Colloque francophone PHENOLOGIE 2015 Université Blaise Pascal/INRA Auvergne Rhône Alpes, Clermont-Ferrand, 17, 18 et 19 novembre 2015

A la recherche de méthodes alternatives aux tests biologiques classiques pour la détermination de la date de sortie d'endodormance, la quête du haut débit par le Groupe de Travail Dormance de Perpheclim et d'ODS.

Marc Bonhomme[1], Jean Paul Charpentier[2], Vincent Segura[2], Luc Pâques[2], Jean Marc Audergon[3], José Quero Garcia[4], Elisabeth Dirlewanger[4], Remi Beauvieux[4], Benedicte Wenden[4], Jean Michel Legave[5], Isabelle Farrera[5], Hendrik Davi[6], Frédéric Jean[6], Isabelle Chuine[7]

1 INRA Auvergne Rhône Alpes, site de Clermont-Ferrand, UMR0547 PIAF Physiologie intégrative de l'Arbre Fruitier et forestier, Clermont-Ferrand, France
2 INRA Val de Loire, site d'Orléans, UR0588 AGPF Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, Orléans, France
3 INRA Provence Alpes Cotes d'Azur, site d'Avignon, UR1052 GAFL Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, Avignon, France
4 INRA Aquitaine, site de Bordeaux, UMR 1332 BFP Biologie du fruit et pathologie, Villenave d'Ornon, France
5 INRA-SupAgro, Languedoc Roussillon, UMR 1334 AGAP Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes, Montpellier, France
6 INRA Provence Alpes Cotes d'Azur, site d'Avignon, UR0629 URFM Ecologie des forêts méditerranéennes, Avignon, France
7 CNRS CEFE, Montpellier, France

Résumé

Pour améliorer les modélisations de la phénologie, nous avons besoin de dates de débourrement et de floraison mais aussi de dates de levée de dormance, sur un grand nombre d'espèces. On est à la recherche de méthodes alternatives aux tests classiques, peu onéreuses et permettant de s'approcher du haut débit. Une approche en spectrométrie proche infrarouge montre une bonne corrélation entre NIRS et paramètre classique de dormance (DMD) sur poudre de bourgeons végétatifs et floraux. Une autre approche concernant la visualisation de callose au niveau de la zone méristématique, considérée comme un marqueur d'état dormant, a été entreprise.

Mots clés

NIRS, callose, tige, bourgeon, dormance, délai moyen de débourrement (DMD).

Introduction

Pour améliorer les modélisations de la phénologie, nous avons besoin de dates de débourrement et de floraison mais aussi de dates de levée de dormance et ceci sur un grand nombre d'espèces et de sites. Actuellement ces données sont extraites de cinétiques temporelles de Délais Moyens de Débourrement (DMD) obtenues par des tests de forçage qui sont longs à réaliser, pas adaptés à toutes les espèces et couteux puisque nécessitant des cellules climatiques. On est donc à la recherche de méthodes alternatives peu onéreuses et permettant de s'approcher du haut débit. La NIRS était potentiellement un bon candidat et nous avons voulu tester l'existence d'une relation entre réponse en spectrométrie IR et évolution du paramètre DMD, et ceci sur un panel d'espèce tant fruitières que forestières. La présence de callose au niveau de la zone méristématique est également souvent considérée comme un marqueur d'état dormant suite aux travaux de Rinne et Van der Schoot. Sa visualisation pourrait constituer une autre voie possible nous disposons de méthodes histologiques simples et rapides.

Résultats et discussion

En spectroscopie IR, nous avons réalisé des mesures sur bourgeons entiers, sur tige grossièrement découpées. Les tiges et les bourgeons ont ensuite été broyés pour obtenir une poudre fine. Les spectres ont été acquis sur le spectromètre Perkin (Transformé de Fourrier) d'Orléans (sur la bande 4000-8000 cm^{-1}) et le spectromètre FOSS de l'INRA Clermont (bande 400-2500 nm). Seuls les spectres issus du spectromètre Perkin ont fait l'objet d'une première analyse intégrant un module de sélection de bandes (méthode CARS : Li et al 2009). L'approche directe sur bourgeons entiers lyophilisés doit être abandonnée. En revanche, la relation obtenue sur poudre de bourgeons est convaincante (Fig 1) et les paramètres R2_MCCV (Monté Carlo Cross Validation) et PRD_MCCV intéressants (tableau 1). Les corrélations obtenues sont meilleures sur bourgeons floraux que sur bourgeons végétatifs. Les prélèvements réalisées en 2013-14, 2014-15 et en cours d'analyse, doivent nous permettre de conforter les modèles obtenus.

Pour ce qui concerne la callose, des inclusions en paraffines ont été réalisées mais restent à analyser. Une autre approche, plus rapide consistant à colorer immédiatement une coupe de bourgeon réalisée au cryo-microtome nous a permis de révéler la présence de callose ... mais pas là où nous le souhaitions. La technique doit donc être affinée et les analyses approfondies.



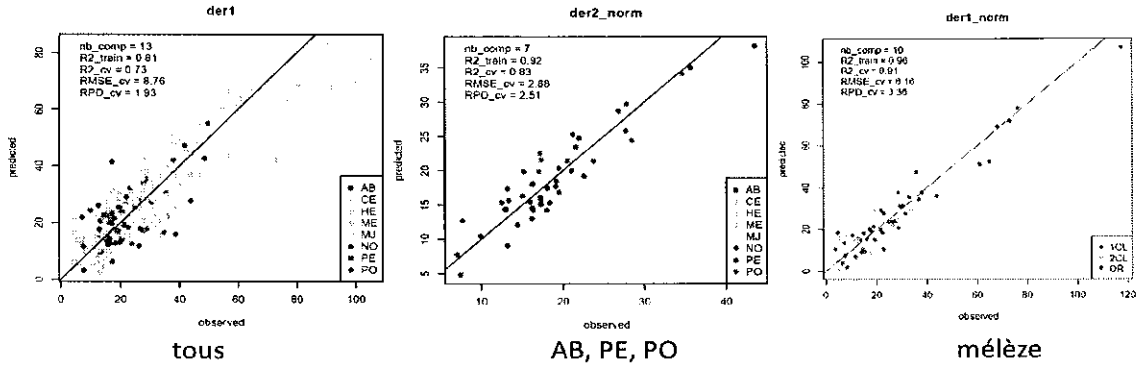
Callose sur bourgeon de pêcher

Conclusion

Concernant l'approche NIRS, les résultats acquis sont à consolider mais on sait déjà que, sur poudre, on obtient une bonne corrélation entre DMDs et Spectres. Pour les bourgeons floraux elle est très bonne, pour les bourgeons végétatifs elle est bonne. Pour les tiges, la qualité est moins bonne mais pourrait constituer cependant une alternative car, cela pourrait rester acceptable pour du screening rapide. Il est encore impossible de trancher concernant l'approche callose.

Références

Li H, Liang Y, Xu Q, Cao D (2009). Key wavelengths screening using competitive adaptive reweighted sampling method for multivariate calibration. Analytica Chimica Acta 648 (2009) 77–84



tous AB, PE, PO mélèze

Figure 1. Qualité des modèles obtenus à partir de poudres de bourgeons végétatifs pour différentes espèces (AB abricotier, PE pêcher, PO pommier, CE cerisier, NO noyer, M mélèze, HE hêtre).

Etat	Tissu	Esp	Effectif	pretr	nbcomp	R2_train	R2_MCCV	RMSE_MCCV	RPD_MCCV	nb_outliers	nb_lambda
Broye	V	AB, CE, PE, PO	62	der2_norm	6	0.68	0.48	4.70	1.40	1	124
Broye	V	AB, PE, PO	47	der2_norm	7	0.92	0.83	2.88	2.51	1	46
Broye	V	HE, M, NO	174	der2_norm	12	0.89	0.82	7.74	2.35	3	126
Broye	V	HE	93	raw	10	0.90	0.83	7.71	2.48	0	365
Broye	V	M	62	der1_norm	10	0.96	0.91	6.15	3.37	0	117
Broye	V	HE, M, PE	80	norm	16	0.95	0.79	8.52	2.24	0	468