



## Utilisation de multiples paramètres de fluorescence de chlorophylle pour construire une approche de classification hiérarchique Hierarchical clustering pour la discrimination de stress biotiques aboutissant à des phénotypes similaires visuellement

Valerian Méline <sup>1,3</sup>, Chrystelle Brin <sup>1</sup>, Etienne Belin <sup>2</sup>, Tristan Boureau <sup>1,3</sup>

1 : EMERSYS, SFR 4207 QUASAV, IRHS, UMR1345, INRA, F-49071 Beaucozé, France

2 : IMHORPHEN, SFR 4207 QUASAV, F-49045, LARIS, Université d'Angers, F-49045 Angers, France.

3 : IMHORPHEN, SFR 4207 QUASAV, IRHS, UMR1345, Université d'Angers, F-49045 Angers, France.

**Orateur : Tristan BOUREAU**

Lors de l'étude des interactions plantes-pathogènes, le phénotypage des stress biotiques est souvent limité par la difficulté de discriminer visuellement les phénotypes causés par des stress différents. En particulier, les souches pathogènes mutées dans des gènes de virulence peuvent dans certains cas ne produire aucun phénotype identifiable visuellement.

Récemment, l'imagerie de fluorescence de chlorophylle a été utilisée de manière croissante pour quantifier l'impact de divers pathogènes sur plantes. De nombreux paramètres de fluorescence de chlorophylle mesurés ou calculés, tels que Fv/Fm et NPQ peuvent être utilisés pour le phénotypage des interactions plantes-pathogènes, et peuvent dans certains cas permettre des interprétations physiologiques. Cependant, malgré la diversité disponible, la plupart des études n'utilise qu'un nombre restreint de paramètres de fluorescence de chlorophylle. Cela peut ainsi résulter en une capacité limitée à discriminer des phénotypes visuellement similaires ou identiques, qui seraient pourtant causés par des stress différents.

Nous avons développé une approche basée sur la combinaison de multiples paramètres de fluorescence de chlorophylle. Cette méthode met en jeu une première étape de calcul de distance de Bhattacharyya entre les histogrammes associés aux images de fluorescence de chlorophylle, puis une seconde étape de classification hiérarchique. La méthode développée permet de prendre en compte l'hétérogénéité inter-feuilles des phénotypes étudiés.

Le potentiel de cette la méthode a été évalué sur deux jeux de données indépendants.

- Dans le premier jeu de données, nous avons comparé l'impact sur les tissus foliaires de *Nicotiana benthamiana* de l'inoculation de souches de *Xanthomonas* mutées pour des facteurs de virulence uniques (effecteurs de type 3). Parmi ces souches, certaines produisaient un phénotype visible. Ce premier jeu de données a été utilisé comme « vérité terrain » pour permettre le calibrage et la validation de la méthode construite.

- Dans le second jeu de données, nous avons comparé l'impact sur les tissus foliaires de *Nicotiana benthamiana* de l'expression transitoire d'effecteurs de type 3 uniques par agrotransformation. Les expressions transitoires des différents effecteurs sur feuille ne conduisaient à aucun phénotype visible à l'œil. L'utilisation de la méthode développée dans ce travail a permis une discrimination satisfaisante des tissus de *Nicotiana benthamiana* exprimant différents effecteurs de type 3.

Ainsi la méthode développée présente un intérêt pour la discrimination de tissus végétaux soumis à divers stress mais pour lesquels aucun phénotype n'est visible à l'œil.