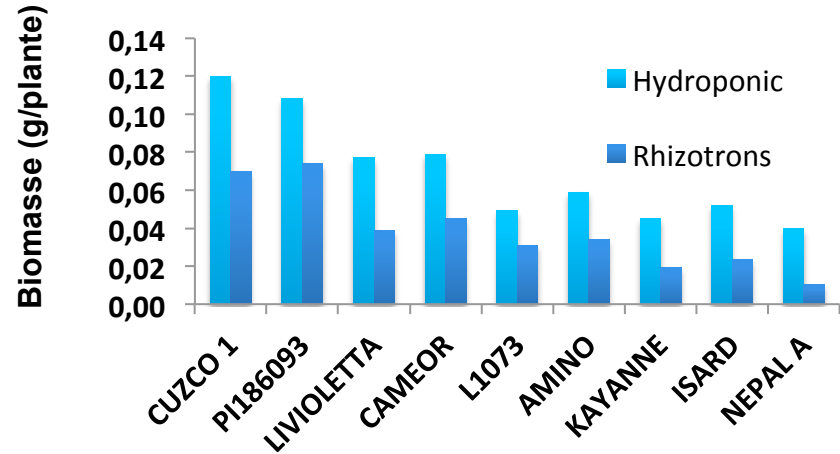
Pea core collection



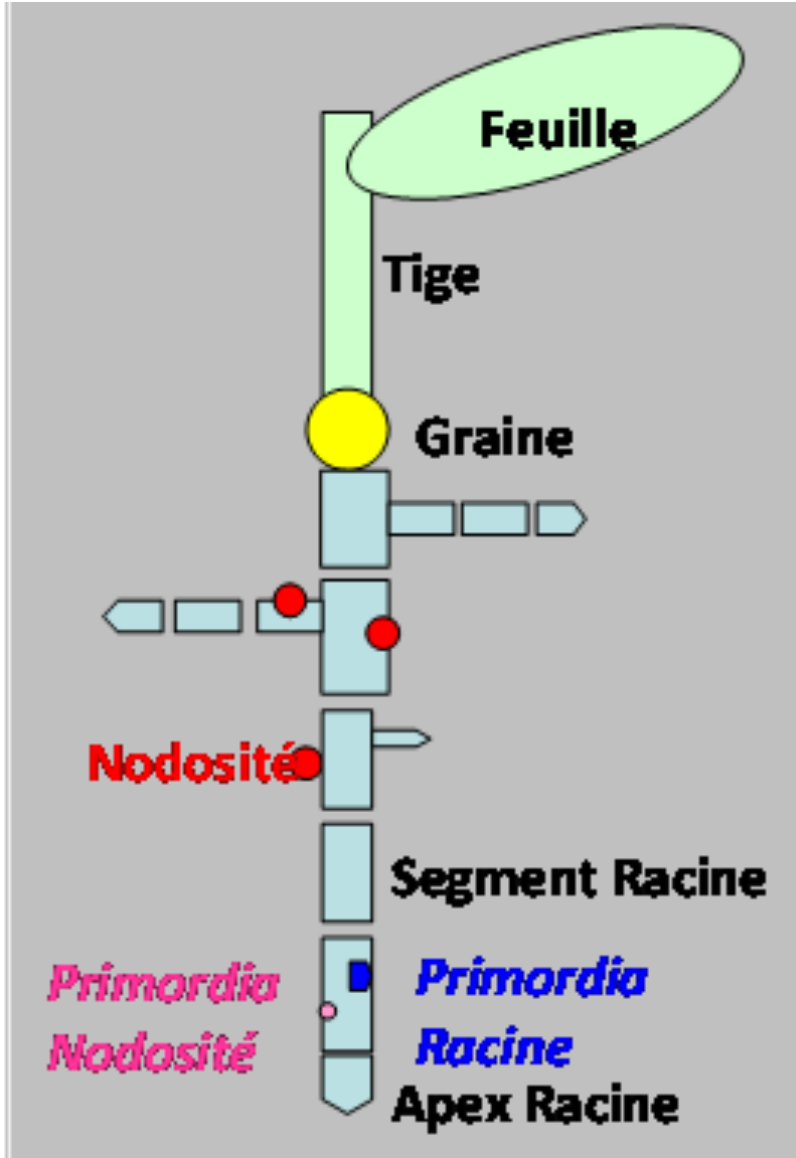
AMINO KAYANNE L1073 CAMEOR



ISARD CUZCO LIVIOLETTA PI186093



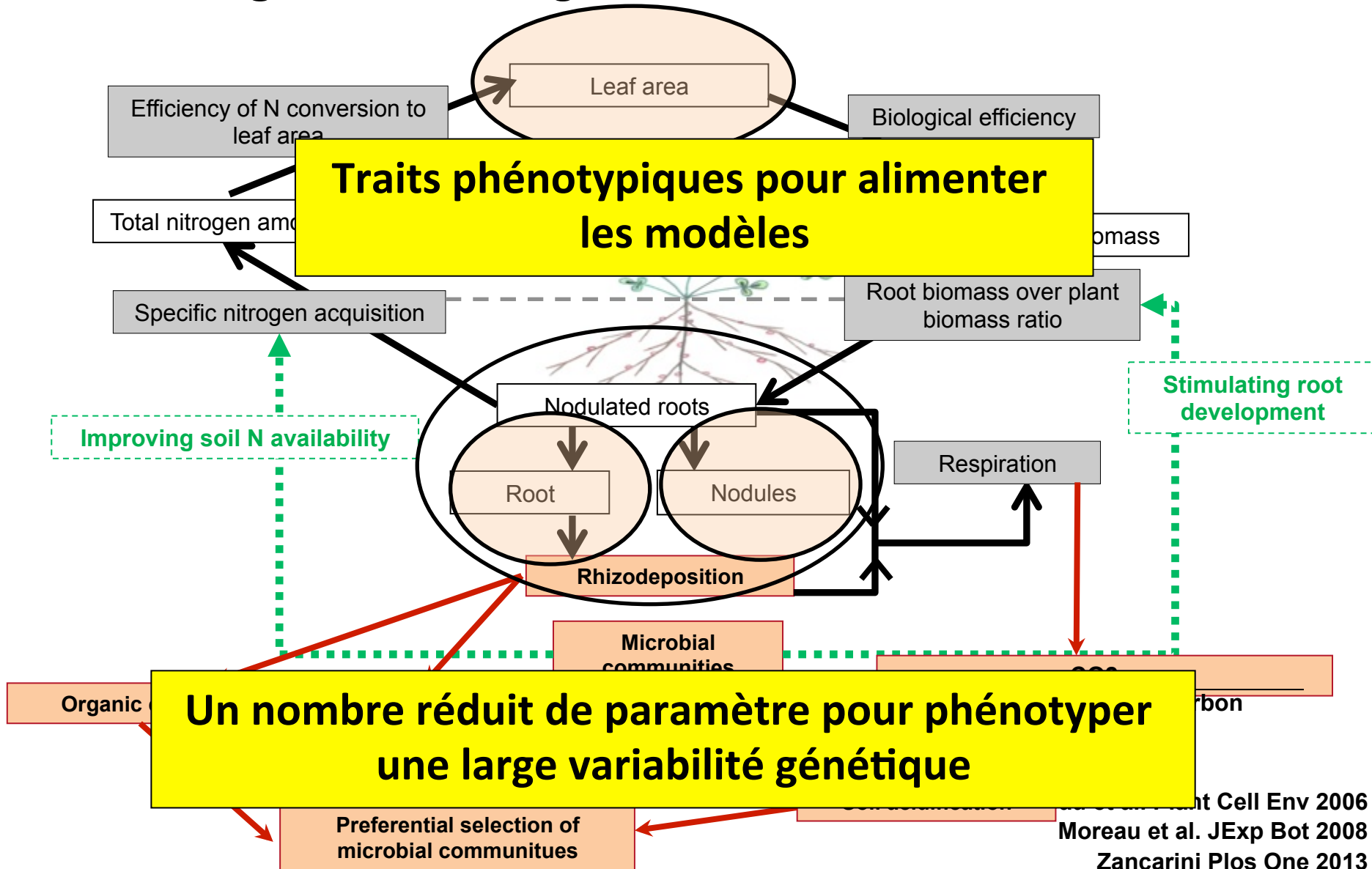
Modèles mécanistiques : PEA NOD (coll. L Pagès)



- Interaction C et N
- Architecture racinaire

Naudin et al. Plant & Soil 2011
 Agrophysiologie du pois 2010
 Voisin et al. Plant & Soil 2010
 Salon et al. CR Biologies 2009
 Voisin et al. Annals Bot 2007

Modèle intégratif: *Medicago*

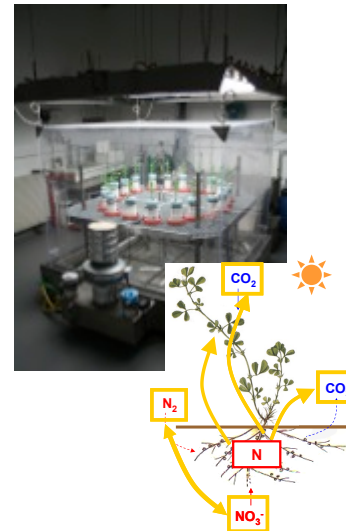
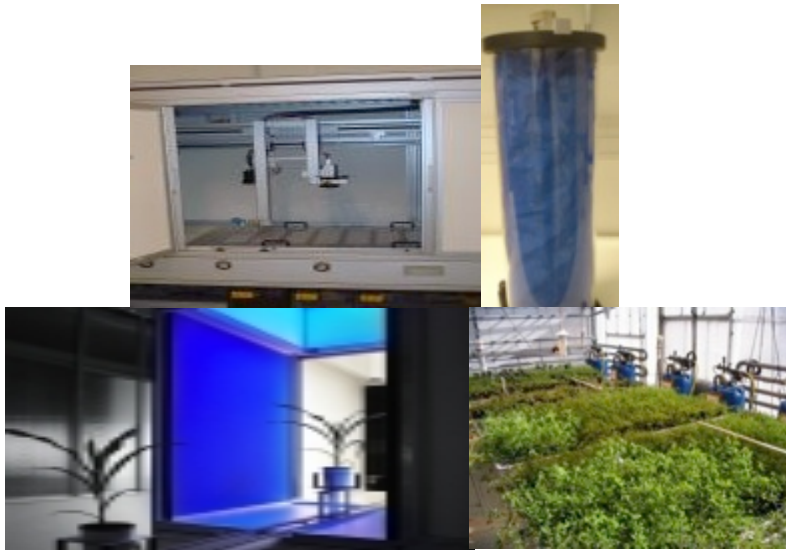


Combiner les approches

Phénotypage



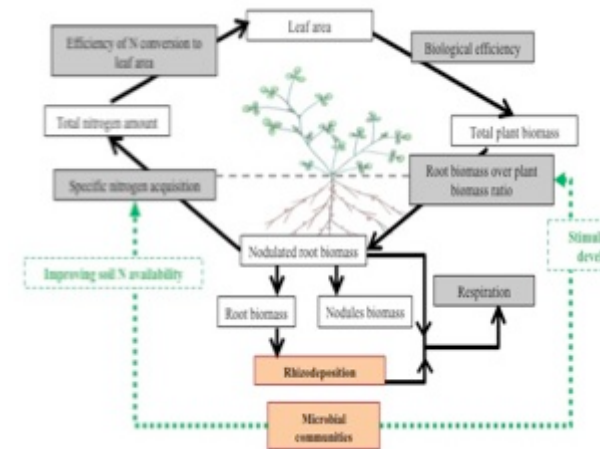
Approche analytique



Identifier des différences entre génotypes

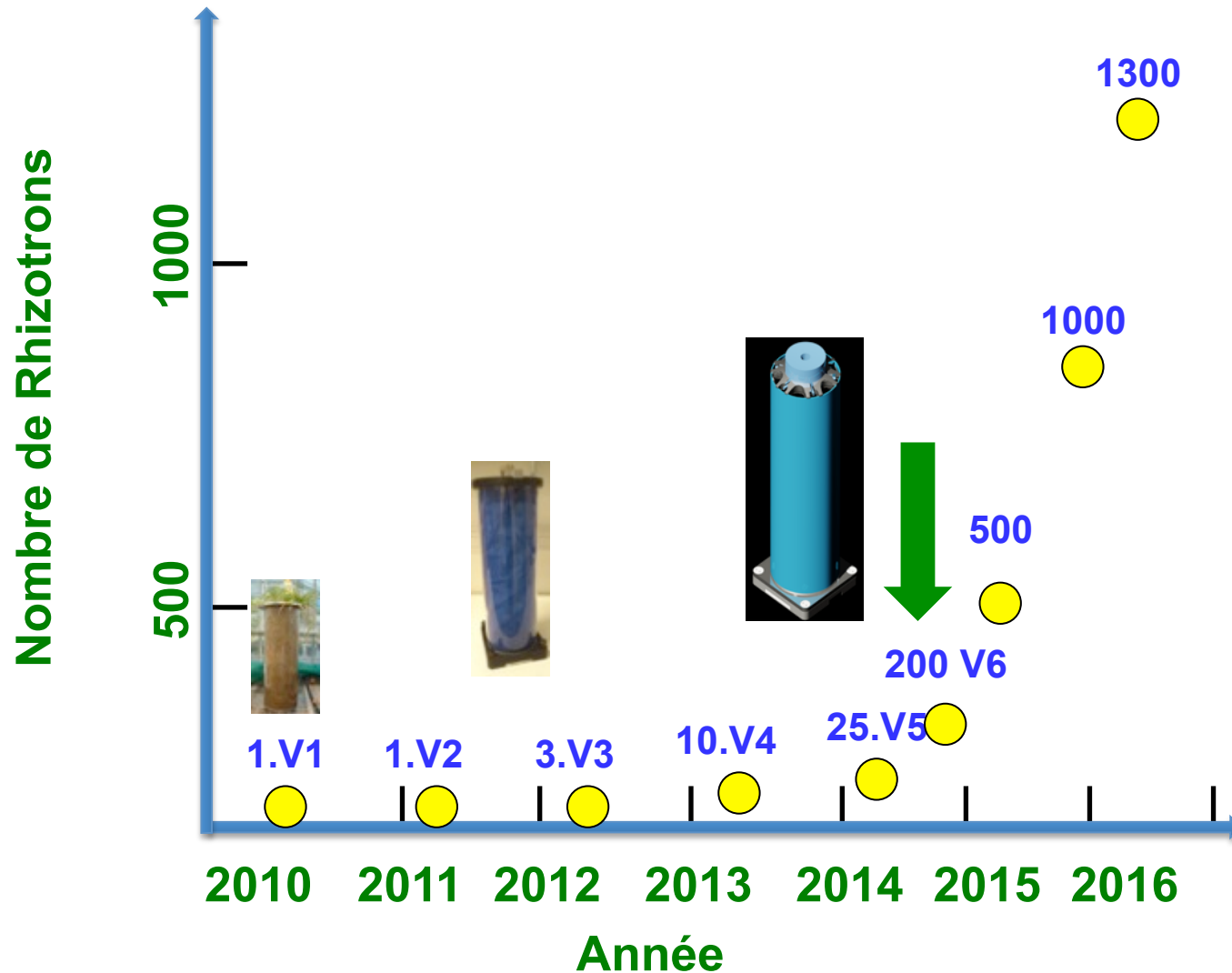


Modélisation



Interpréter les différences détectées

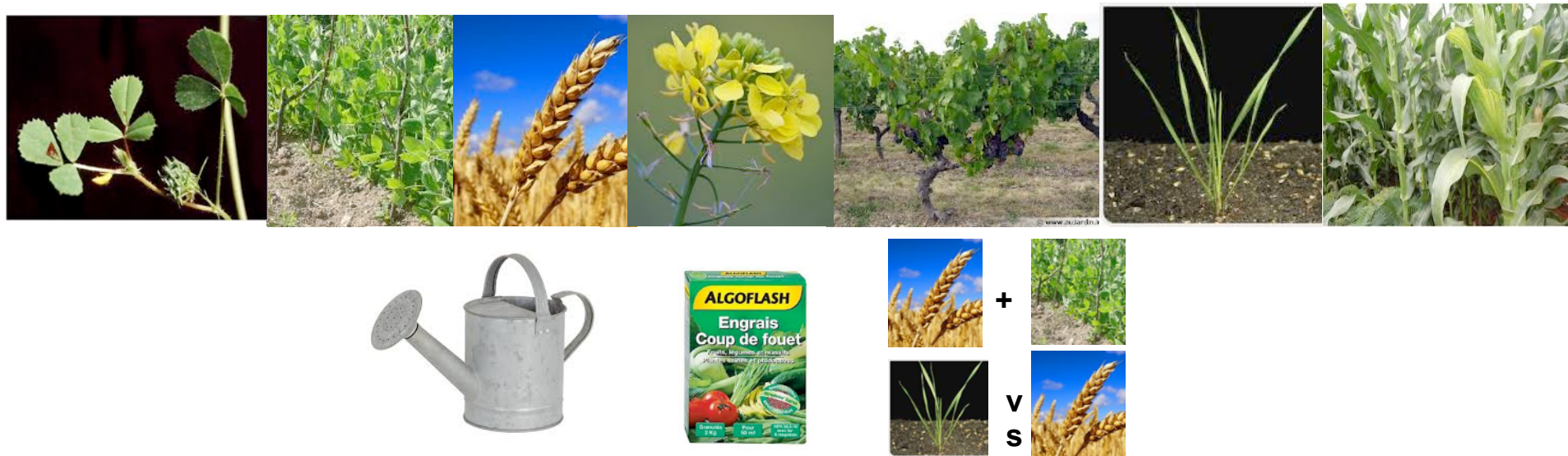
- Augmenter le nombre de rhizotrons



- Augmenter le nombre de rhizotrons
- Valider “Vf” des rhizotrons

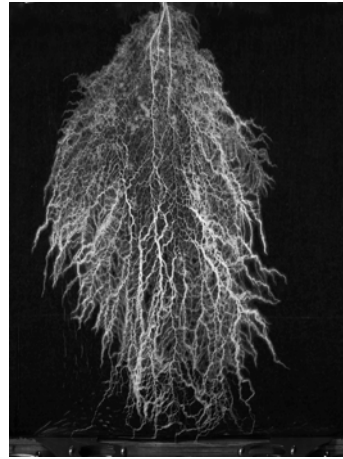
Robustesse des traits (rhizotrons vs pots):

- intraspecific,
 - interspecific,
 - en modulant l’environnement a-biotique

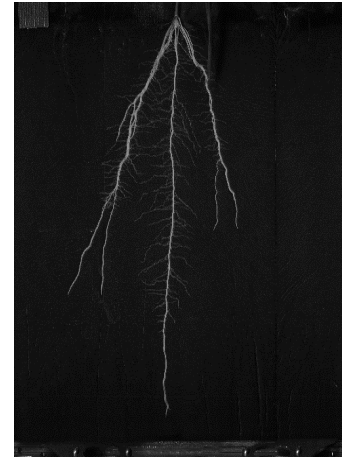




Blé



Colza



Maïs



Medicago

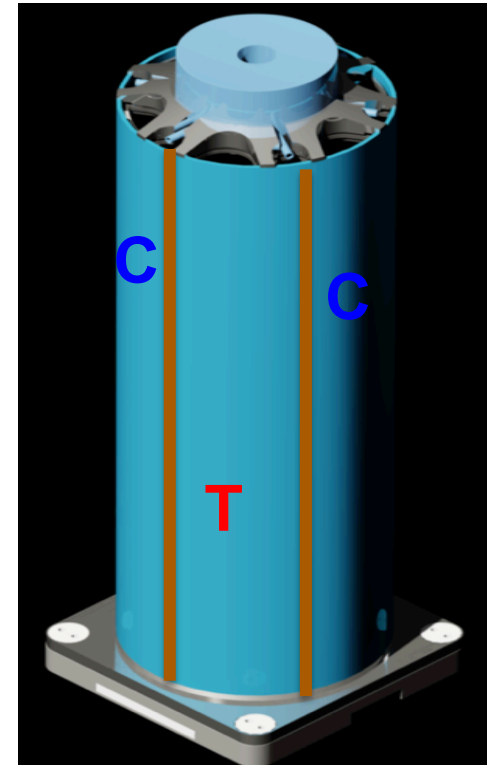
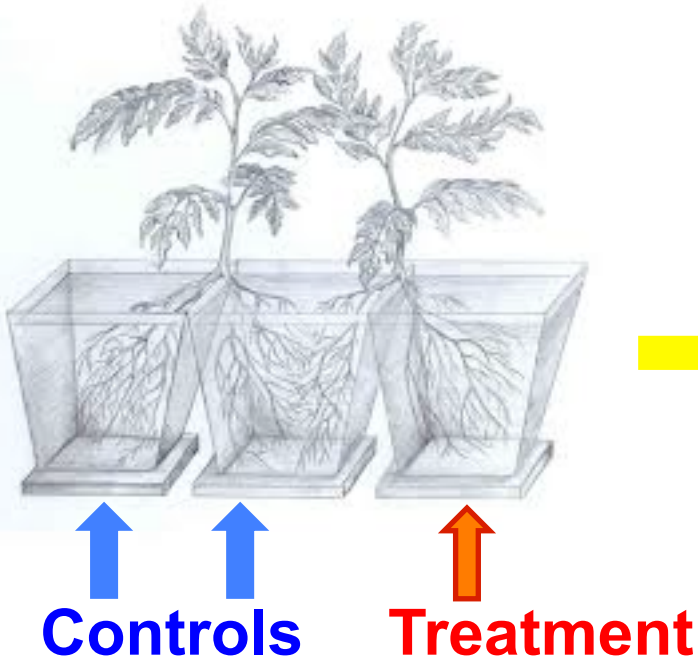


Pois

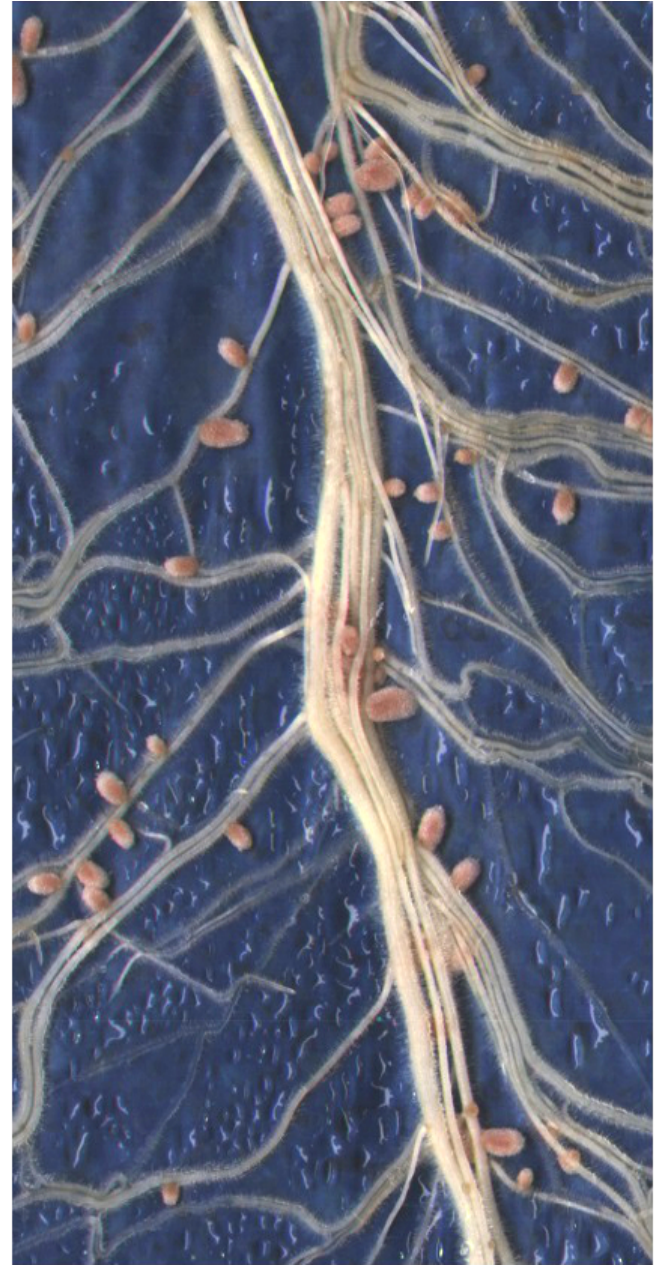
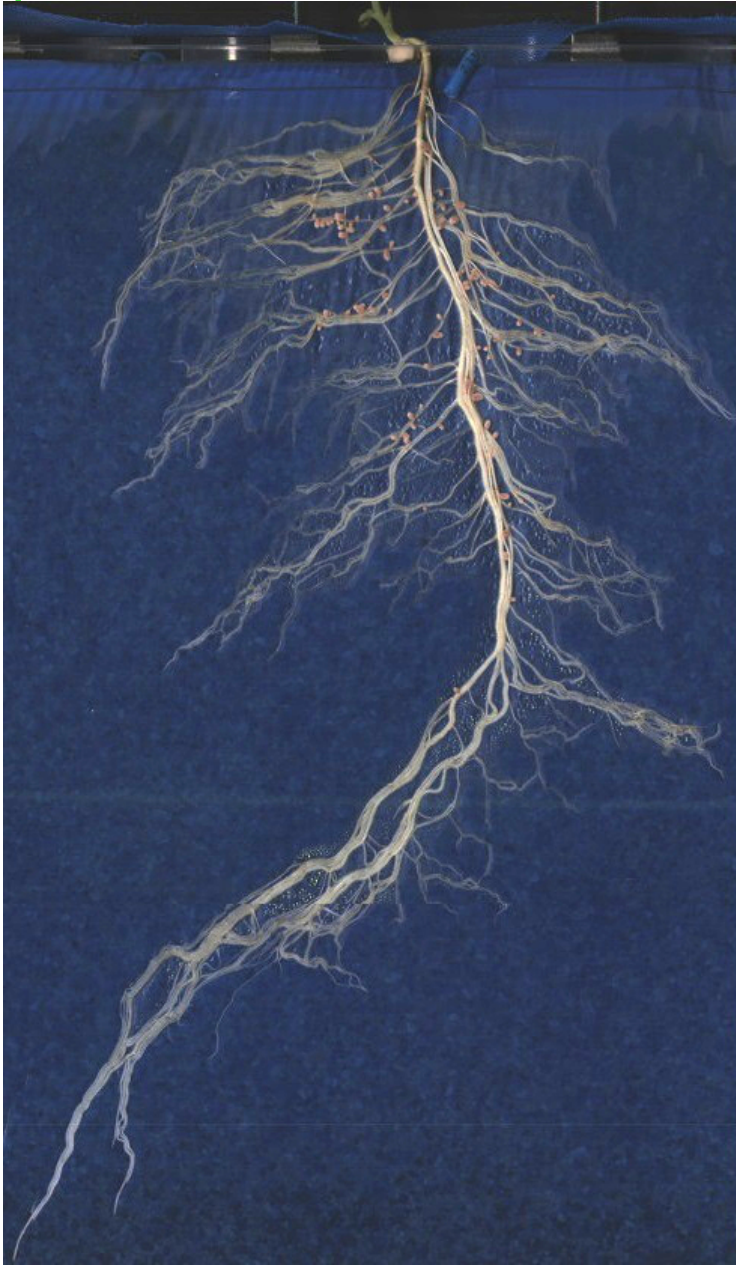


Vulpie

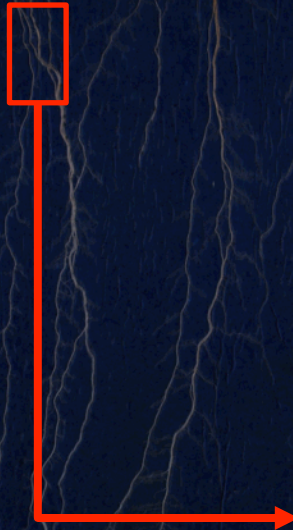
- Augmenter le nombre de rhizotrons
- Valider “Vf” des rhizotrons
- Split Rhizotrons



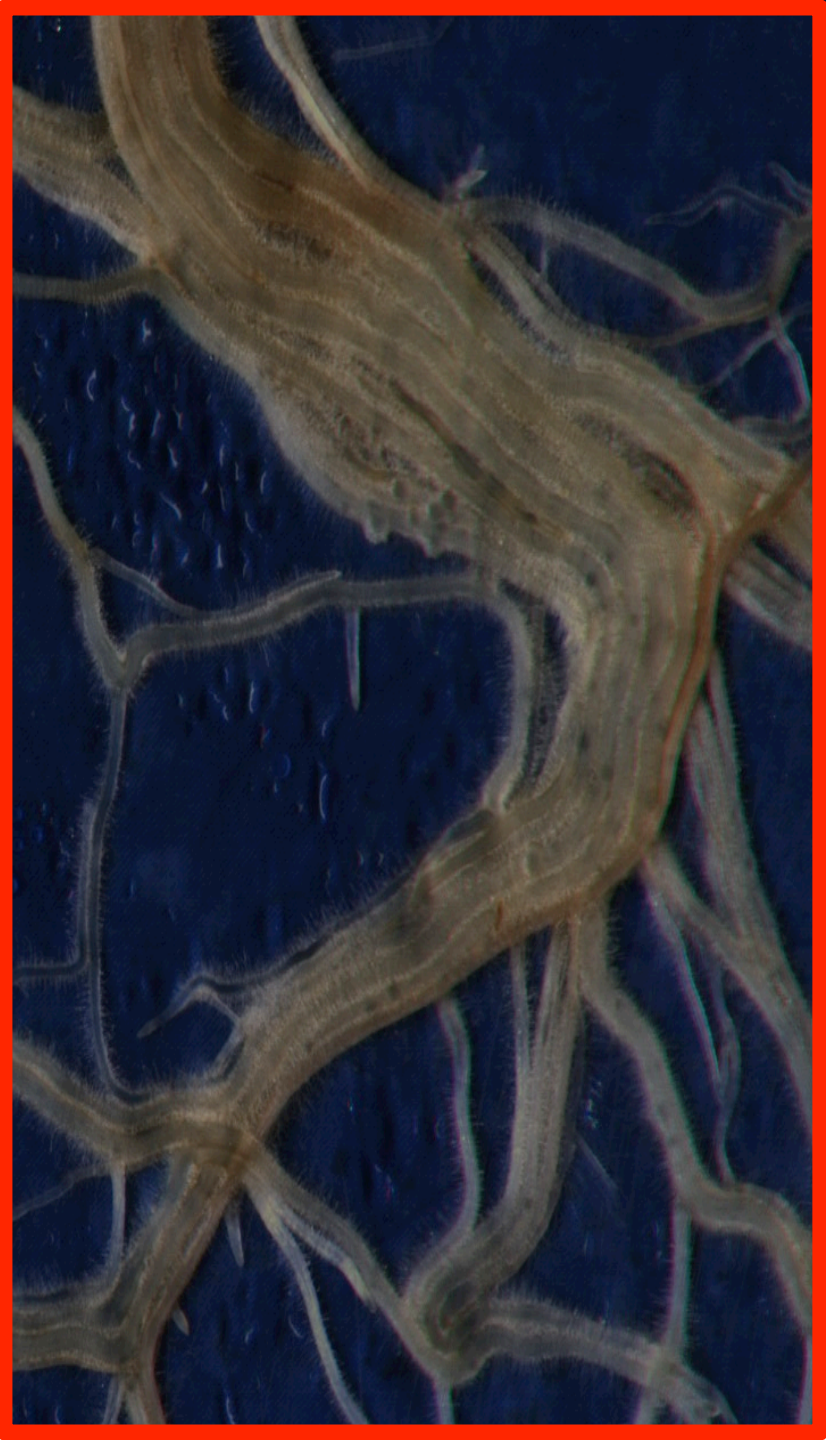
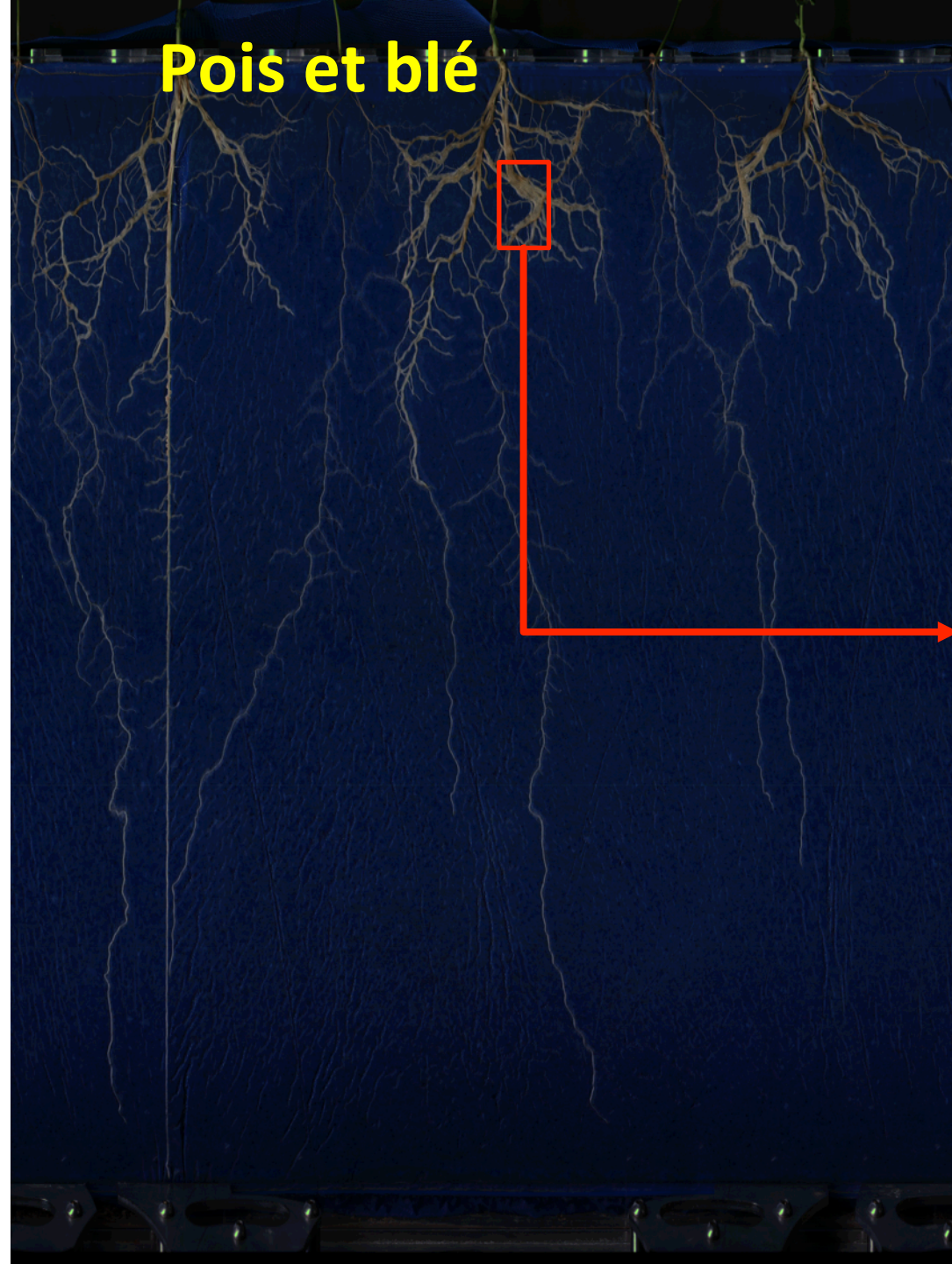
- Augmenter le nombre de rhizotrons
- Valider “Vf” des rhizotrons
- Split Rhizotrons
- Traits fonctionnels (couleur, NAAS)



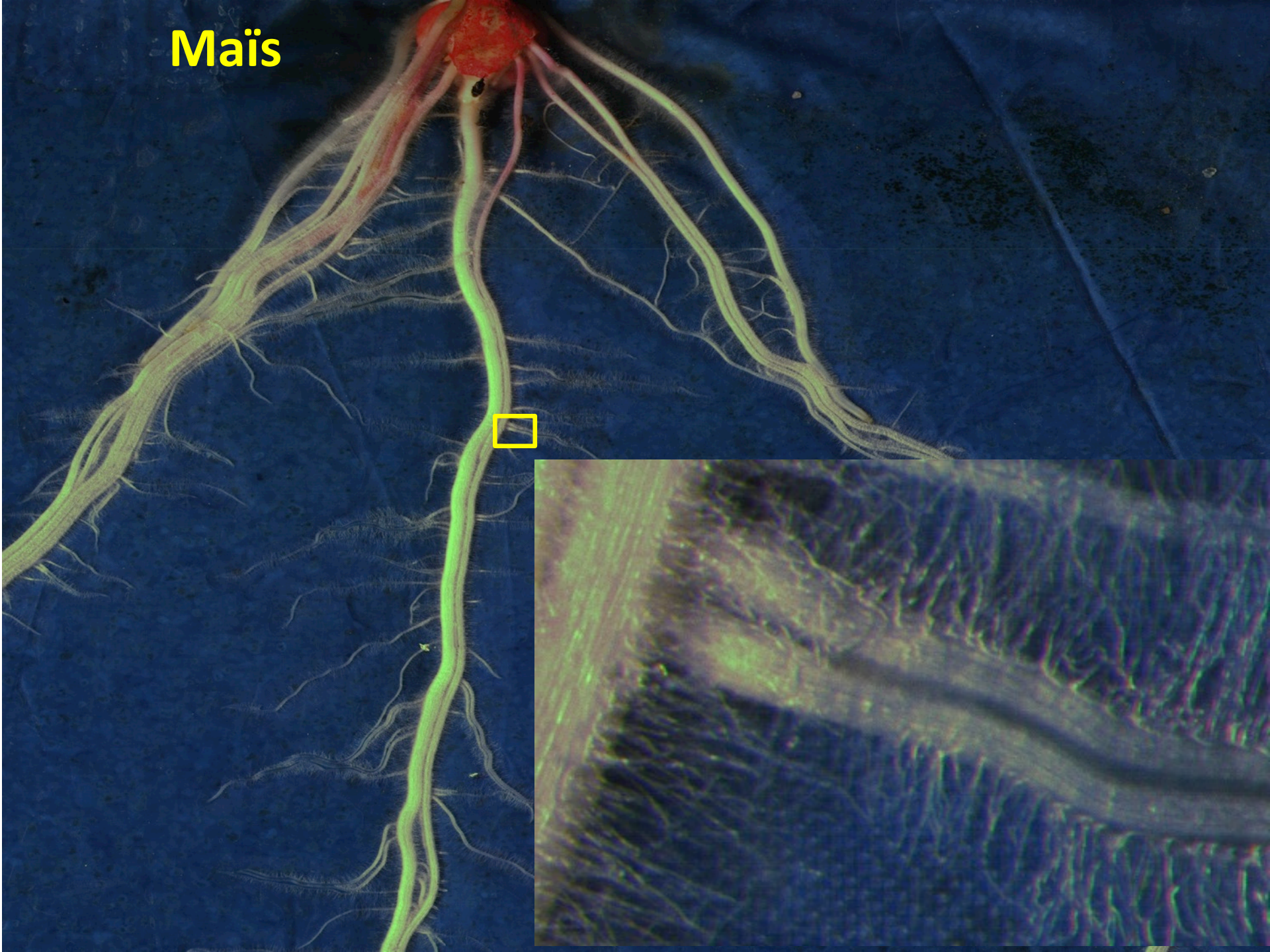
Blé



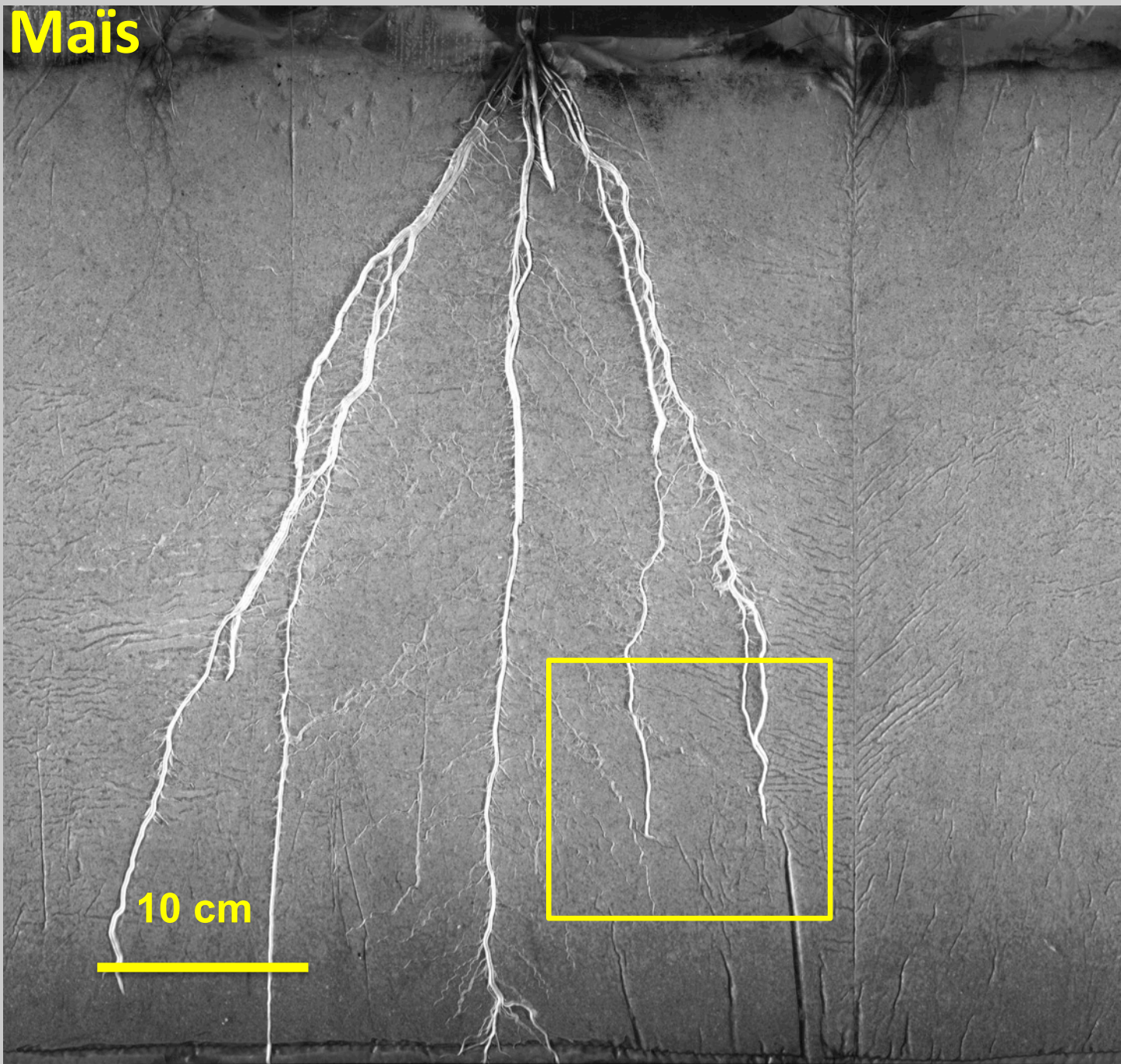
Pois et blé



Maïs



Mais



Mais

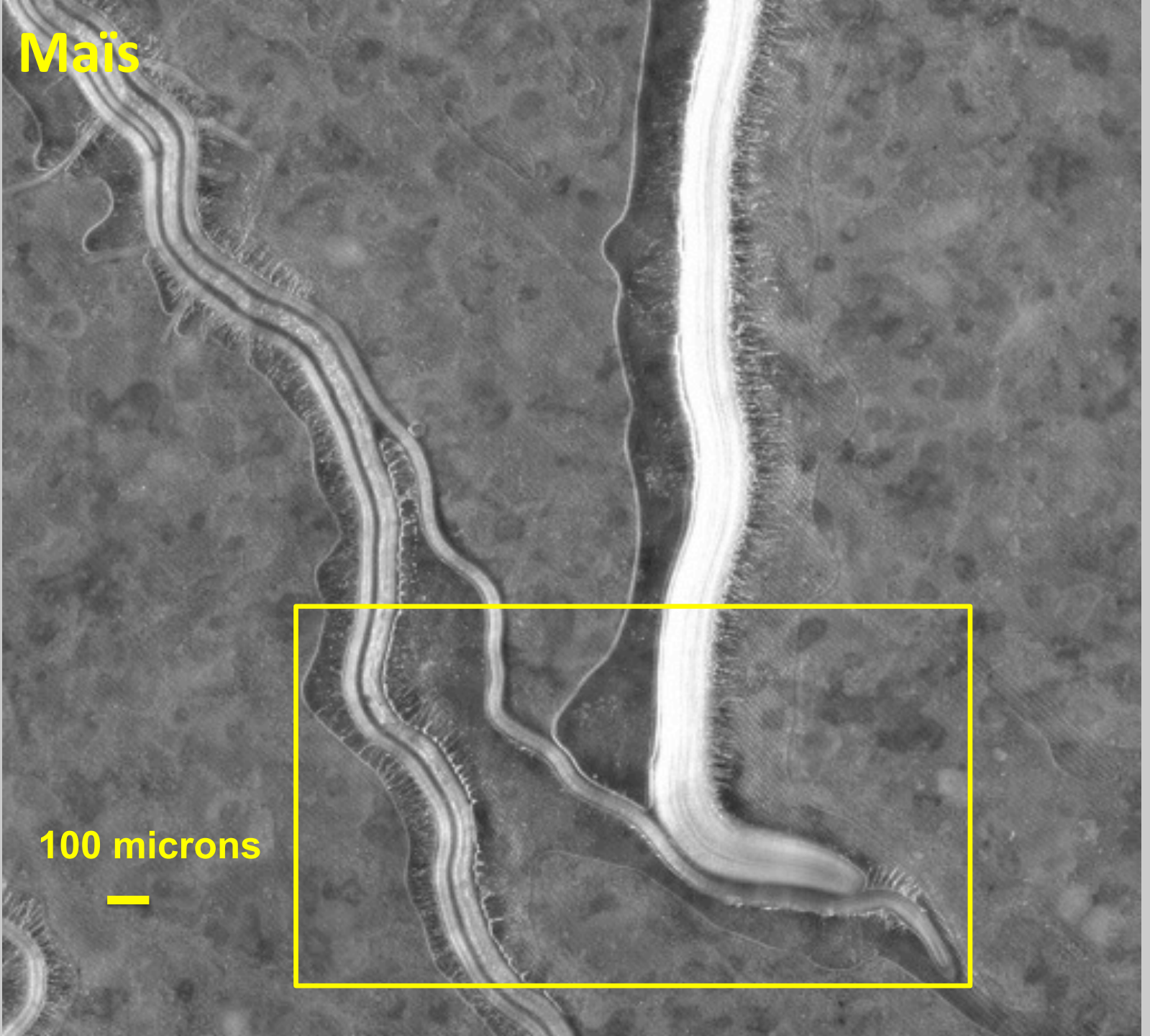
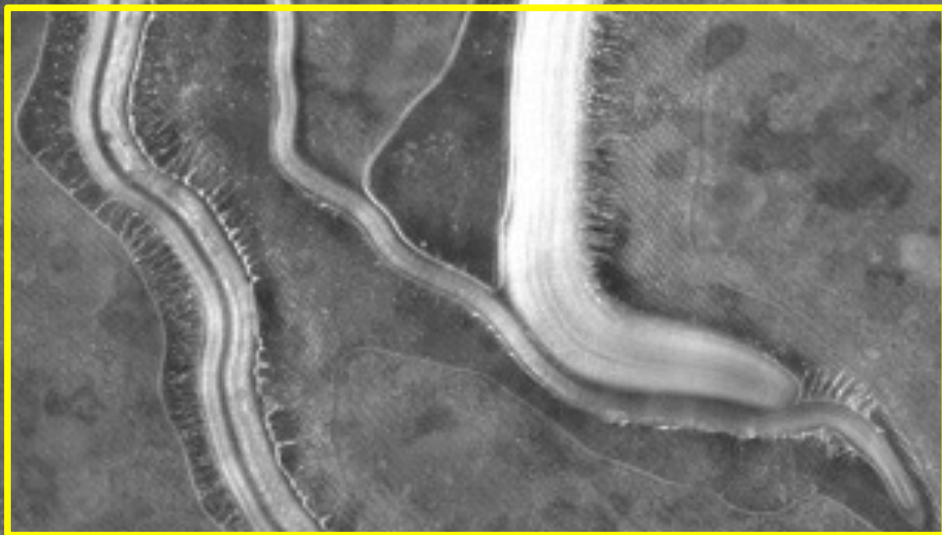


1 cm



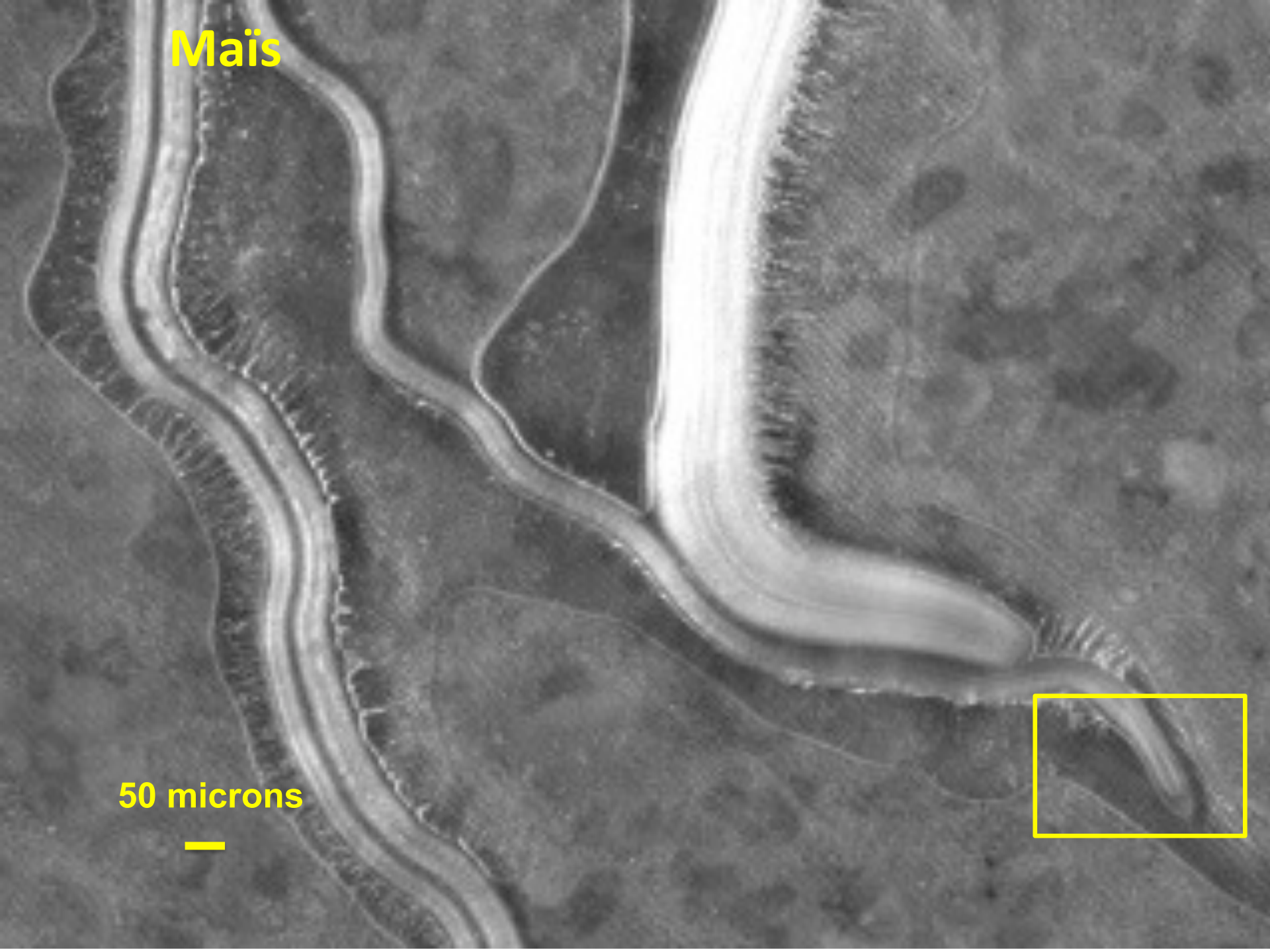
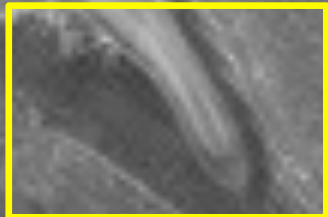
Mais

100 microns



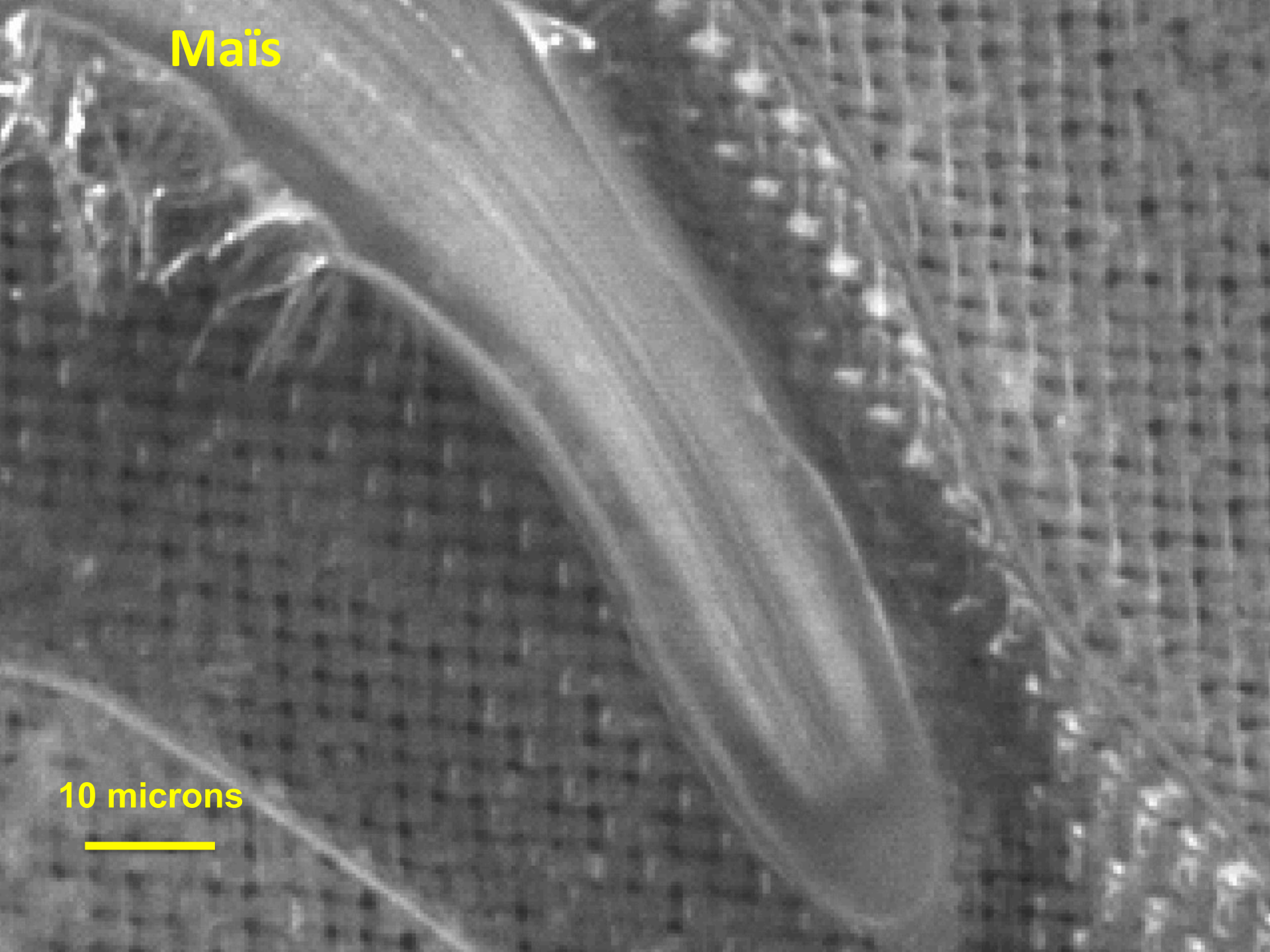
Mais

50 microns

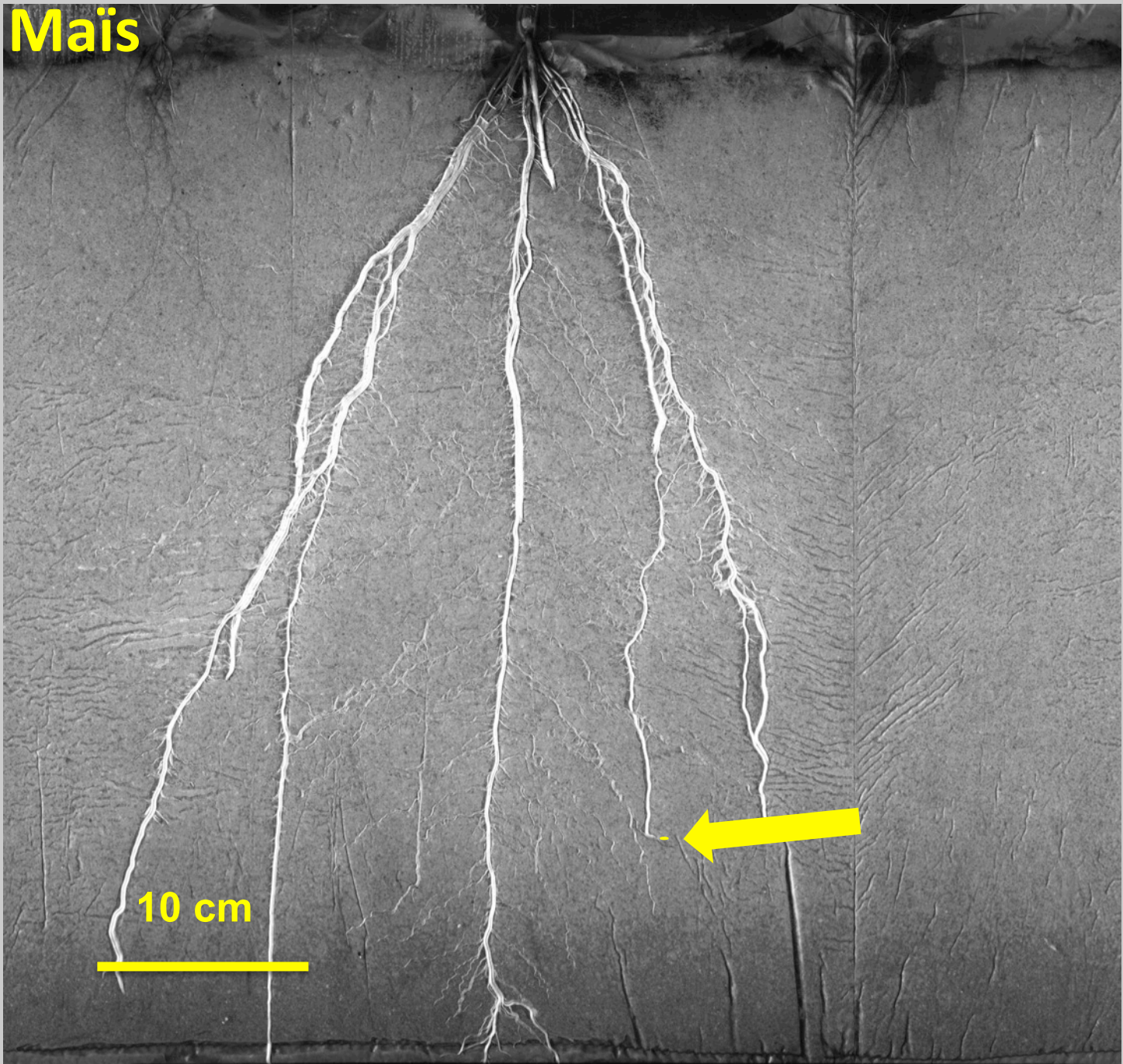


Mais

10 microns



Mais





EFOR

PPHD



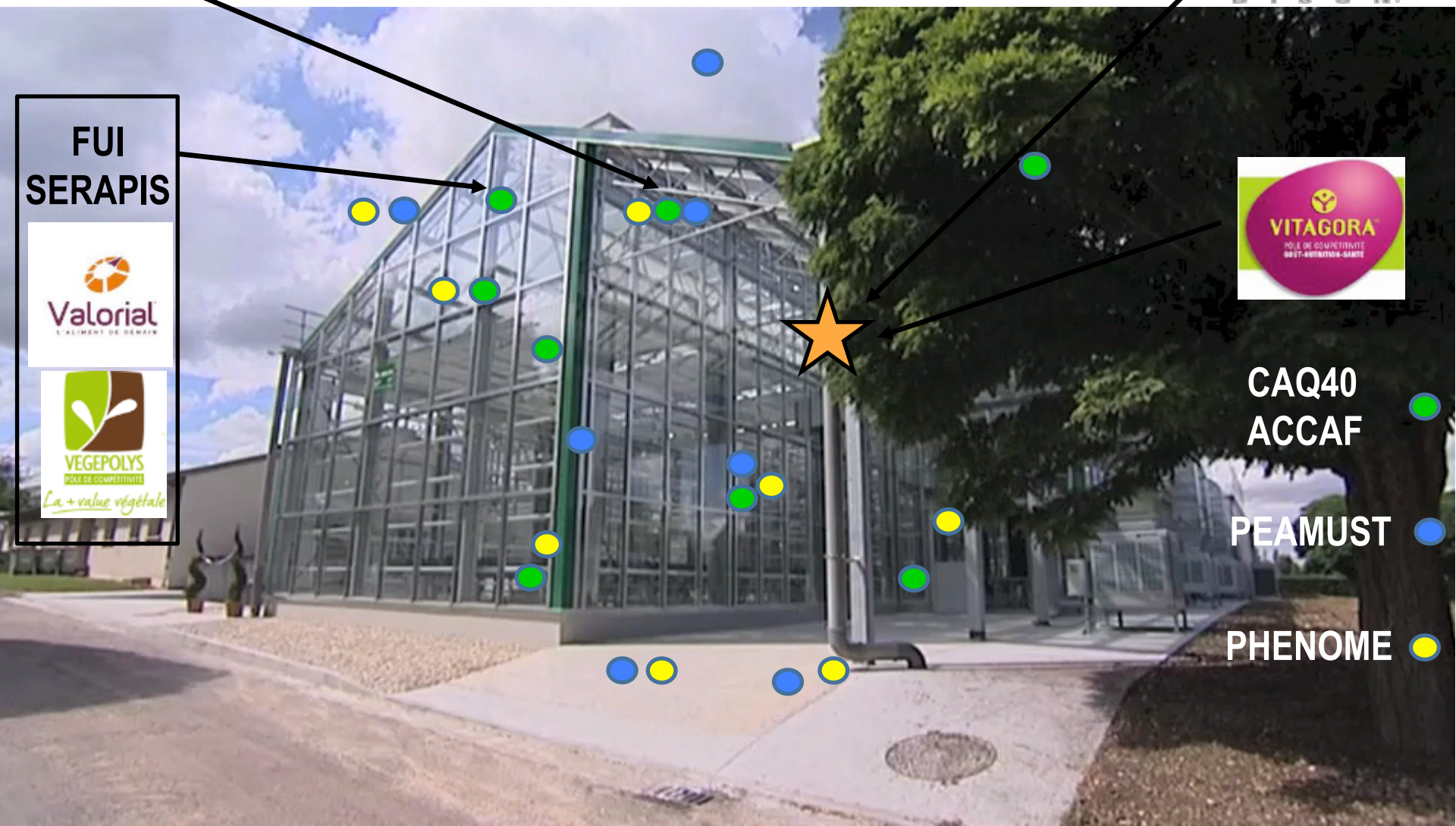
**FUI
SERAPIS**


CAQ40
ACCAF

PEAMUST

PHENOME





Christian JEUDY



Céline BERNARD



Frédéric COINTAULT



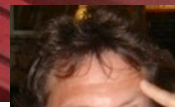
Simeng HAN

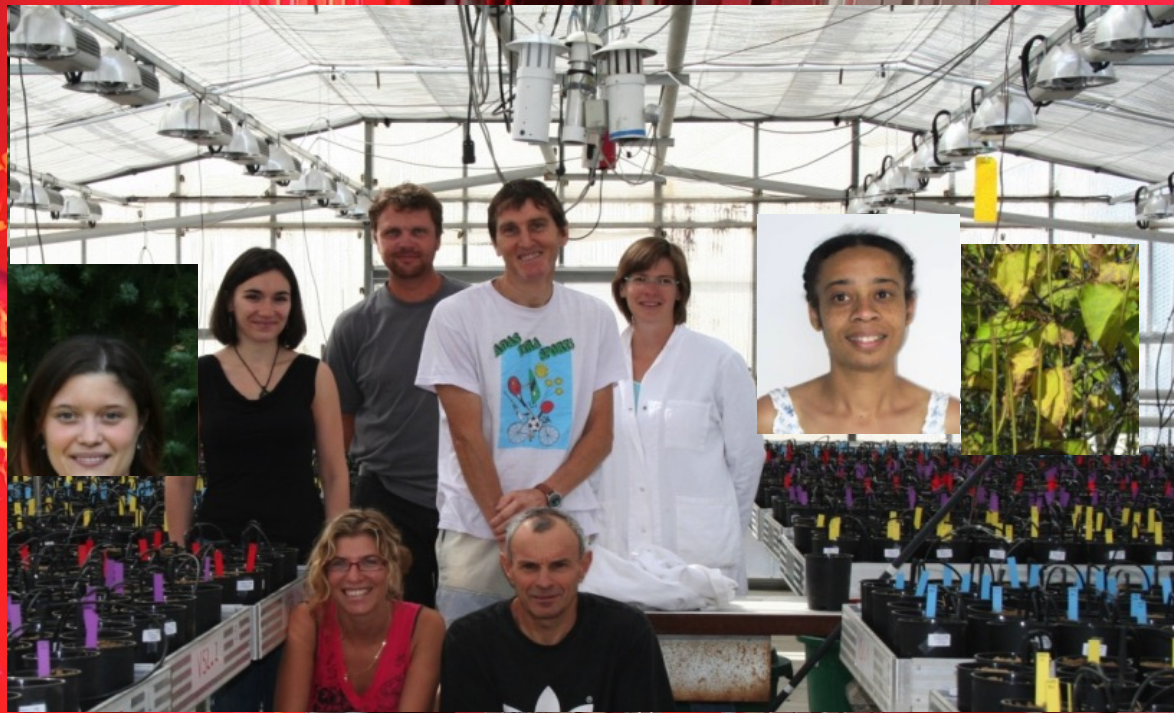


Mickael LAMBOEUF

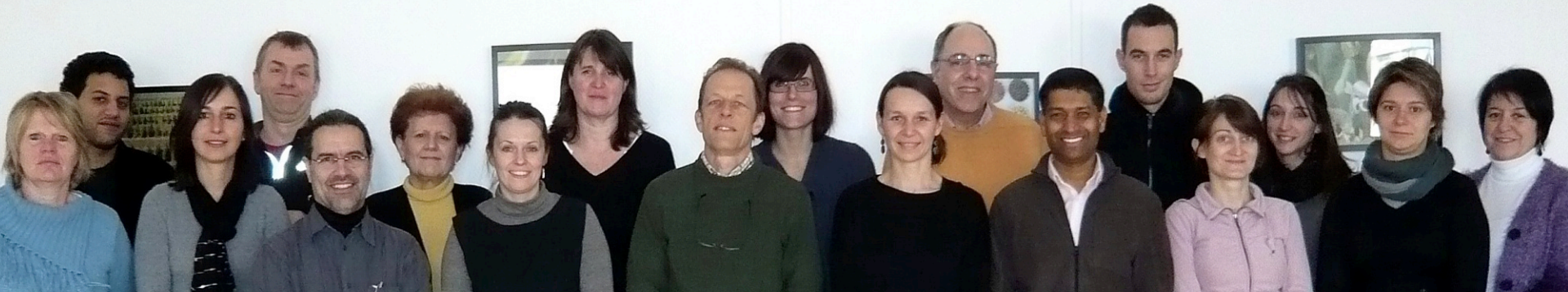


Christophe BAUSSARD





Ecophysiology team



Medicago truncatula team





Merci pour votre attention!

Par rapport à

- Automatic detection of forms: automatic first and others root, nodules
- No limit for acquisition conditions
- Quicker, Time <5mn
- Measure root diameter
- Localize nodules

Increase throughput of root image analysis

Develop methods, tools, and algorithms to quantify at high throughput and high resolution structural traits of complex and varied root systems.

Use modelling to characterize generic relations between traits, genes integrating structure and fonction concept.

=> What traits reflect key processes involved in the determination of root architecture?

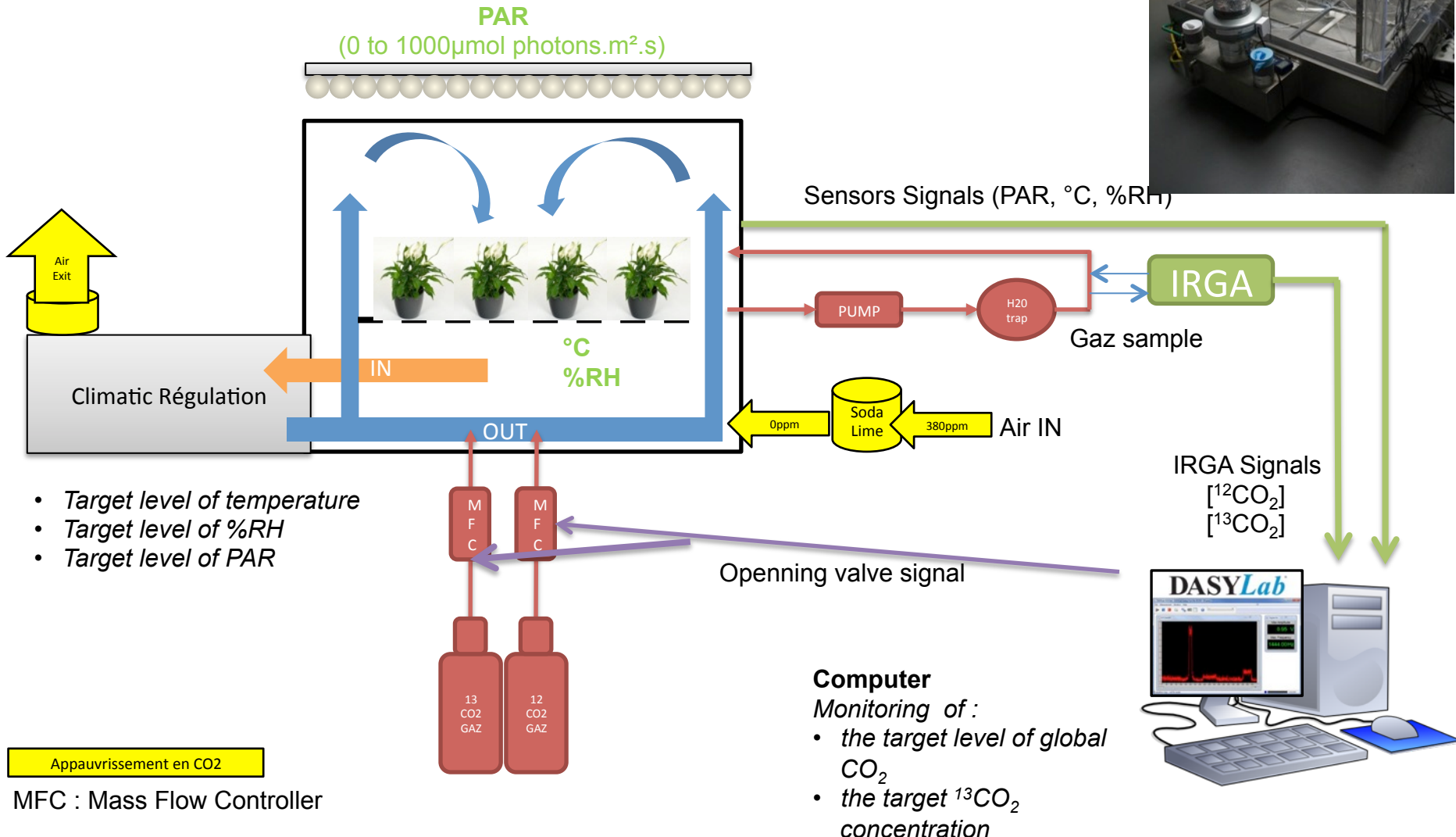
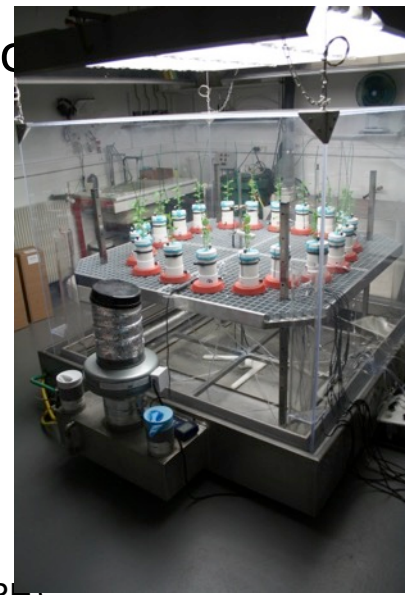
=> Modulation by environmental conditions?



Platforme de
Phenotypage

Platforme de
Phenotypage à
Haute
Densité

CO₂ régulation scheme



MFC : Mass Flow Controller

Régulation CO2 zone de culture (expérience enceinte de marquage, et enrichissement de chambres climatiques de cultures non étanches) – Geapsi / Ecophysiologie - Dijon

Liste (non exhaustives) des points à considérer dans l'optique d'une régulation en serre :

1. Quantité à injecter

- Minimiser les risques de fuites
 - Privilégier une serre climatisée plutôt qu'une serre avec Cooling
 - Sas en entrée
- Quantité de CO2 pour atteindre la concentration souhaitée
 - Minimiser le volume mort
- Quantité de CO2 pour compenser le prélèvement des plantes

2. Homogénéité de la teneur en CO2

- Injection en sortie de la soufflerie du système de régulation climatique et / ou injection en multi points avec brassage d'air

3. Dispositif de régulation / control

- Pilotage de la vanne d'ouverture d'une bouteille de gaz 100% CO₂
 - Le module de régulation :
 - » Module simple « à façon » utilisant un amplificateur opérationnel
 - » Logiciel sur PC équipé de cartes acquisition / control
 - Signaux :
 - » Signal entrée : mesures IRGA (multipoint pour une meilleure représentativité si volume important)
 - » Signal sortie : 12V pour ouverture vanne
 - Vanne « tout ou rien »
 - Vanne « proportionnelle » simple
 - Débit mètre régulateur massique (pour suivi des quantités injectées)
 - Paramétrage du mode de régulation
 - » Ajustement de la valeur basse pour injection sur régulateur « simple »
 - » Ajustement PID pour ouverture de vanne » « proportionnelles »
- Enregistreurs
 - Lecture directe de la valeur instantanée
 - Enregistrement des valeurs mesurées

- **Sécurité des opérateurs**

- Effets Toxiques : 0,5 % (VME – 8 h) 3% (VLE) :
- Nécessité d’avoir un IRGA avec affichage déporté hors de la zone d’injection équipé d’un mode « alarme », avec points de mesures
 - dans la zone d’injection
 - Dans le sas
 - (éventuellement dans les pièces adjacentes si bâtiments peu ventilé)
- Dispositif de ventilation actionnable en mode « forcé » si teneur trop élevée mesurée
- Stockage des bouteilles de gaz sur Rack normalisé en extérieur

Dijon à Montpellier

- Du 11 au 13/02 2014

Formation responsable de plateforme C Bernard par L Cabrera à

- bases de l'analyse d'image avec la toolbox LemnaTec
 - > analyse des fake plant EPPN
- modalités d'export des données d'analyse d'image avec l'outil DB Import / Export de lemnaTec – mise en forme des données sous Excel (avec tableau dynamique croisé)
- exemple de gestion à Montpellier (1 bdD Lemna par expérience / Dijon / 1 base commune à la plateforme)
- test capacité à échanger les algorithmes d'analyse entre plateforme : limité par LemnaTec (encodage)
- échange sur les outils nécessaire pour la manipulation des données (R à Montpellier)

- *Point avec Jonathan Mineau sur besoin de la PPHD en terme de base de données*

- *Rencontre Vincent Nègre pour appui technique sur la partie Serveur LemnaTec (fonctionnement / détection des problèmes nécessitant intervention)*

- *Visite globale et échange sur les pratiques entre plateforme*

Montpellier à Dijon

- *01/04 au 03/04 – Point Base de Données Phénome*
 - *Point sur volumétrie nécessaire et gestion des données avec P Moreau, ect... avec EIC*
 - *Mise en place d'une offre de service par EIC Dijon avec location d'espace de stockage et d'archivage*
 - *Analyse des besoin et affinage de la volumétrie pour projet Phénome*

(Je maîtrise moins tout ce qui est en relation avec Phenome...)
 - *Visite des installations dijonnaise par l'équipe de Montpellier (L Cabrera et B Suard)*
 - *Fourniture du cahier des charges laveuse d'ustensiles pour publication sur Montpellier*
 - *Echange de référence sur les outils technique utilisé (stop-goutte, ect..) et liste des spare parts*
 - *Echange sur les modes opératoire différents et similaire (différent : mise en place avec étiquette code – barre à Montpellier nécessitant pot unique / pré identification à Dijon)*

Phénotypage environnemental

- *10/07/2014 – Venue L Cabrera à Dijon*
 - *Discussion sur nécessité de caractériser l'environnement de la plante par thermo couple*
 - *Préparation cartographie de la serre (avec fish eye)*
 - *Participation Llorenç à l'école technique analyse d'image*