

Mesure de la concentration et de la distribution de la leghémoglobine au sein de nodosités de pois protéagineux par imagerie hyperspectrale proche infrarouge.

Damien Eylenbosch¹, Vincent Baeten², Pierre Delaplace¹, Benjamin Dumont¹, Juan Antonio Fernández Pierna², Bernard Bodson¹

¹ Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Belgique

² Centre wallon de Recherches Agronomiques, Belgique

Les légumineuses ont la formidable capacité de fixer l'azote atmosphérique grâce à une symbiose avec des bactéries spécifiques au sein de leurs nodosités. Cette fixation d'azote atmosphérique est entre autres rendue possible grâce à une protéine, la leghémoglobine. Cette protéine est synthétisée au sein des nodosités et préserve de l'oxydation la nitrogénase, l'enzyme responsable de la transformation de l'azote atmosphérique (N₂) en ammoniac (NH₃), une forme d'azote assimilable par la plante.

La concentration en leghémoglobine au sein des nodosités permet d'estimer l'activité fixatrice d'azote des légumineuses. La quantification de cette protéine est donc importante au niveau de la recherche agronomique. La méthode couramment utilisée nécessite l'extraction de la protéine et sa transformation en cyanmethémoglobine avant de pouvoir la quantifier par spectrophotométrie avec l'hémoglobine humaine ou animale comme référence. Cette méthode prend du temps, est sujette aux erreurs de manipulation, nécessite l'emploi de réactifs toxiques et de plusieurs nodosités pour pouvoir réaliser la mesure.

Une méthode plus simple, plus rapide, ne nécessitant pas la destruction des nodosités ni l'emploi de réactifs a été mise au point avec l'imagerie hyperspectrale proche infrarouge. Cette technique d'analyse est la combinaison de la spectroscopie proche infrarouge et de l'imagerie. Elle permet l'acquisition d'un spectre proche infrarouge par pixel d'une image. La régression construite sur base de la méthode de référence de quantification de la leghémoglobine et de spectres proches infrarouges acquis sur des nodosités séchées a montré une bonne corrélation ($R^2 = 0.9$).

L'imagerie hyperspectrale permettant d'acquérir un spectre proche infrarouge par pixel de l'image, il est donc possible, grâce à la régression développée, de connaître la concentration en leghémoglobine de chaque pixel d'une image hyperspectrale acquise sur des nodosités. Un traitement supplémentaire permet de connaître la concentration moyenne en leghémoglobine de chaque nodosité prise séparément. Des plus, lorsque cette nouvelle méthode de quantification est couplée à une méthode de classification permettant de discriminer les racines de pois et les nodosités sur base de leur spectres proches infrarouges, il est également possible d'étudier la répartition des concentrations en leghémoglobine au sein des nodosités d'une plante sans devoir détacher les nodosités des racines.

Au cours d'une étude réalisée sur des pois protéagineux d'hiver et de printemps, cette méthode a été utilisée pour suivre l'évolution des teneurs en leghémoglobine au sein des nodosités et la répartition de ces teneurs sur des systèmes racinaires prélevés en conditions réelles de culture. Les effets de la variété de pois, de fertilisations et de l'association culturale avec des céréales sur ces concentrations en leghémoglobine ont également été étudiés.