

INTRODUCTION A LA JOURNEE

LE PHENOTYPAGE A HAUT DEBIT DES PLANTES EN AGRICULTURE : EVOLUTION, APPLICATIONS, et QUESTIONNEMENTS

Philippe GATE

Académie d'Agriculture de France, ancien Directeur scientifique d'ARVALIS-Institut du Végétal,
Association des Sélectionneurs Français
philippegate01@gmail.com

RESUME

Cette présentation introductive à la journée de l'ASF consacrée au phénotypage à haut débit en amélioration des plantes, a comme objectif d'en exposer les principaux champs d'application en agriculture avec ses différents utilisateurs et clients, en approfondissant les éléments liés au métier de sélectionneur. Elle détaille et analyse l'évolution du phénotypage au travers de deux exemples, la qualité du blé tendre et le pilotage de la fertilisation azotée. Elle a aussi pour but d'apporter des éléments de discussion et de réflexion sur les stratégies à adopter pour que le phénotypage contribue le plus efficacement possible à l'amélioration des plantes :

- Une discussion autour des variables de sortie des capteurs les plus appropriées en fonction de ce qui est recherché et aussi des étapes de la sélection : variables proches du signal brut des capteurs, indicateur plus élaboré proche d'une fonction ou bien accès plus direct à un mécanisme physiologique particulier, en estimant les atouts et les inconvénients.
- Une analyse de l'impact de l'évolution de la variabilité géographique et interannuelle sous l'effet du dérèglement climatique et de la mise en œuvre de pratiques agroécologiques sur les activités de phénotypage. Cette considération alimente l'importance grandissante d'accorder davantage d'attention et de moyens au phénotypage fin des environnements ainsi qu'à leur évolution dans l'espace et dans le temps.
- En résultante, un point sur l'équilibre des efforts à porter entre le degré de sophistication des indicateurs de phénotypage et le niveau de diversité des environnements est argumenté.

Cette présentation se termine par les objectifs nouveaux assignés au phénotypage pour que la génétique puisse contribuer plus activement à l'agroécologie et proposer des espèces et des variétés pour les systèmes de culture de demain.

Mots-clés : Phénotypage des plantes, amélioration génétique, environnement, capteurs, indicateurs de phénotypage, dérèglement climatique, agroécologie

1 - LES MOTS ET ELEMENTS CLES DU PHENOTYPAGE DES VEGETAUX

Le phénotype peut se définir comme l'expression visible des gènes ou bien l'ensemble des caractères apparents ou observables dans un environnement donné. Dans cette définition, chaque mot a son importance et on oublie parfois trop souvent que le phénotype, autrement dit ce qui est observable, en lien avec le comportement des plantes, est conditionné par les caractéristiques des situations environnementales dans lesquelles les expériences sont effectuées.

Le phénotypage (présenté schématiquement figure 1), c'est-à-dire la mesure du phénotype, et tout particulièrement le phénotypage à haut débit repose sur le tryptique capteurs-vecteurs-données. Les couples capteur-vecteur les plus appropriés peuvent être définis en fonction de ce que l'on veut observer, c'est-à-dire de la nature de l'information à qualifier (les variables que l'on cherche à estimer), mais aussi en fonction du niveau de précision, de résolution spatiale et de productivité recherché. Les variables en sortie des capteurs sont le plus souvent des variables de structure (par exemple la taille, la forme des feuilles) ou des variables en lien avec des fonctions de la plante. En ce cas, ces variables indicatrices du fonctionnement sont plus ou moins proches de la fonction que l'on veut estimer. On fait parfois appel à des variables « proxy », c'est à dire des variables issues d'un capteur et pour lesquelles on dispose de corrélations suffisamment précises et spécifiques avec un indicateur de fonctionnement. Ces variables sont fréquemment des combinaisons mathématiques de différentes bandes spectrales liées à certaines propriétés biophysiques des plantes. Il s'agit en quelque sorte de variables substitutives, qui ne sont pas significatives en soi, mais qui remplacent une variable utile. On peut par exemple citer le NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) pour estimer une quantité de biomasse ou bien le MCARI2 pour estimer l'évolution de la sénescence d'un couvert au cours du temps. Les variables proxy ou de télédétection issues des capteurs peuvent aussi être couplées à des modèles de fonctionnement des cultures. En ce cas, on recherche des valeurs spécifiques de certains paramètres fonctionnels afin d'être plus proche du fonctionnement physiologique réel de la plante.

Des exemples concrets seront présentés pendant cette journée sur le tournesol et le maïs qui notamment visent à estimer l'adaptation des variétés au changement climatique, en particulier à la sécheresse, au travers de fonctions clés comme la régulation stomatique, la croissance foliaire ou bien la plasticité de l'indice foliaire (exposés de Nicolas Langlade sur le tournesol et de François Tardieu sur le maïs).

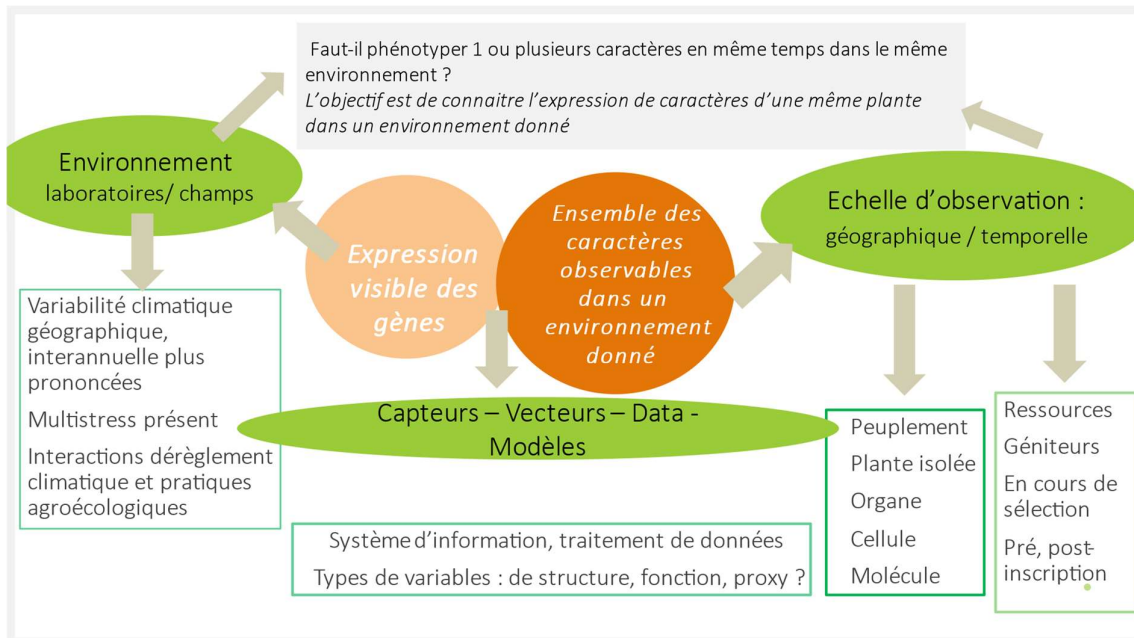


Figure 1. Définitions, contexte et mots clés du phénotypage.

Les couples capteur-vecteur génèrent un très grand nombre de données : on est dans le « big data », domaine qui repose sur (et impose) la règle des 4 V : volume, vitesse, variabilité (diversité) et aussi valeur ou validité des données, assurant la crédibilité et la pertinence nécessaires. Certains projets de recherche, et tout particulièrement le projet PIA Phénome (géré par l'INRAe-LEPSE, Écophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, Montpellier) se sont donc attachés à l'enjeu stratégique que constitue la mise au point de systèmes d'information dédiés à la gestion et à la valorisation des volumes de données générés par les différentes plateformes de phénotypage via le développement de chaînes de traitement complètes.

La définition du phénotypage questionne également la notion d'échelle d'observation avec deux dimensions importantes à considérer : l'échelle « géographique » de mesure soit le pixel d'observation ainsi que la dimension temporelle. Le phénotypage à haut débit peut dorénavant être effectué à l'échelle du peuplement, directement au champ et sans prélèvement de plantes. Il peut aussi concerner une plante isolée, un organe (y compris un organe souterrain avec des plateformes dédiées comme les rhizotrons), une cellule ou bien une molécule. Il est fondamental que les infrastructures de phénotypage mises en place et qui travaillent à des échelles géographiques différentes puissent assurer le continuum dans l'acquisition de références afin de fournir des cartes d'identité les plus pertinentes et complètes possibles.

Pour le sélectionneur, l'échelle temporelle interroge directement l'étape durant laquelle il est opportun de phénotyper : lors de la caractérisation des ressources génétiques, pour le choix des géniteurs, en cours de sélection ou pourquoi pas pendant la pré-inscription ou la post-inscription des variétés afin de mieux définir les modes d'emploi des variétés.

Le mot « environnement » exerce un poids de plus en plus important dans les performances et la variabilité des performances des géotypes. La variabilité climatique, de plus en plus prononcée à la fois d'un point de vue géographique mais aussi interannuel, pèse davantage sur le comportement des géotypes. En plus, le dérèglement climatique interagit avec le développement d'un grand nombre de pratiques agroécologiques, les effets de ces dernières étant effectivement davantage variables d'une situation à une autre. Un tel contexte impose de disposer d'une vision dynamique de ce qui est observé, car à cause de l'évolution du climat, ce qui est vrai aujourd'hui pourra être faux demain. Ce contexte questionne aussi s'il est préférable de phénotyper en conditions contrôlées, sans doute répétables, ou bien dans les conditions naturelles. Dans les conditions naturelles, les plantes sont de plus en plus soumises à l'action de stress multiples, qu'ils soient d'ordre biotique ou abiotique, avec des conditions environnementales qui sont instables, y compris d'une année à l'autre en un même lieu. Si l'on se réfère à l'objectif du phénotypage qui est de connaître l'expression de caractères (au pluriel) d'une même plante dans un environnement donné, une question devient de plus en plus centrale : faut-il phénotyper un ou plusieurs caractères dans un même environnement compte tenu des effets variables, plus ou moins spécifiques des conditions et facteurs du milieu, sur l'expression visible des gènes ? Les infrastructures de phénotypage, qu'elles soient en laboratoires ou au champ, sont très généralement, voire systématiquement utilisées pour l'observation d'un trait particulier et non de plusieurs simultanément.

Enfin, l'environnement avec toute sa diversité, sa variabilité et ses impacts prégnants renforce l'intérêt de consacrer plus d'efforts et de moyens pour un phénotypage fin et accessible des conditions et facteurs du milieu en lien avec le comportement des plantes. Il n'y a encore que quelques années, la variable « milieu » des interactions géotype x milieu était le plus souvent décrite par des critères aussi peu informatifs que le numéro de département, l'année de récolte...

2 - LE PHENOTYPAGE VEGETAL

2.1 – Clients et champs d’application

On peut schématiquement définir quatre grands types de clients utilisant ou valorisant le phénotypage végétal : les sélectionneurs, les techniciens d’expérimentation, les agriculteurs et les filières. Les sélectionneurs, les techniciens et les conseillers agricoles mobilisent le phénotypage pour évaluer les variétés. Le sélectionneur l’utilise spécifiquement dans le cadre de la création variétale en réponse à des marchés et aussi en lien avec les critères présents dans le cahier des charges pour l’inscription des variétés. Le conseiller ou le technicien mobilise le phénotypage pour l’acquisition de références expérimentales, pour établir des diagnostics.

Les agriculteurs sont nombreux à valoriser le phénotypage quand ils utilisent directement ou indirectement certains outils d’aide à la décision pour notamment ajuster les intrants en cours de campagne, pour mettre en œuvre l’agriculture de précision (le bon produit, à la bonne dose, au bon moment et au bon endroit).

Pour les filières, il s’agit davantage de répondre à des cahiers des charges liés à des enjeux commerciaux et de traçabilité sur les qualités des matières premières et des produits finis.

2.2 – Principaux objectifs et principales fonctionnalités

Pour les sélectionneurs et les techniciens d’expérimentation, le principal objectif commun est clairement d’augmenter la productivité du travail. S’agissant du métier de sélectionneur, le phénotypage des plantes à haut débit permet d’accéder à des caractères complexes, mettant en jeu un grand nombre de gènes à effets faibles, car il devient possible d’obtenir une précision suffisante en analysant un très grand nombre d’individus issu d’une large gamme de diversité génétique. Le recours à des capteurs rend également possible l’estimation de variables dynamiques d’intérêt sous forme de cinétique comme le pouvoir couvrant des variétés en début de cycle (réduction des adventices par effet d’ombrage) ou bien l’effet stay-green du couvert en fin de cycle (lié au fonctionnement photosynthétique et à la production végétale). La figure 2, ci-dessous est un exemple concret de ce qu’il est possible d’obtenir à haut débit sur des milliers de parcelles de blé cultivé au champ.

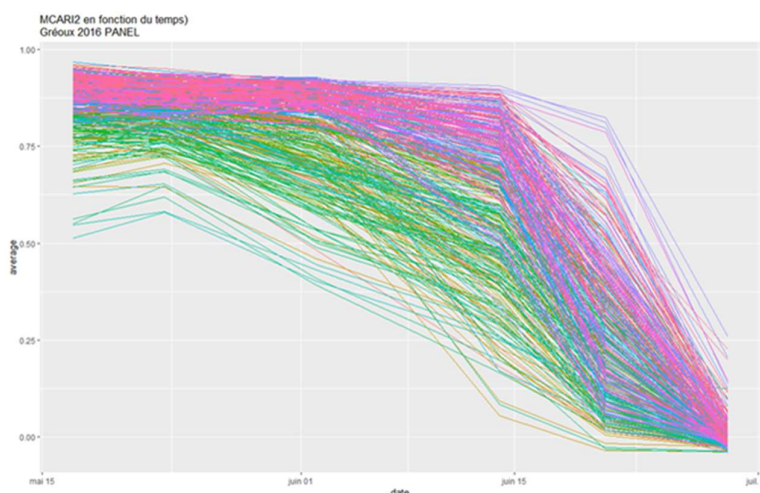


Figure 2 Exemples de cinétique d’un indicateur de phénotypage à haut débit en lien avec l’adaptation au stress hydrique : le MCARI2, proxy de l’indice foliaire vert estimé ici de la floraison à la maturité du blé à 5 dates de mesure. Chaque ligne correspond à une parcelle, avec en vert les parcelles non irriguées et en mauve celles qui ont été irriguées. Ces mesures ont été réalisées à chaque date sur des milliers de parcelles avec la Phénomobile, à Gréoux les Bains.

Le phénotypage haut débit donne par ailleurs accès à des variables devant être caractérisées à un même stade afin d'établir un diagnostic pertinent comme par exemple le statut azoté ou chlorophyllien au stade floraison des céréales qui peut témoigner de traits en lien avec le besoin en azote, la sensibilité à des carences azotées... Le phénotypage haut débit couplé à l'imagerie permet dorénavant, grâce au recours aux méthodes du *deep-learning*, de caractériser ou de dénombrer certaines caractéristiques spécifiques (nombre de plantes, d'épis par unité de surface mais aussi par exemple pourcentage de surfaces atteintes par les maladies, par la sénescence...). A ce titre, les applications liées aux travaux de l'UMT CAPTE qui seront présentées pendant cette journée (exposé de Benoît de Solan) sont aujourd'hui nombreuses et fournissent des niveaux de précision équivalents à ceux obtenus avec les bonnes pratiques des protocoles d'expérimentation.

S'agissant de la cible agriculteurs, la très grande majorité de l'offre est actuellement destinée à améliorer l'efficacité des interventions culturales en cours de campagne. On observe une attractivité grandissante de ces outils. En quelques années, les services proposés par exemple par ARVALIS se sont développés de façon notable, plus 55% en 4 ans. Cette évolution rapide a plusieurs origines : tout d'abord, un intérêt économique indéniable compte tenu de la volatilité des prix (matières premières et intrants) et de la variabilité climatique (de ce fait, les besoins en intrants varient davantage d'une année à l'autre ainsi que la nature des facteurs limitants, y compris les types de bioagresseurs qui peuvent être présents). Le développement de ces outils a aussi une cause liée à l'évolution de la réglementation qui exige désormais la traçabilité des interventions et conditionne l'ajustement à la hausse des doses de fertilisants à la mise en œuvre d'un outil de pilotage.

L'utilisation de ces outils a également un intérêt social, voire sociétal pour l'agriculteur en sécurisant et en légitimant ses décisions, en lui procurant un meilleur confort de travail et en lui permettant d'améliorer sa vie sociale avec plus de temps à consacrer pour d'autres activités. Mais cet essor significatif résulte également de progrès techniques et technologiques. Les outils sont effectivement de plus en plus présents grâce au fait que le capteur « recale » en cours de campagne, à des moments clés, les valeurs de certaines variables de fonctionnement des plantes. Ce procédé dit d'assimilation, permis par le couplage entre les capteurs et les modèles, apporte indéniablement de la robustesse aux outils et permet *in fine* une utilisation dans une bien plus large gamme de situations pédoclimatiques et agronomiques.

Les filières mobilisent le phénotypage pour la traçabilité des matières premières, mais aussi pour le respect des cahiers des charges en lien avec des modes de production spécifiques. Avec l'essor des labels, des indicateurs environnementaux, et plus globalement avec l'étiquetage des produits du champ à l'assiette, le phénotypage est de plus en plus sollicité et mobilisé afin de disposer sur ce continuum des informations nécessaires. Et par ailleurs, la promotion commerciale des matières premières et des produits qui nécessite l'analyse d'un très grand nombre de lots pour la caractérisation de critères qualitatifs (technologiques, sanitaires, nutritionnels) repose de plus en plus sur l'utilisation de capteurs pour phénotyper.

3 – DEUX EXEMPLES D'EVOLUTION D'OUTILS DE PHENOTYPAGE

3.1 – La caractérisation de la qualité boulangère du blé tendre

En 1920, Marcel Chopin invente l'alvéographe. Plus exactement, en 1920, Marcel Chopin dépose un Brevet décrivant l'Extensimètre (Brevet Français N°525.986). Cet appareil simule le gonflement d'une alvéole dans la pâte en gonflant, dans des conditions précises, un disque de pâte préparé au préalable. L'invention devient complète en 1937 (Brevet Français N°925-017) lorsque le même Marcel Chopin ajoute à son invention un pétrin extracteur : l'alvéographe était né ! Cet appareil

permet de mesurer des caractéristiques des farines de blé basées sur l'observation de la déformation de la bulle de pâte. Nécessitant 250 g de farine, il est uniquement utilisé en fin de sélection. En revanche, l'utilisation de cet outil s'est très largement déployée en meunerie et des milliers de meuniers l'utilisent encore aujourd'hui dans le monde entier. Signe qu'il est toujours d'actualité, on trouve sur internet des plateformes qui proposent des versions évoluées, y compris des versions chinoises très bon marché...

En 1947, le test de Zélény fait son apparition et reste davantage utilisé en sélection car seulement entre 3 et 15g de farine sont nécessaires pour évaluer plus rapidement la qualité des farines.

Les années 1970 sont marquées par une innovation majeure : l'identification des blés par électrophorèse (Autran, 1975) et l'utilisation de l'électrophorèse des gliadines et des gluténines pour la création variétale. Cette méthode donne pour la première fois accès aux gènes (ou plus exactement aux versions alléliques des gènes) impliqués dans la qualité des blés, notamment leur aptitude à la panification. Un autre avantage additionnel de la méthode est qu'elle peut être mise en œuvre sur un demi-grain, la deuxième partie du grain comportant l'embryon pouvant en parallèle être semée (observation non destructive sur un unique grain !).

Les années 1990 voient également une révolution majeure : les acteurs de la filière et les acheteurs potentiels connaissent enfin la teneur en protéines des blés français, par variété et en fonction des régions grâce à l'utilisation de la spectrométrie proche infra-rouge (SPIR). Les méthodes utilisées avant cette période reposaient sur des dosages en laboratoire, par minéralisation chimique de l'azote organique (méthode de Kjeldahl) ou bien par combustion totale sous oxygène (méthode de Dumas). Ces méthodes sont coûteuses et surtout incompatibles avec le haut débit. Bien qu'initiées dès les années 1970, les utilisations opérationnelles de la spectrométrie en routine sont donc relativement récentes. Les spectres de transmission ou de réflexion dans le domaine du proche infra-rouge d'un petit volume de grains permettent d'accéder *via* des modèles statistiques (de régression factorielle, de type PLS) à la prédiction quantitative de la composition en certains composés des grains dont la teneur en protéines. Aujourd'hui, grâce à la réduction du coût de ces appareils de mesure, à leur miniaturisation (des outils portables existent depuis peu), leurs domaines d'utilisation se sont élargis à de nombreuses grandes espèces, sur des critères qualitatifs de plus en plus variés de l'alimentation humaine et aussi animale.

Les besoins exprimés par les filières pour le futur concernent la prédiction avant récolte des critères qualitatifs et sanitaires, avec localisation géographique à l'échelle de la parcelle, afin d'avoir des capacités d'anticipation pour décider si une stratégie d'allotement pourrait être valorisée. Cette demande des filières est sans doute à mettre en relation avec des conditions climatiques de fin de cycle de plus en plus variables et extrêmes, se traduisant par des qualités plus hétérogènes à l'échelle régionale et interannuelle. Dans certaines situations, segmenter les lots peut permettre de créer des gains nets même si la logistique génère en ce cas des coûts supplémentaires.

Quant aux sélectionneurs de céréales à paille, leur attente porte sur le phénotypage haut débit permettant de cribler des variétés conciliant bon rendement et teneur en protéines élevée. Les variétés qui ont cette aptitude absorbent par les racines ou transfèrent davantage d'azote vers les grains en fin de cycle. Certaines variables issues de capteurs de proxy-détection en lien avec la teneur en chlorophylle ou en azote seraient potentiellement susceptibles d'évaluer cette capacité. Mais un tel objectif semble aujourd'hui inatteignable compte tenu de la précision requise pour mettre en évidence une différence significative. En effet, un écart de 0,5 point de teneur en protéines met en jeu de l'ordre de 8 kgN/ha dans les grains alors que la plante absorbe en moyenne 230 kgN/ha. Mettre en évidence une telle variation entre deux plantes nécessiterait de parvenir à un niveau de précision de

l'ordre de 3 % alors que les modes opératoires des pratiques expérimentales actuellement les plus rigoureuses (prélèvements de biomasse et dosage de l'azote) fournissent une précision autour de 8 %.

Par ailleurs, la réduction de la dépendance aux engrais azotés de synthèse, principale source d'émission de gaz à effet de serre en agriculture, oriente à porter les efforts de recherche sur la qualité des protéines du grain et non plus quasi strictement sur le seul aspect quantité. Satisfaire les exigences qualitatives de l'aval avec moins d'azote grâce à l'amélioration des profils protéiques de certaines espèces constitue un enjeu essentiel. Mais une telle ambition implique en amont de connaître les types de protéines aptes à satisfaire cet objectif puis de s'assurer également que les indicateurs de phénotypage de ces profils qualitatifs soient compatibles avec le haut débit.

3.2 – L'ajustement de la fertilisation azotée

L'azote constitue en France, le principal facteur limitant de la production en quantité et en qualité. C'est aussi un élément que l'on retrouve sous sa forme nitrique dans les eaux souterraines dès lors qu'il est appliqué en excès par rapport aux besoins de la culture. De plus, une fraction de l'azote non absorbé peut également être émise vers l'atmosphère, par volatilisation sous forme ammoniacale (pertes lors des épandages) ou sous forme de protoxyde d'azote, imputables aux phénomènes de nitrification/dénitrification dans les sols cultivés, en lien avec l'utilisation d'engrais azotés minéraux et la gestion des déjections animales.

Compte tenu de ces enjeux majeurs, l'azote a donc fait l'objet de très nombreuses recherches. En 1969, Jacques Hébert propose une méthode de raisonnement de la fertilisation azotée, basée sur le cycle de l'azote : c'est la méthode du bilan prévisionnel, qui s'est largement enrichie et développée, son utilisation ayant été rendue obligatoire dans le cadre de la Directive Nitrates. Il s'agit d'un bilan de masse, additif, basé sur les entrées (les sources) et les sorties (les exportations par les cultures, les pertes). Sur la base de cette méthode, la dose prévisionnelle est ajustée selon principalement deux variables liées à la parcelle et à l'année, le reliquat d'azote présent à la sortie de l'hiver (à l'entrée du bilan) et l'objectif de rendement, qui définit les besoins en azote de la culture.

En 1984, une innovation majeure élaborée sur les plantes fourragères va permettre d'intégrer de manière dynamique les besoins azotés de la culture avec le concept d'indice de nutrition azotée (INN) : c'est la courbe critique de l'azote (Lemaire et Salette, 1984) qui permet d'estimer en termes de teneur en azote ou de quantité d'azote par hectare dans la biomasse sèche aérienne, la quantité en déficit ou au contraire en excès vis-à-vis d'un statut azoté correspondant à l'optimum pour la production de biomasse, à tout moment du cycle végétatif. Déclinée sur blé (thèse de Justes E., 1993), cette relation agronomique va donner naissance au premier outil de terrain pour le pilotage dynamique de l'azote : la méthode « Jubil », qui établit le lien entre l'INN et un indicateur de nutrition azotée, plus « facile » à phénotyper : la teneur en nitrates du jus extrait de la base des tiges, mesurée grâce à des bandelettes révélatrices mobilisant un réflectomètre, le NITRACHEK 404 (RQFlex 1).

Concrètement, pour mettre au point cet outil, il a fallu construire les relations diagnostiques entre l'INN et la teneur en nitrates, par variété et par stade de développement. Les abaques variétaux sont mis à jour annuellement par expérimentation et sont aujourd'hui disponibles pour les variétés de blé, d'orge, de pomme de terre et de maïs. Peu de temps après, un deuxième outil s'est très rapidement développé, car beaucoup plus pratique de mise en œuvre par les agriculteurs comme par les techniciens d'expérimentation, pour phénotyper les variétés : la pince HNTester proposée par la société YARA (appareil en fait dérivé directement du SPAD 501 de Minolta) capable d'estimer de manière non destructive la teneur en chlorophylle de la feuille par transmittance. Avec la méthode Jubil, l'agriculteur ou le conseiller doit effectivement prélever un grand nombre de plantes, en presser les bases de tiges afin d'extraire le jus des vacuoles, et ce avant l'arrivée du lever du jour...

La méthode FARMSTAR, commercialisée dès 2001, basée sur la télédétection de la chlorophylle et de l'indice foliaire (pour estimer la biomasse sèche) via des satellites est un prolongement méthodologique des approches précédentes. Avec ce changement d'échelle permis par la fauchée des satellites (par exemple 60 km avec SPOT) et leur pixel de résolution de l'ordre de 20 m², cette offre couvre actuellement environ 800 000 hectares en céréales et colza. En 2002, YARA propose le NSENSOR, un équipement optique monté sur le tracteur pour mesurer l'état de nutrition azotée d'une culture afin d'adapter en temps réel la dose azotée épandue à l'échelle intra-parcellaire. Finalement, ce concept sera finalement peu adopté par les agriculteurs compte tenu sans doute du prix de l'équipement ou de la prestation (autour de 20€/ha) alors que les approches par satellites, avec une offre davantage intégrée, permettent elles-aussi, et à moindre coût, une modulation intra-parcellaire des doses d'engrais.

Quelque part ces méthodes destinées à ajuster la fertilisation azotée des cultures ont été pionnières dans le phénotypage des variétés vis-à-vis des besoins azotés. Elles ont permis en particulier d'établir qu'il existait une large gamme de comportements des variétés valorisables par les sélectionneurs. Certaines relations diagnostiques identifiées mériteraient d'être validées et exploitées en amélioration des plantes. Par exemple, la relation entre l'INN et la teneur en nitrates montre que les variétés plus tolérantes à la carence azotée ont pour un même statut azoté (INN) une teneur en nitrates plus basse. L'hypothèse physiologique avancée est que de telles variétés assimilent plus rapidement l'azote : le nitrate resterait moins longtemps stocké dans les vacuoles pour participer plus rapidement à la croissance de la plante et donc plus efficacement en régime de déficit.

L'amélioration de la performance de ces outils passe aujourd'hui par une estimation plus précise et en continu de l'azote du sol. La mesure du reliquat azoté à l'entrée du bilan s'avère insuffisante avec les modèles actuels pour rendre compte de l'azote disponible pour la culture au cours du cycle. En particulier, le coefficient apparent d'utilisation de l'azote engrais (CAU) reste certainement aujourd'hui le maillon faible des modèles de fonctionnement. En fonction des conditions du milieu et de la situation agronomique (état d'humidité du sol, travail du sol...), il est possible d'atteindre des rendements identiques avec des doses très différentes aux mêmes endroits d'une même parcelle d'une année à l'autre compte tenu de la forte variabilité du CAU (Laurent, 2000).

Une enquête nationale (ARVALIS 2021) montre que les mélanges de variétés à l'échelle intra-parcellaire se sont très largement développés pour passer par exemple dans le cadre du blé, de quelques pourcents à 17 % en peu d'années. Ce recours significatif en terme de surface à des mélanges variétaux, et peut être demain à des mélanges interspécifiques, réinterroge fortement les techniques de phénotypage ainsi que les modèles de fonctionnement des couverts végétaux hétérogènes et plus complexes.

4 - INTERPRETATION DES DONNEES CAPTEURS : APPROCHE EMPIRIQUE (DATA DRIVEN) OU MECANISTE ?

L'analyse des données issues des capteurs peut motiver l'utilisation de différents types d'approches qui ont chacun leurs points d'intérêt mais aussi certains inconvénients ou limites.

La variable analysée peut être très peu élaborée et proche du signal brut du capteur. Sous forme cinétique, on peut en ce cas procéder à un regroupement et une classification des données en identifiant notamment des zones de courbes « semblables », en lien avec l'apparition d'un phénomène particulier (survenue d'un stress, par exemple) ou en lien avec l'effet supposé de modalités introduites dans le protocole expérimental. En ce cas les points positifs sont l'absence de pertes d'information (elle est proche d'un signal de base) ainsi que le faible niveau d'expertise et de compétence pour procéder à l'analyse. Les points d'attention portent en revanche sur la signification réelle de ce que

l'on interprète car l'observation peut être ponctuelle, de courte durée, avec des processus de compensation ou de régulation possibles et plus ou moins spécifiques de la plante. La robustesse d'une telle approche doit donc impérativement être appréhendée en répétant l'expérimentation, si cela est possible.

La variable du capteur que l'on interprète peut aussi mieux se raccorder à un indicateur physiologique caractérisant le comportement du végétal. On peut prendre l'exemple de la variable MCARI2, indice qui combine différentes bandes spectrales reconnu pour être un proxy de l'indice foliaire vert et/ou du contenu en chlorophylle du couvert. Exprimée sous forme de cinétique entre des stades clés, cette variable est corrélée à des indicateurs de fonctionnement du couvert. Notamment, entre la floraison et la maturité physiologique, la variable devient un proxy de l'indice foliaire vert intégré en lien avec le fonctionnement photosynthétique du couvert. Dès lors, si l'on introduit des modalités expérimentales susceptibles de modifier ce fonctionnement, tel un stress abiotique (hydrique ou azoté) ou biotique (maladies foliaires), on a alors toutes les chances de discriminer des génotypes plus ou moins adaptés aux stress induits par l'expérimentation. En comparaison au point précédent, l'interprétation est en ce cas bien plus pertinente, car plus proche d'une signification écophysio-logique fonctionnelle et intégratrice. Toutefois, le fait qu'un même indicateur puisse simultanément être une clé pour interpréter des stress de natures différentes questionne. Le ou les stress présents doivent être diagnostiqué(s) et caractérisé(s) avec précision pour éclairer l'analyse ou bien les modalités du dispositif expérimental doivent permettre l'expression d'un stress spécifique. Cette particularité peut par ailleurs constituer un atout pour le sélectionneur si l'on considère que des stress différents répondent à des mécanismes proches : il devient alors envisageable de sélectionner pour plusieurs traits d'intérêt à partir du même indicateur.

Depuis quelques années, la performance des modèles de fonctionnement des cultures reposant sur des connaissances en écophysio-logie et en agronomie devient suffisante pour permettre leur utilisation en sélection, notamment pour des traits d'adaptation. Le recours à des capteurs est très intéressant car ces derniers permettent à la fois de qualifier avec précision certaines variables d'entrée des modèles (y compris des variables environnementales) et des variables de sortie des modèles (variables de structure et de fonction avec des indicateurs plus ou moins proches). Au-delà de ces possibilités d'assimilation, l'idée est aussi de valoriser les capteurs de phénotypage pour accéder beaucoup plus rapidement à un paramétrage variétal de certaines fonctions physiologiques clés de ces modèles. La valeur des paramètres peut être estimée directement grâce à des expérimentations dédiées et spécifiques, comme par exemple pour suivre l'évolution de la croissance foliaire ou du degré d'ouverture des stomates en fonction de l'intensité d'un stress hydrique.

Dans le cas où l'expérimentation ne permet pas d'accéder directement à la valeur des paramètres variétaux, on procède généralement par inversion du modèle fonctionnel à partir des valeurs observées de variables de sortie qui sont connectées aux fonctions analysées. Des recherches ayant adopté de telles approches ont permis d'explorer la variabilité génétique de la réponse de variétés de tournesol et de maïs au changement climatique et de mesurer son intérêt, notamment vis-à-vis de la ressource en eau. Cette démarche appliquée au blé dur donne lieu à de premières préconisations de variétés les mieux adaptées aux stress hydriques sévères de type méditerranéen tout en identifiant les traits adaptatifs impliqués comme la plasticité de l'indice foliaire et l'efficacité de la transpiration face au stress hydrique (Piquemal *et al.*, 2018). La limite de ces approches dépend de l'étendue de la variabilité génétique explorée au regard de la précision finale des modèles qui cumule en ce cas les incertitudes propres au modèle et celles issues de l'utilisation des capteurs. Ce point mériterait une étude en amont afin de définir en quelque sorte un « indice d'opportunité » : quelles sont les chances de mettre en évidence de manière significative des différences de comportement entre variétés ?

5 - UN CONTEXTE D'ÉVALUATION QUI ÉVOLUE ET QUI SE COMPLEXIFIE

5.1 – Davantage de variabilité spatiale et temporelle

Le résultat de ce qui est observable est conditionné par l'environnement dans lequel le phénotypage est effectué. Durant les années antérieures aux signes du changement climatique (avant les années 1995, d'après les experts de MétéoFrance), le climat était plus stable, plus monotone et de ce fait, l'environnement était plutôt considéré comme une composante mineure. Depuis quelques années, l'environnement, sous l'effet principalement du dérèglement climatique, devient de plus en plus changeant, voire imprévisible. De ce fait le phénotypage des milieux, c'est-à-dire la caractérisation fine des conditions et des facteurs qui influencent le comportement des plantes devrait devenir un objet d'étude prioritaire.

Concrètement, le rendement de nombreuses espèces stagne mais surtout, depuis les années 1995 environ, on observe une bien plus forte variabilité des rendements entre les départements et au sein même des départements (Bertuzzi, 2018). C'est clairement depuis cette période que la variabilité en valeur moyenne est la plus élevée, avec par ailleurs une variabilité interannuelle jamais observée auparavant. Une analyse a révélé que les années à plus forte variabilité correspondent à des conditions de fortes sécheresses, de températures caniculaires et que celles où les rendements entre les régions sont les plus proches se rapportent à des millésimes humides, à faibles rayonnements, à fortes nuisibilités des maladies.

En lien, des références ont clairement démontré que la variabilité du classement des variétés sur le critère rendement est beaucoup plus variable d'une année à l'autre depuis les années 1995 environ (Gate, 2015). Cet accroissement très significatif de l'effet du milieu dans l'interaction génotype x environnement s'explique par une augmentation en fréquence et en intensité de conditions climatiques plus défavorables, et par ailleurs moins prévisibles.

En complément, une étude récente menée par ARVALIS a permis de dresser une typologie des scénarios des déficits hydriques en France pour le blé. En fonction de l'intensité du stress, mais aussi en fonction de sa plus ou moins grande précocité ou de sa durée, cinq scénarios différents ont pu être identifiés à l'échelle de la France, en fonction des régions mais aussi avec la possibilité de plusieurs scénarios dans une même région certaines années. Et dans le prolongement, la caractérisation des sols démontre que dans bien des parcelles, une variabilité très significative de la réserve en eau existe à l'échelle intra-parcellaire (Figure 3, en exemple).

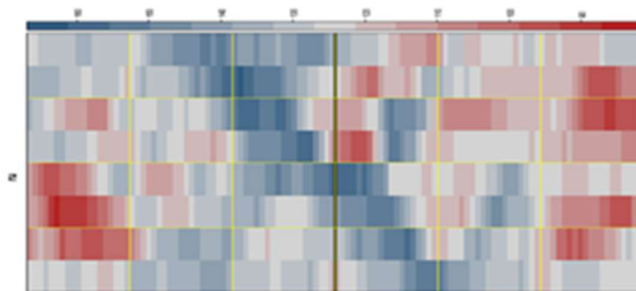


Figure 3. Exemple de variabilité intra-parcellaire de la réserve hydrique utile. Cette variabilité est estimée et quantifiée grâce à un couplage entre des prélèvements de sol (mesure de la densité apparente notamment) et des données de issues de capteurs (de résistivité). Cette miniaturisation du phénotypage des environnements apporte des gains de précision indéniables dans l'interprétation des données sur les plantes.

Tous ces éléments mettent explicitement en évidence l'intérêt de mieux connaître les environnements aux différentes échelles, en développant si possible une capacité prospective (quelles trajectoires demain dans les différentes régions). La variabilité interroge aussi sur les intérêts de phénotyper en présence d'un gradient de stress alors que les modalités expérimentales sont souvent binaires (avec ou sans stress, avec ou sans irrigation, avec ou sans azote, traité ou non traité contre les maladies...). L'interpolation entre deux modalités distantes est de fait hasardeuse et risquée. Cette approche devient aujourd'hui insuffisante pour embrasser la variabilité des scénarios qu'une plante peut rencontrer.

En termes de stratégie pour le sélectionneur, il y a donc une réflexion à approfondir quant à l'équilibre des efforts à porter entre le degré de sophistication des indicateurs de phénotypage et le niveau de diversité des environnements. Comme le sélectionneur analyse les liens entre le phénotype et le génotype, et que le phénotypage est coûteux en temps et dépend de l'environnement, les dispositifs expérimentaux où l'on peut phénotyper rapidement en générant plusieurs environnements sont sans doute à privilégier.

5.2 – L'agroécologie comme mode de production

L'agroécologie qui a été retenue comme mode de production privilégié au moins à l'échelle de la France et de l'Europe donne en quelque sorte les nouveaux jalons et les prochaines étapes pour le phénotypage des plantes cultivées.

En rupture avec l'agriculture conventionnelle, l'agroécologie vise à favoriser les régulations biologiques afin de réduire l'utilisation des intrants de synthèse et de mieux gérer les ressources. Cela impose de caractériser de manière dynamique la diversité fonctionnelle intra et interspécifique à l'échelle des agrosystèmes, d'optimiser les relations fonctionnelles entre les plantes cultivées et aussi les interactions plantes-microorganismes favorables. Pour l'amélioration des plantes, il s'agit d'un réel changement de paradigme dans le sens où, jusqu'à présent, la génétique a surtout produit des couverts semés finalement peu diversifiés, en améliorant des traits dans des systèmes où la régulation biologique s'exerçait peu (avec des cultures conduites à l'optimum via l'utilisation d'intrants de synthèse) et sans appréhender les complémentarités fonctionnelles entre les plantes.

Les Programmes d'Investissement d'Avenir en biologie végétale (huit projets "Biotechnologie & Bioressources" sur l'amélioration génétique et 1 projet "Infrastructure" sur les technologies de phénotypage) ont porté sur les espèces élites. Comment les connaissances acquises ainsi que les infrastructures de phénotypage financées dans le cadre de ces projets pourront-elles être déclinées vers d'autres espèces, notamment des espèces secondaires ou orphelines et s'élargir aux couverts végétaux utilisés en interculture, associées temporairement ou de manière plus permanente à d'autres espèces ?

Les systèmes d'information ainsi que les traitements de données issus des couples vecteur-captteur élaborés dans le cadre du projet Phénomène pourront être valorisés sur des traits en lien avec l'agroécologie. Par exemple, le pouvoir couvrant des espèces peut être appréhendé par un suivi dynamique du taux de couverture ou de l'indice foliaire. Un tel phénotypage a été valorisé avec succès pour réduire, dans le cas du blé, le développement des adventices par effet d'ombrage (Figure 4), ou pour échapper aux ravageurs ailés de début de cycle (altises) dans le cadre du colza.

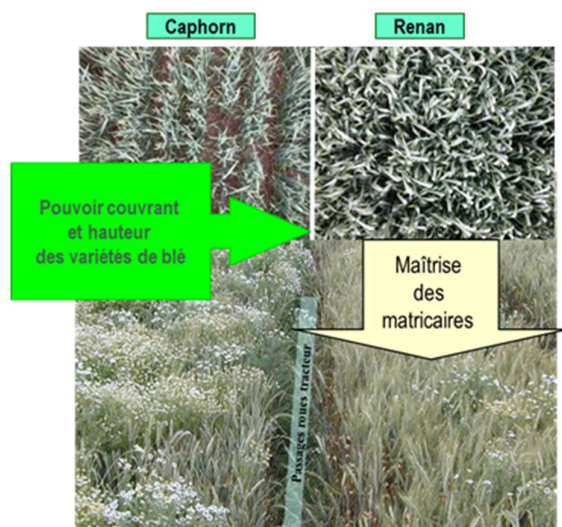


Figure 4. Illustration concrète de la possibilité de phénotyper pour des caractères en lien avec l'agroécologie avec des capteurs numériques : analyse d'images pour la caractérisation du pouvoir couvrant des variétés pour étouffer par effet d'ombrage les adventices du blé ; deux variétés à comportement distinct (Caphorn et Renan) et effet sur le développement des adventices (matricaire). Source : Projet FSOV CASDAR 2010.

Les infrastructures de phénotypage travaillent déjà pour les systèmes de culture de demain : caractérisation de la diversité interspécifique, des relations entre plantes, relations plantes micro-organismes (comme à l'INRAE de Dijon avec la plateforme de phénotypage pour l'interaction plantes-microorganismes, 4 PMI, rattachée à l'UMR Agroécologie, et comme à l'INRAE de Toulouse avec la Plant Microbe Phenotyping Platform), identification de plantes pièges ou répulsives (émission de composés organiques volatils, mise en évidence de propriétés allélopathiques), phénotypage de l'aptitude des plantes à induire des défenses naturelles...

En parallèle, l'offre en capteurs s'enrichit aussi avec à titre d'exemples, les rhizotrons qui permettent dorénavant d'étudier la complémentarité dans l'espace et dans le temps des systèmes racinaires de plusieurs espèces, l'utilisation d'optodes au contact des racines pour caractériser l'aptitude d'une légumineuse à améliorer la biodisponibilité du phosphore d'une céréale...

Ces quelques exemples témoignent que le phénotypage au service de l'agroécologie est en marche.

6 – CONCLUSION

En quelques années, sous l'impulsion de projets du Programme Investissement d'Avenir, comme en particulier le projet Phénome, et l'UMT CAPTE dédiée à la valorisation des capteurs dans le domaine du végétal, les avancées en matière de phénotypage ont été remarquables. Les efforts menés sur le développement de systèmes d'information sont dès à présent capables de proposer des chaînes complètes de traitement des données, du signal de différents couples capteur-vecteur jusqu'à des indicateurs de phénotypage. Comme nous l'avons vu, ces indicateurs peuvent être de natures différentes, avec des variables plus ou moins élaborées, plus ou moins proches du signal du capteur ou au contraire approchant une fonction physiologique.

Les plateformes de phénotypage sont par ailleurs très diversifiées : de plein champ ou au contraire en conditions contrôlées, avec des échelles géographiques d'observation allant du peuplement végétal à la molécule, sans oublier les organes souterrains, et couvrent un choix de caractères extrêmement riche. En outre, ces différentes plateformes, avec la disponibilité de capteurs mobiles, donc transportables, donnent la possibilité de phénotyper sur une très large gamme d'environnements.

Rendre cette offre accessible et opérationnelle au plus grand nombre de sélectionneurs pour accélérer l'innovation génétique devient une question stratégique. Initialement, ces outils ont plutôt été conçus pour porter des projets de recherche amont et non pour être utilisés dans des programmes de sélection. Un nouvel équilibre en termes d'utilisation et de clients de ces plateformes avec leurs chaînes de traitement est à promouvoir si l'on ambitionne une traduction opérationnelle de ces recherches à destination des producteurs. Dans le même ordre d'idée, certains dispositifs pourraient être utilisés avantageusement pour l'inscription des variétés. Vis-à-vis de traits importants comme l'adaptation au changement climatique (adaptation à la sécheresse, au faible rayonnement), mais aussi vis-à-vis de la sobriété en azote, de la réduction du développement des adventices par effet d'ombrage, l'offre est déjà disponible. Cet objectif serait par ailleurs cohérent avec les ambitions du plan national « Semences et Plants pour une Agriculture Durable » (SPAD) et légitime du fait que, pour la plupart, ces plateformes ont été financées dans le cadre du grand emprunt national.

D'un point de vue technique et scientifique, on pressent bien aussi l'intérêt et la pertinence de pouvoir assurer un continuum dans l'acquisition de références issues de ces différentes plateformes. Il est fondamental que les infrastructures qui travaillent à des échelles géographiques et sur des caractères différents puissent mutualiser les références acquises, afin de fournir des cartes d'identité les plus pertinentes et complètes possibles, dans des gammes d'environnement les plus variés.

Comme nous l'avons argumenté, les approches méthodologiques peuvent être très différentes, parfois complémentaires, avec pour certaines des atouts, pour d'autres des limites accompagnées de recommandations. Ce point concerne à la fois la nature de l'indicateur à choisir, l'intérêt d'en phénotyper plusieurs (compte tenu des interactions avec l'environnement), l'échelle d'observation, le moment où il convient de phénotyper dans la chronologie du programme de sélection et la gamme des environnements. Face à l'étendue de ces choix multiples, la rédaction d'un « guide méthodologique » pour orienter le sélectionneur vers les meilleures options serait bien utile. Comme nous l'avons signalé, l'une des limites de ces approches dépend de l'étendue de la variabilité génétique explorée au regard de la précision finale de ce que l'on phénotype, qui cumule les incertitudes liées au capteur, au vecteur, au modèle utilisé. Idéalement, il conviendrait donc de définir en amont un « indice d'opportunité » afin d'estimer au préalable les chances de mettre en évidence de manière suffisamment significative des différences de comportement entre plantes.

Enfin, le contexte changeant impose aux recherches et aux applications du phénotypage de se projeter dans le temps, de se doter d'une vision dynamique, voire prospective. L'évolution de l'offre en capteurs et en traitement de données, ainsi que la connaissance des futurs systèmes de culture en lien avec l'agroécologie et la progression spatiale et temporelle des effets du dérèglement climatique seront des points essentiels à considérer.

*Journée Scientifique ASF du 3 février 2022
« Quoi de neuf sur le phénotypage en amélioration des plantes ? »*

REFERENCES

Autran J.C. et Bourdet A., 1975. – Nouvelles possibilités de contrôle variétal qualitatif et quantitatif dans les lots de blés commerciaux - *CA Acad Agric*, 1975

Bertuzzi P., 2018. - *Communication personnelle*

Gate P., 2015. - Quelle place de la génétique dans le futur avec la perspective d'augmenter la production et d'apporter une contribution positive à l'environnement. - *Lettre de l'Association Française d'Agronomie*, 2015

Justes, E., 1993. - Diagnostic de la nutrition azotée du blé à partir de la teneur en nitrate de la base de la tige. Application au raisonnement de la fertilisation azotée - *Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse*

Laurent F., 2000. - Réponse du blé à l'azote : Faut-il varier la dose d'azote en parcelles hétérogènes - *Perspectives Agricoles* - n°262 - novembre 2000

Lemaire G. et Salette J., 1984. - Relation entre dynamique de croissance et dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de graminées fourragères. I. Etude de l'effet du milieu – *Agronomie*, 4 (5) 423-430

Piquemal B., de Solan B., Jézéquel S., Moulin O., Camou S., Thomas S., Beauchêne K., Cohan J.P., 2018. - Crop model inversion in field high throughput phenotyping tool: first results and perspectives in breeding and commercial wheat varieties characterization - *5th International Plant Phenotyping Symposium 2-6th of October 2018 - Adelaide (Australia)*