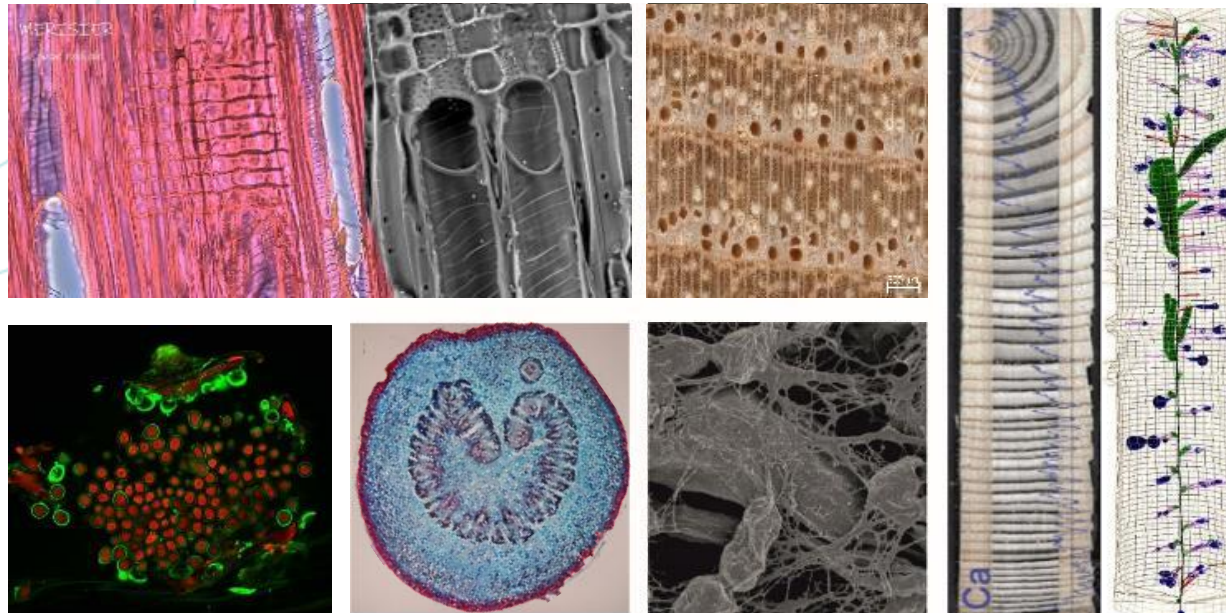


Phénoboïs et Silvatech

Deux pôles de compétences techniques au service de la communauté des sciences forestières et du bois

Nathalie BOIZOT – Julien RUELLE





Phénobois : phénotypage des propriétés physico-chimiques du bois et hydrauliques des arbres



✓ Plateforme créée en 2008

✓ 3 UMR de rattachement

- BIOFORA - Orléans
- BIOGECO - Bordeaux
- PIAF - Clermont

✓ 4 sites

- INRAE Orléans
- INRAE Clermont-Crouël
- INRAE Bordeaux-Cestas
- Université Bordeaux-Pessac



✓ 16 agents permanents (8,75 ETP)

✓ Labellisations et certification

Infrastructure Scientifique Collective INRAE depuis 2018



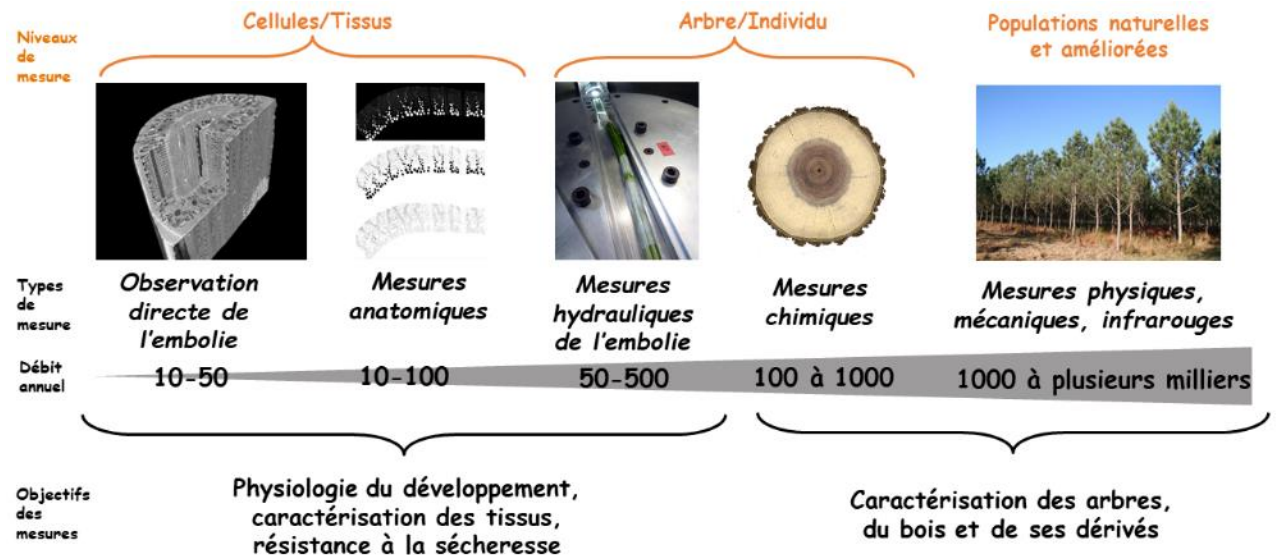
Plateforme de l'Université de Bordeaux depuis 2019



Certification ISO9001 depuis 2023



- Diversité de **mesures d'évaluation directe ou indirecte des paramètres phénotypiques du bois** pour
 - caractériser le bois et comprendre les processus d'élaboration de ce tissu
 - étudier l'adaptation et la réponse des arbres au stress hydrique
 - identifier les ressources génétiques forestières capables de s'adapter aux climats changeants de demain tout en produisant du bois de qualité et en quantité
- **Approche multi-échelle** : de cellule jusqu'à la caractérisation du bois des arbres issus de populations naturelles ou des programmes d'amélioration génétique
- Selon les technologies, **capacités d'analyses à haut débit** => plusieurs milliers d'échantillons par an



> ID SILVATECH

- Plateforme d'**analyse** et d'**imagerie** des **structures**, **propriétés** et **fonctions** au sein de l'**arbre** sous **multi-stress** dans son **écosystème** jusqu'au **bois matériau**
- **15 ETP TR-IR** (14 perm. + 2 CDD)
- **30 équipements lourds**
- **6 ateliers de préparation** (histologie, isotopie, extraction, bois, mécanique, impression additive)
- ≈ 50-80 projets/an
- ≈ **28 publications/an** (2018-2024)
- Portée par **4 unités de recherche** (SILVA, IAM, LERMAB, BEF)
- Labellisée **Infrastructure Scientifique Collective** (ISC-INRAE)
- Labellisée **Structure Technique d'Appui à la Recherche** (STAR-LUE)
- Certifiée **ISO9001**



IMAGERIE ET MESURES MULTI-MODALES



ISOTOPIE-CHIMIE



➤ Missions

Services aux communautés scientifiques

Développements

Formations



Accès aux infrastructures de recherche

- Les infrastructures de recherche (IR) de l'Inra sont ouvertes à toutes les unités de recherche de l'Inra ainsi qu'aux autres acteurs de la recherche publique ou privée. Des modalités de régulation peuvent être instaurées selon des combinaisons de principes de la charte.
- L'accès aux services offerts par les IR est fourni sous condition d'une double évaluation scientifique par les pairs et technique et économique par l'IR.
- Les données collectées dans le cadre des IR sont accessibles selon des procédures qualifiées.
- Les IR sont dotées d'instances collectives de gouvernance reconnues : celles-ci sont notamment en charge du respect de ces principes d'ouverture, de durabilité économique et d'accessibilité aux dispositifs ou aux données produites.

Information

- Les IR apportent, via un dispositif unique et transparent, les informations sur les services et les matériels qu'elles fournissent, les procédures de soumission, les conditions d'usage et la gestion des données.
- Les IR disposent d'un règlement intérieur et d'un guide d'usage des infrastructures et dispositifs.
- Les utilisateurs apportent aux IR une information complète sur les expérimentations et les observations qu'ils comptent conduire dans les dispositifs, sur les matériels physiques ou biologiques qu'ils pourraient introduire ou utiliser ainsi que sur l'utilisation des données fournies, en accord avec les règles de confidentialité fixées d'un commun accord.
- Les IR et les utilisateurs s'assurent que les IR sont dûment citées dans les productions (publication, brevet etc.) auxquelles les IR ont contribué.

Conditions économiques et financières

- L'accès aux services apportés par les IR respecte les règles de libre concurrence.*
- Les charges à payer pour accéder aux services d'une IR permettent sa soutenabilité économique. La détermination de ces charges — variant des coûts marginaux aux coûts complets — fait l'objet de règles claires et explicites, modulées selon la nature des partenaires utilisateurs de l'IR et la nature des services fournis.

Règlements, accords et engagements

- Les IR et leurs utilisateurs s'assurent que les projets sont menés dans le respect de l'éthique et de la déontologie ainsi que de la législation et des réglementations, notamment relatives à la protection du patrimoine scientifique et technologique, et à la sécurité des personnes, des biens, des données et de l'environnement.
- Les IR et les utilisateurs concluent ex ante des accords formels intégrant notamment les éléments de propriété intellectuelle et d'utilisation des données et résultats obtenus.
- Les données produites par les IR et financées par des fonds publics entrent dans le domaine public ou sont disponibles en accès libre, sous réserve de principes éthiques ou d'une éventuelle période d'usage restrictif liée aux dispositions légales et réglementaires (respect des libertés individuelles, secret industriel et commercial, propriété intellectuelle, protection du patrimoine scientifique et technique, etc.).
- Selon les accords, les IR garantissent tout ou partie de la confidentialité des données financées sur fonds privés.

* L'exercice d'une activité économique portée par les IR se justifie, dans la limite de leurs compétences et des missions

➤ Préparation des échantillons de bois



A



B

Découpe manuelle



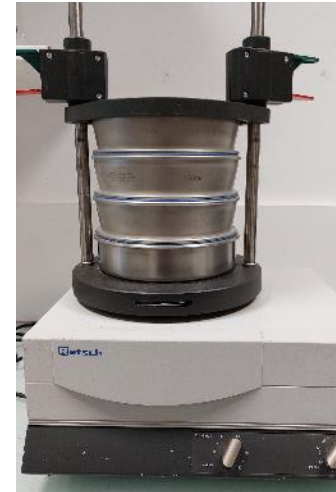
Broyeur à couteaux



Broyeur ultracentrifuge



Broyeur à billes



Tamiseuse



- Broyage de plusieurs kg à 10 mg de biomasse
- Granulométrie finale entre 10 mm et <math><75\mu\text{m}</math>

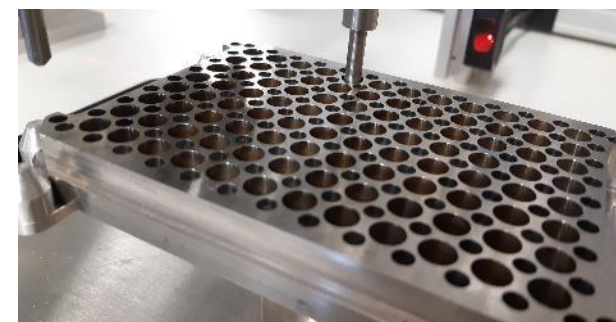
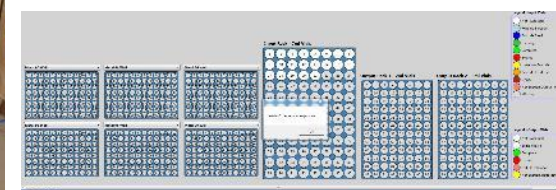
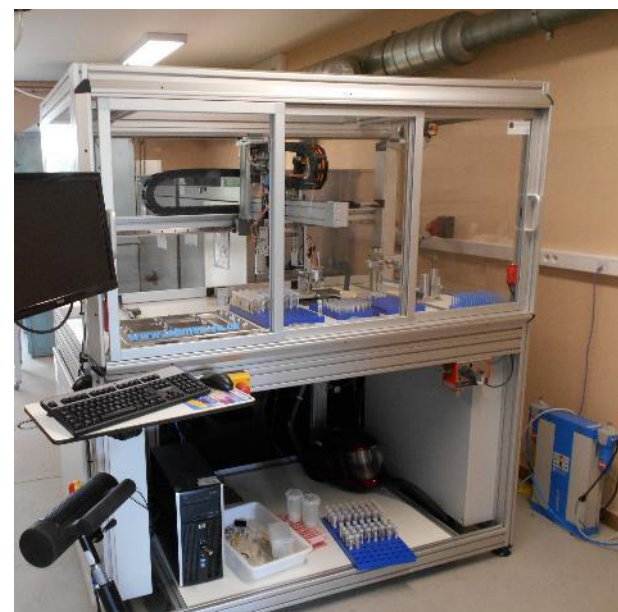
➤ Broyage et ...

- 24 échantillons broyés **simultanément** en pots 50 mL avec bille Ø 32mm
- 2 g de matière sèche prédécoupée / pot
- Granulométrie finale <75 µm
- Echauffement réduit de la poudre (<40°C)
- **Jusqu'à 120 échantillons/jour**



➤ ... distribution à haut débit

- Robot **distributeur** de poudre
- De 5 à 100 mg
- Tous types de **tubes**
- **Plaques** 96 puits



> Mesure de la couleur ...



Spectrocolorimètre Konica-Minolta modèle CM 2600d (360-740 nm)

Ex d'application :

Impact de la chararose sur la qualité du bois de frêne
=> Lien entre coloration anormale du duramen et intensité des nécroses au collet



> ... et de l'infradensité du bois



Saturation des échantillons dans l'eau et sous vide

Balance de précision Mettler équipée d'un kit infradensité

Echantillon saturé en eau et pesé dans l'air

Echantillon plongé dans l'eau et pesé

Ex d'application :

Evaluation de l'infradensité du bois des génotypes de peupliers issus des programmes de création variétale du GIS Peuplier



Microdensitométrie

Ex d'application :

Etude de l'adaptation des arbres aux changements environnementaux par analyse rétrospective de cernes



Prélèvement de carottes



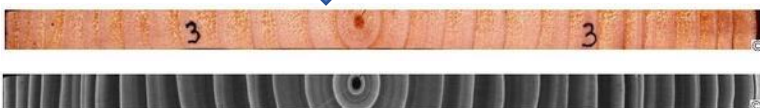
Prélèvement de barreaux sur rondelles



Scie-fraise à lames jumelles



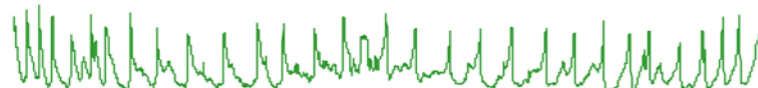
Planchette 2 mm d'épaisseur



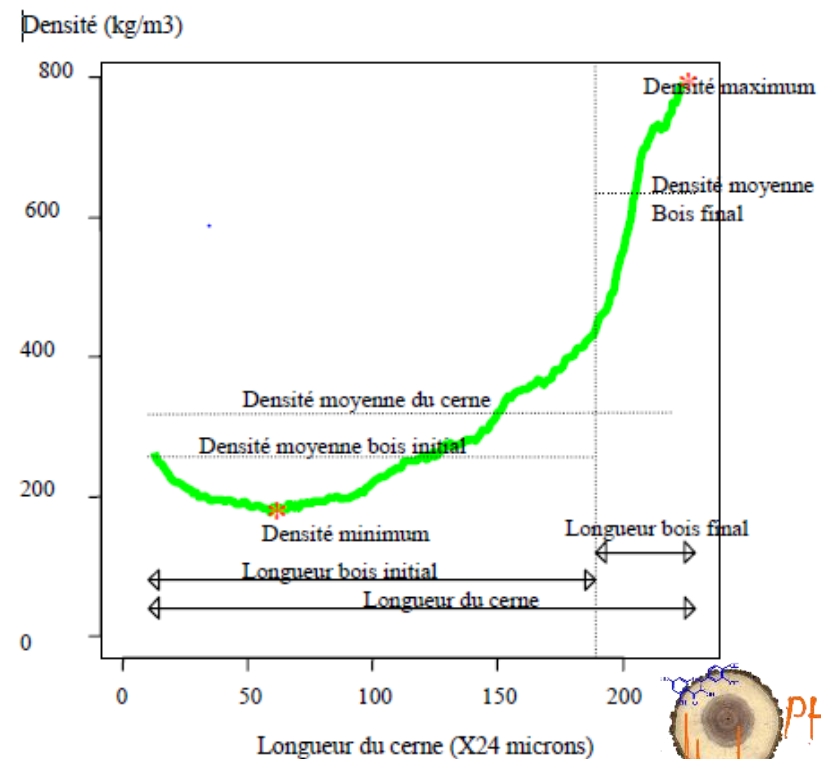
Radiographie des planchettes et numérisation des radios

Analyse d'images sous *Windendro*:

- acquisition des profils microdensitométriques



- calculs variables de cernes (densité, largeur, ...)



INRAE

Journées scientifiques du GDR Bois 2024



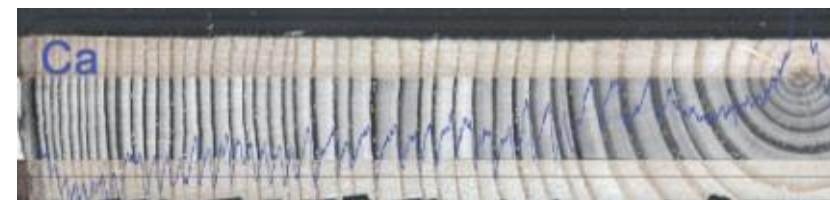
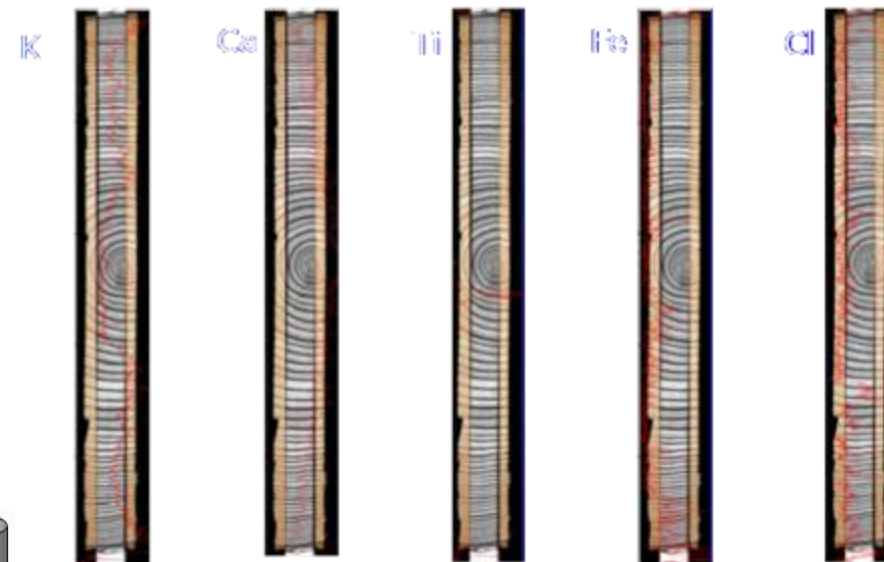
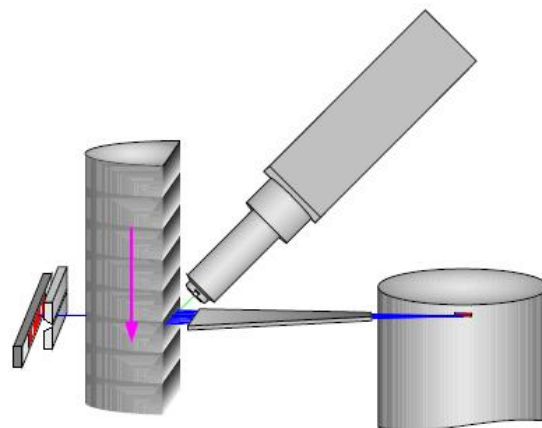
➤ ITRAX (multiscanner radiographie / fluorescence des rayons X)

Détermination :

- par pas de **20 µm** des variations de densité par **radiographie**
- par pas de **50 µm** des variations d'abondance en éléments par **fluorescence des rayons X**



Microscopie Electronique à Balayage et Micro-analyses minérales par spectrométrie de rayons X (EDS,WDS)



➤ ITRAX (multiscanner radiographie / fluorescence des rayons X)

ANR CASIMODO, coord. Alexa Dufraise :

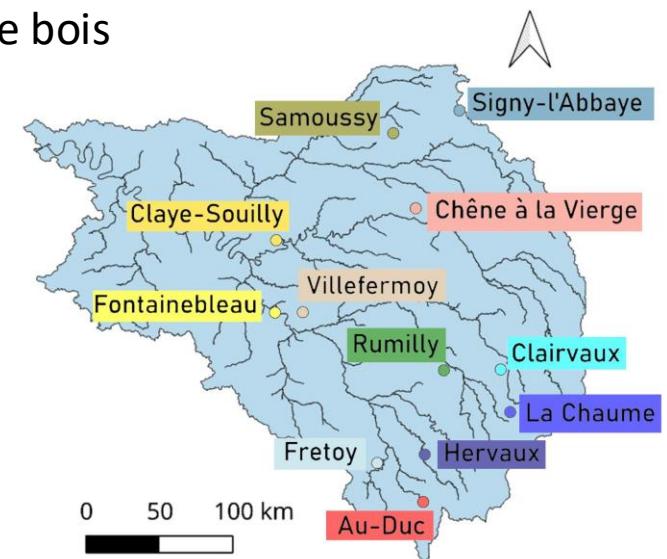
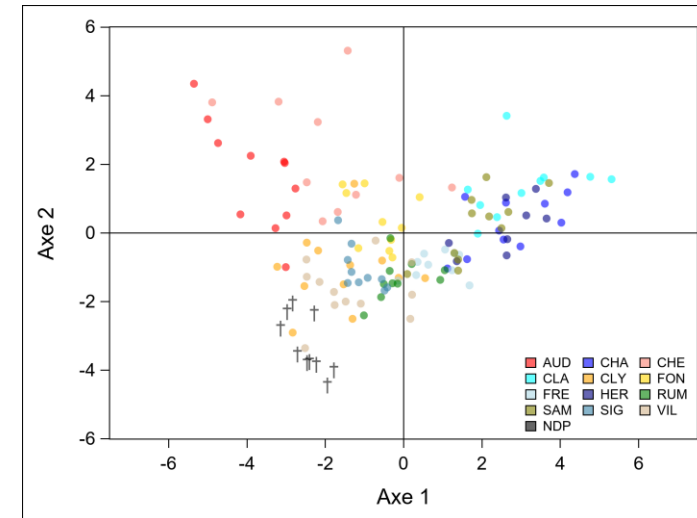
Impact des facteurs climatiques et anthropiques sur l'évolution du socio-écosystème forêt-bois entre les 11e et 13e siècles

Objectif tâche portée par thèse Anna Imbert Stulc, 2024 : suggérer une origine géographique aux bois de la charpente de Notre-Dame de Paris (NDP).

Démarche:

1^{ère} étape = établir un référentiel de bois contemporains permettant d'associer composition élémentaire du bois et position géographique des arbres.

2^{ème} étape = positionner les bois de la charpente de NDP dans ce référentiel de bois contemporains.



➤ Scanner à rayons X (CT scan)

- ✓ Scanner à rayons X dédié à l'étude du bois
- ✓ Méthode basée sur l'absorption des rayons X par l'objet, proportionnellement liée à sa masse volumique

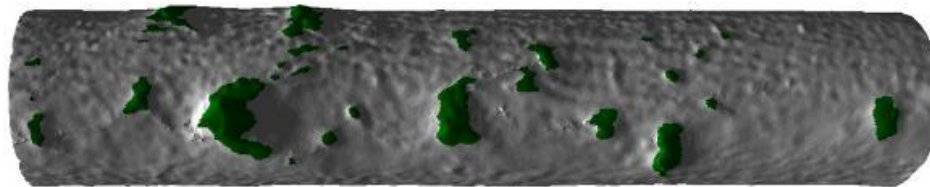
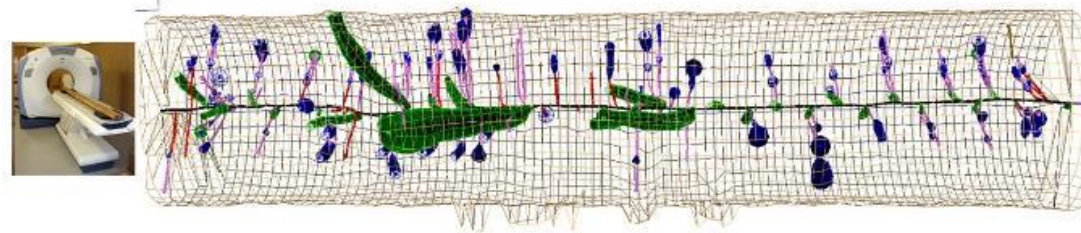


Application : ANR WOODSEER (coord. T. Constant)

Etablir le lien entre les caractéristiques externes d'une singularité et son emprise interne via l'IA

Démarche = Détection des singularités externes au LIDAR et scanner 3D (cubeur) / Reconnaissance du type & caractérisation des singularités / Liens entre singularités externes et défauts internes

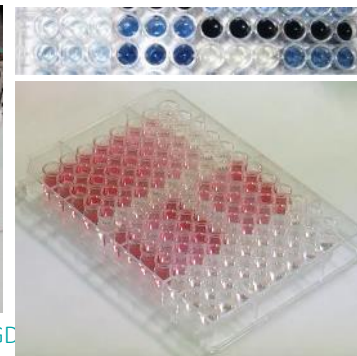
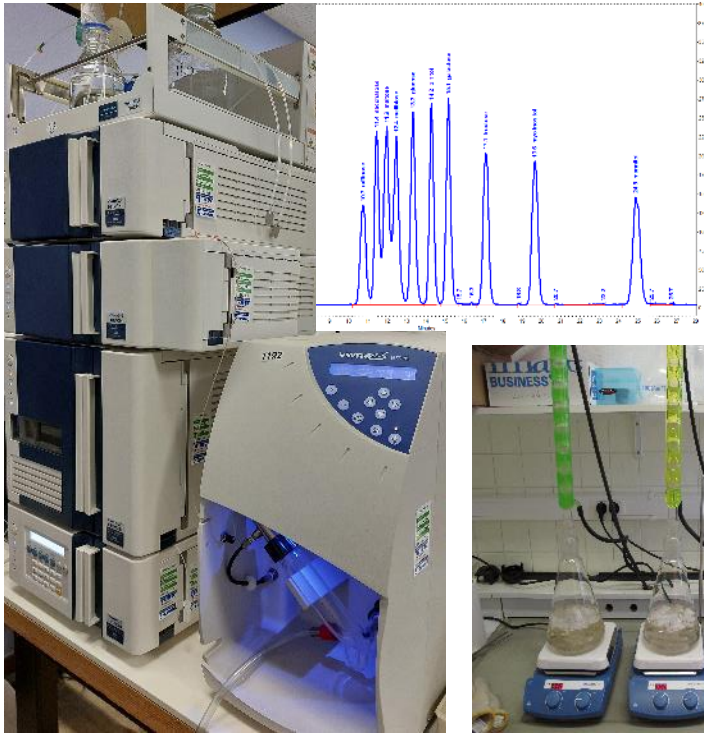
Modèle géométrique de la branchaison obtenu à partir du scanner RX



Description externe issue d'un Lidar terrestre et d'un scanner 3D (cubeur)

➤ Analyse de la composition chimique du bois

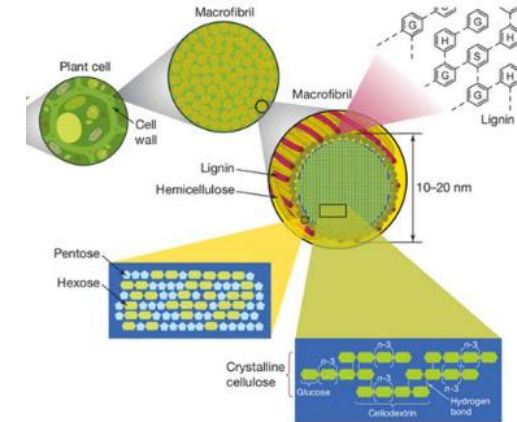
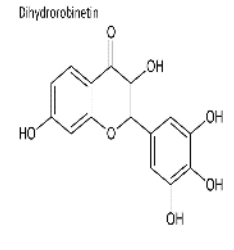
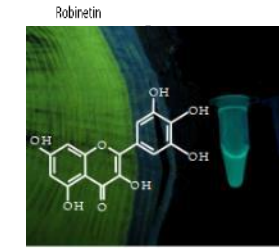
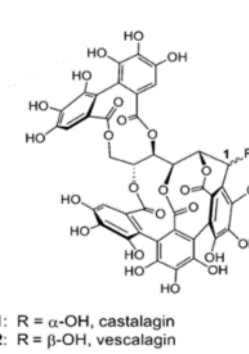
- ✓ **Composés structuraux** : Cellulose – Lignine – Hémicellulose - Cendres
- ✓ **Composés non structuraux** : Flavonoïdes – Tannins - Polyphénols – Sucres solubles – Amidon



- ✓ **Extraction solide-liquide**
Extraction assistée par **ultra-sons**
Purification - Concentration
- ✓ **Gravimétrie**
- ✓ Séparation et analyses chromatographiques par **HPLC** – Détecteurs à barrette de diodes (**DAD**) et à diffusion de lumière (**DEDL**)
- ✓ **Dosages colorimétriques en plaques à haut débit**
Polyphénols totaux (FOLIN)
Flavanols (DMACA)
Amidon (GOPOD)

Ex d'application :

- ✓ Caractérisation des **polyphénols** et **sucres** impliqués dans la formation du **bois de cœur – durabilité naturelle & couleur** – **Noyer noir, Robinier, Merisier, Douglas, Mélèze, Pin maritime**
- ✓ Analyse des **tannins** dans le bois de **Chênes sessile, pédonculé, pubescent** – impact organoleptique lors de l'élevage des vins et des Cognac en fûts de chêne
- ✓ Extraction des molécules d'intérêt du bois de **Robinier** – **robinétine & dihydrorobinétine** – **valorisation industrielle du bois** - cosmétique, phytopharmacie, paillage bioactif
- ✓ Impact de la composition chimique – **extractibles, lignines, cellulose** – sur la sensibilité à l'esca, **maladie du bois** de la **Vigne**



➤ Phénotypage des biomasses forestières en vue d'une valorisation en bioraffinerie

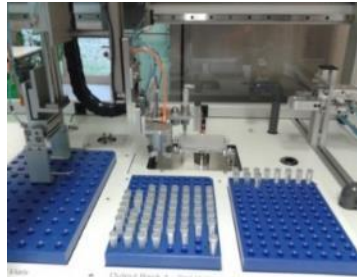
(1) Préparation de la biomasse

(2) Prétraitement

(3) Hydrolyse enzymatique et dosage



Biomasse lignocellulosique broyée (100-500µm)



Distribution robotisés de la biomasse broyée 5 mg/puits



Plaques 96-puits en Hastelloy (thermorésistantes)



Réacteur de prétraitement PARR Instrument®

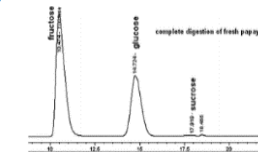


Générateur de vapeur Cellkraft®

Vapeur (180°C, 10 bars)



Hydrolyse enzymatique (50°C, Ctec-2)



Chromatographie (HPLC)



Dosage enzymatique (colorimétrique)

Dosage des sucres libérés fermentescibles

- ✓ Analyse à haut débit : 150 ech en même temps
- ✓ Très peu de biomasse : 5 mg

Ex d'application :

- ✓ Etude du potentiel de conversion en bioéthanol de 220 clones de peupliers conduits en TCR/TTCR



TTCR

TCR

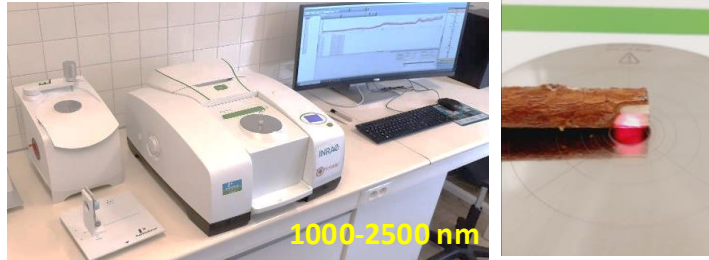
Evaluation indirecte des propriétés du bois par spectrométrie et imagerie infrarouge

- Alternative aux méthodes analytiques classiques
- Méthode rapide et économique, adaptée au haut-débit

Spectrométrie proche infrarouge

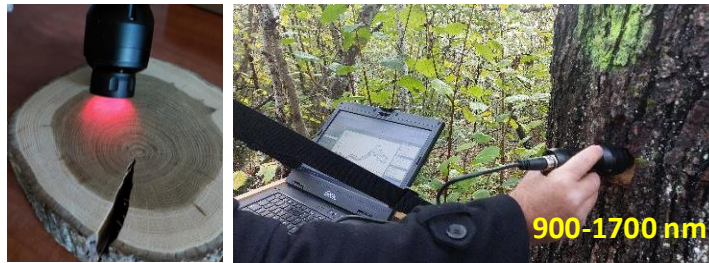


Au laboratoire
(depuis 2009)



1000-2500 nm

In situ
(depuis 2016)

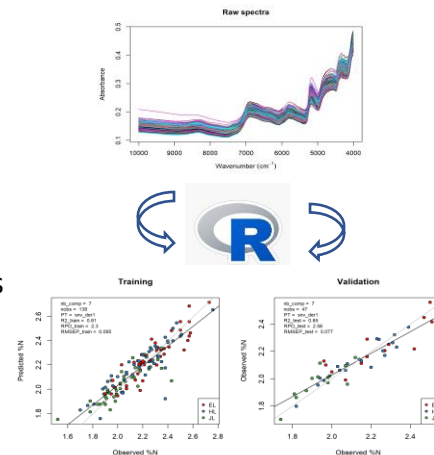


900-1700 nm

Ex d'application :

Développement de modèles pour prédire :

- **Les teneurs biochimiques :**
En lignine/cellulose/sucres/polyphénols spécifiques –
peuplier noir, mélèze, pin sylvestre
- **L'appartenance à une espèce :**
Mélèze, chêne (arbres sur pied/grumes en forêt), peupliers
(différencier les cultivars en pépinières)
- **La sensibilité aux maladies :**
Chalarose du frêne, Bandes rouges du pin laricio, Esca du
bois de vigne



Imagerie hyperspectrale



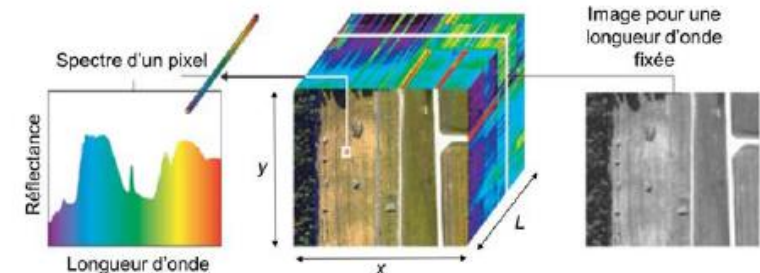
- Système basé sur la réflectance rayonnement lumière blanche
- Capteurs analysent réponse sur gamme spectrale (400 à 2500 nm, UV - lumière visible - proche IR)



Thèse Ludivine Nus (UL, CRAN)

Méthodes rapides de traitement d'images hyperspectrales.

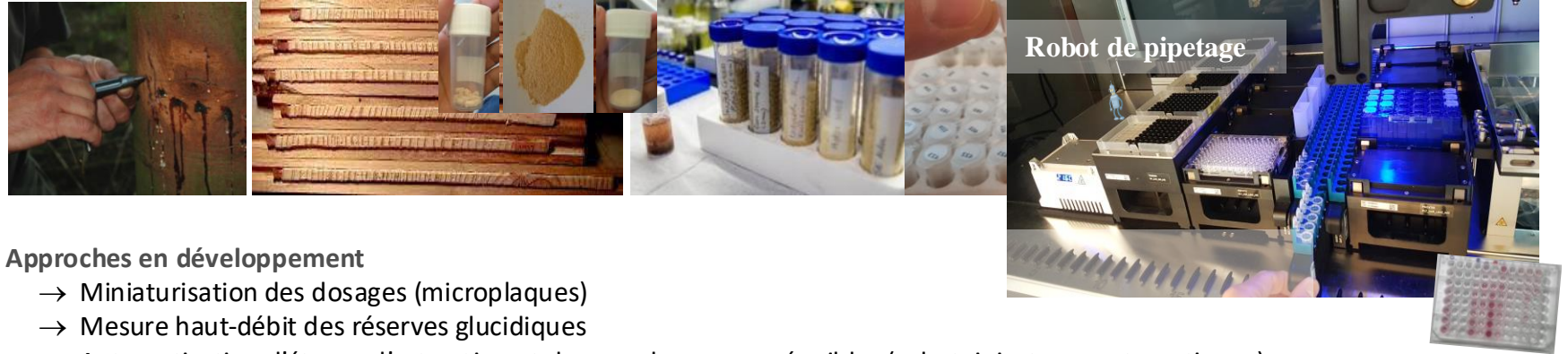
Application à la caractérisation en temps réel du matériau bois



➤ Biochimie analytique (IC-IC, GC, spectro fluo-photomètre cuvette et microplaque)



Analyses biochimiques des teneurs en réserves glucidiques (sucres solubles, amidon) et azotées (acides aminés, protéines) dans le bois d'aubier, écorce, feuilles ; composés libres dans les sols...
Spectrophotomètre UV-visible et fluorimètre pour les dosages colorimétriques et enzymatiques ; chromatographie ionique liquide (IC) ou gazeuse (GC) pour l'analyse détaillée des profils en sucres solubles, acides aminés...



Approches en développement

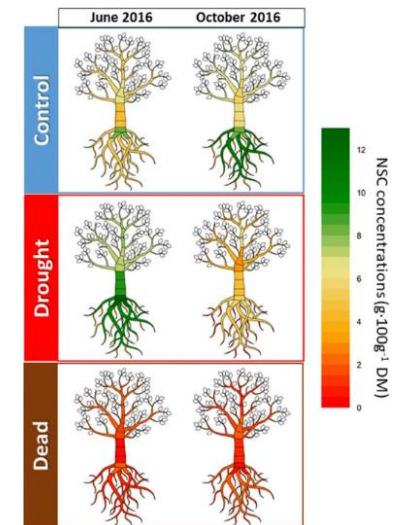
- Miniaturisation des dosages (microplaques)
- Mesure haut-débit des réserves glucidiques
- Automatisation d'étapes d'extraction et dosage des composés cibles (robot, injecteurs automatiques)
- Renforcement des capacités de préparation chimique pour l'isotopie moléculaire

• Exemple des réserves glucidiques

En réponse à la récurrence et l'intensité des aléas, **un épuisement des réserves carbonées** est une des hypothèses à **l'origine des dépérissements, entraînant une surmortalité d'arbres** (Brédat et al., 2006 ; Mc Dowell et al., 2008 ; Sala et al., 2012)

L'analyse des réserves carbonées est **un outil de diagnostic de l'état sanitaire des forêts et de pronostic de trajectoire** (résilience / mortalité) des forêts en crise sanitaire

Fig ci-contre exemple de l'impact de la sécheresse extrême sur l'allocation du C chez le hêtre qui montre la distribution des réserves glucidiques. Le maintien des fonctions de stockage des réserves se fait au détriment de la croissance ce qui permet la survie des arbres. Les individus morts ont totalement épuisé leurs réserves carbonées (Chuste et al., 2020)

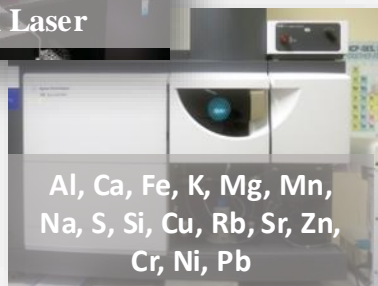


➤ Chimie minérale (ICP-AES, ICP-MS, EA, ablation laser)



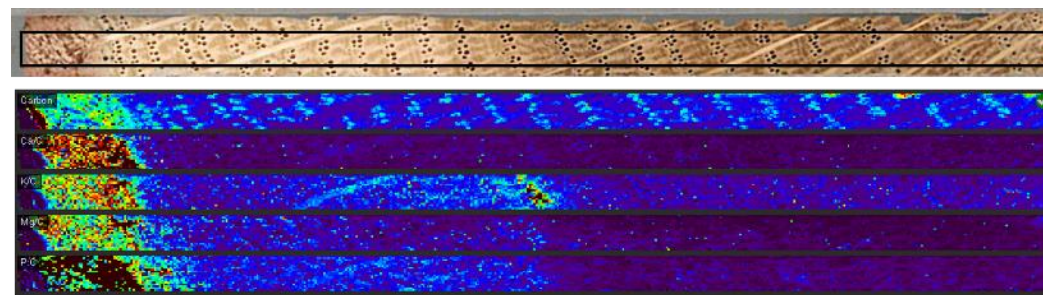
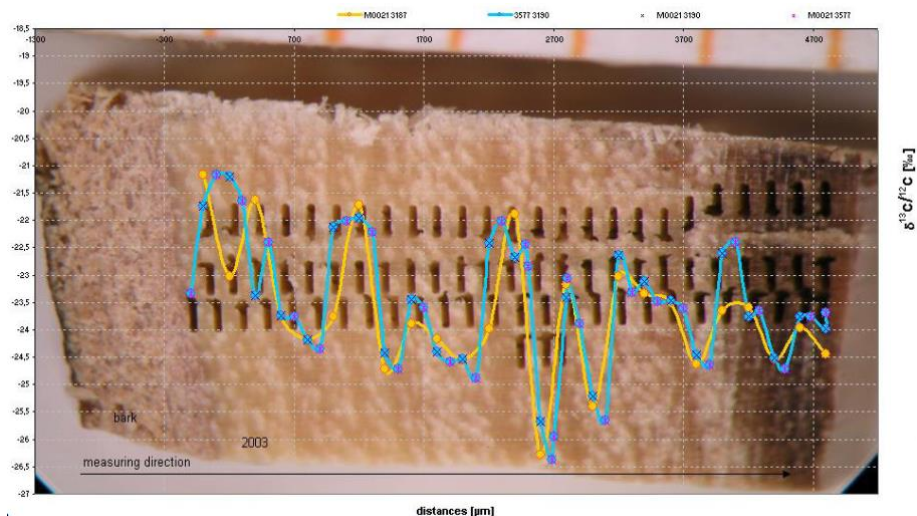
Ablation Laser

Développement de méthode d'analyse « directe » simplifiant la préparation des échantillons **par couplage de l'ablation laser avec nos ICP ou IRMS** pour les analyses chimiques élémentaires et isotopiques



⇒ capacité de mesure chimique élémentaire et isotopique à l'échelle infracernes et de manière faiblement destructive

⇒ simplification des process de préparation (minéralisation, broyage, micropesée...)



Carbone
Calcium
Potassium
Magnésium
Phosphore

Exemple de cartographie élémentaire
(taille du spot laser 100µm – couplage ICP-MS)

➤ Chimie isotopique (2 EA/GA IRMS, LC/GC-IRMS, 2 Pyr/EA-IRMS, 3 analyseurs lasers (eau/CO₂))



Analyse isotopique $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, et des teneurs en %C et %N du bois, de tissus végétaux, de sol et de gaz en abondance naturelle ou enrichie. Analyseur Élémentaire (EA) pour l'analyse des échantillons solides et un Analyseur de Gaz (GA) pour l'analyse des gaz couplé à Spectromètre de masse isotopique (IRMS)

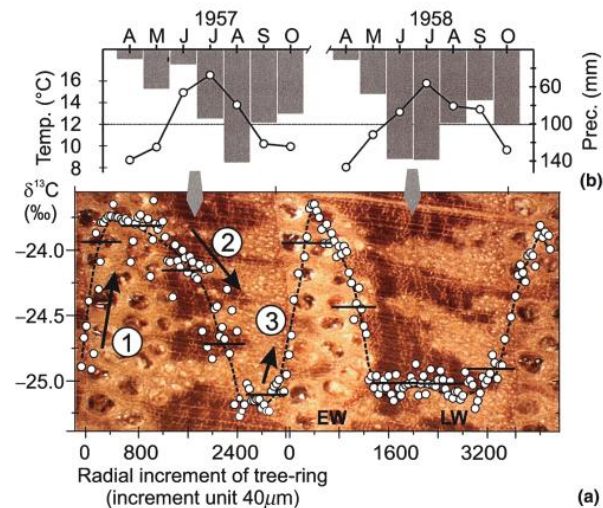


Analyse $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{17}\text{O}$, ^{17}O Excess, δD de la matière organique et des eaux en abondance naturelle ou enrichie. Un Pyrolyseur (Pyr) et un Analyseur Élémentaire haute température (EAHT) couplé à un spectromètre de masse isotopique (IRMS).

• Exemple de la dendroisotopie du C

La composition isotopique $\delta^{13}\text{C}$ des cernes reflète des fluctuations environnementales régissant les processus physiologiques qui contrôlent la croissance des arbres à plusieurs échelles spatio-temporelles (Craig, 1954, McCarroll et Loader, 2004 ; Offermann et al., 2011 ; Silva et Anand, 2013 ; Gessler et al., 2014, Voelker et al., 2014 ; Jucker et al., 2017 ; Shestakova et al., 2019)

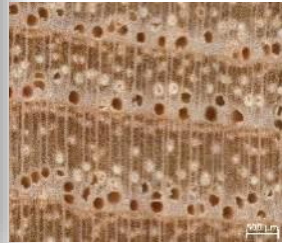
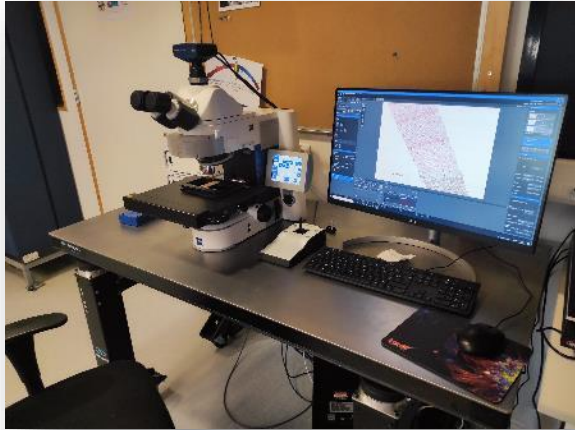
Potentiel du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes d'arbres pour évaluer rétrospectivement les conditions climatiques tout en abordant des questions écologiques d'actualité.



Helle et al. 2004

➤ Observation et analyse des tissus et des cellules des végétaux en **microscopie photonique**

Observations, numérisations (anatomie quantitative)



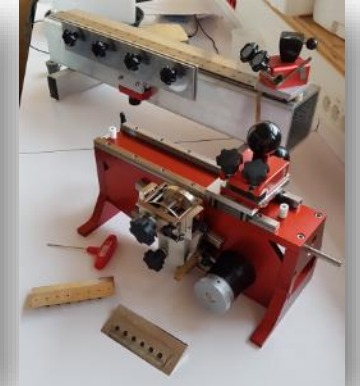
0.020 mm

Station d'imagerie

Enrobage en paraffine



Microtomie



➤ Observation et analyse des tissus et cellules par **microscopie laser à haute résolution**



Microscopie confocale



Microscopie à dissection laser

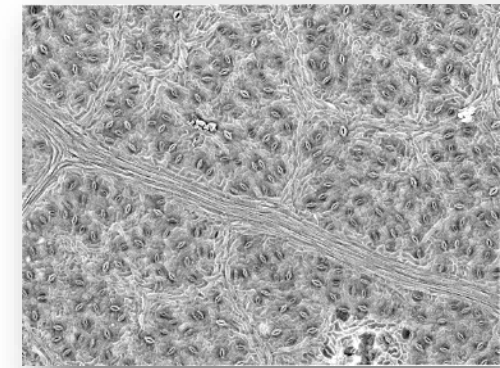
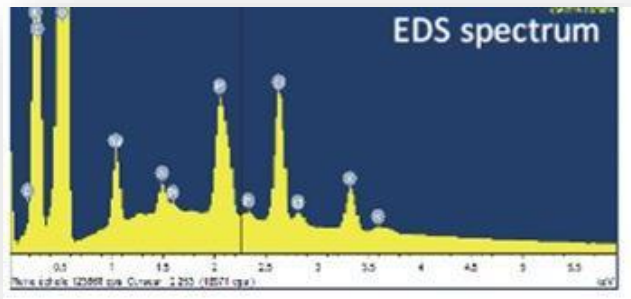
➤ Observation et analyse des tissus et des cellules des végétaux par microscopie électronique à haute et très haute résolution



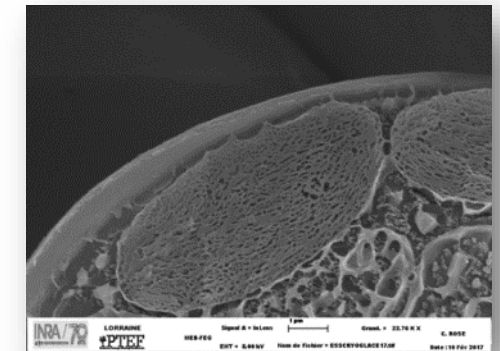
Microscopie Electronique à Balayage et Micro-analyses minérales par spectrométrie de rayons X (EDS,WDS)



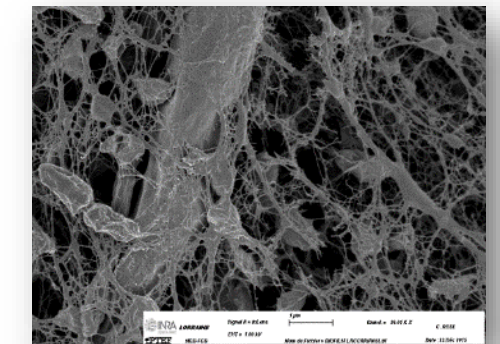
Microscopie Electronique à Balayage
Imagerie à très haute résolution (émission à effet de champ)
Pression contrôlée et étendue (3000 Pa)
Cryo-microscopie
Microscopie électronique en transmission (STEM)
Microscopie corrélative



Acquisitions automatisées (analyse d'image)



Cryo-microscopie



Microscopie haute résolution



➤ Microscopie : exemple d'application/développement

Mieux comprendre la réponse de l'arbre soumis aux contraintes multiples de son environnement

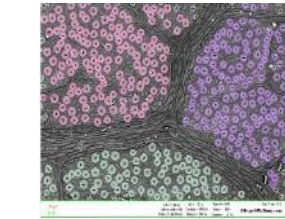
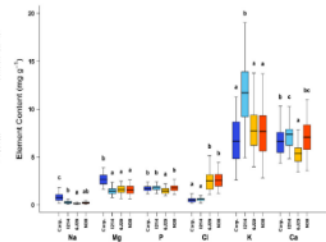
Comprendre l'impact de cette réponse sur la formation du bois et ses propriétés et sur les interactions avec les organismes associés



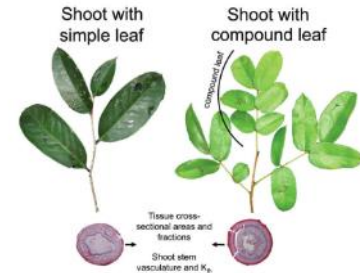
Identifier des paramètres aux échelles microscopiques pour caractériser et quantifier cette réponse

0	0	0.00	0.11	0.05	0.05	0.21	0.15	1 ₂
0.01	0.01	0	0.02	0.03	0.04	0	0.01	1 ₂
0	0.01	0.02	0.01	0.04	0.03	0.06	0.07	1 ₂
0.02	0.02	0.01	0.13	0.1	0.11	0.04	0.05	1 ₂
0.11	0.1	0.19	0.25	0.27	0.26	0.43	0.27	1 ₂
0	0.01	0.05	0.03	0.02	0.04	0.19	0.04	1 ₂
0.19	0.1	0.04	0.09	0.06	0.07	0.47	0.43	1 ₂
0.26	0.06	0.01	0.27	0.1	0.20	0.16	0.15	1 ₂
0.07	0.03	0.03	0.25	0.26	0.45	0.25	0.44	1 ₂
0.18	0.08	0.19	0.44	0.34	0.24	0.26	0.2	1 ₂
0.02	0.05	0.19	0.49	0.34	0.26	0.44	0.26	1 ₂
0.09	0	0	0.2	0.22	0.22	0.15	0.2	1 ₂
GCL _{leaf}	AGC _{leaf}	SD _{leaf}	SI _{leaf}	GC _{leaf}	AGC _{leaf}	SD _{leaf}	SI _{leaf}	

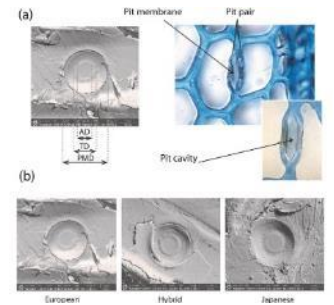
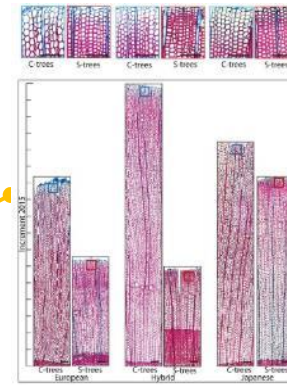
Durand et al., 2019a, 2019b (SILVA)



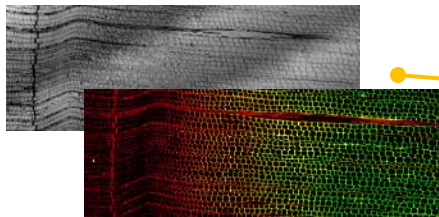
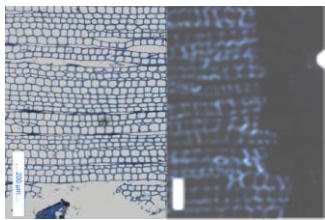
Violet-Chabrand et al., 2014 (SILVA)



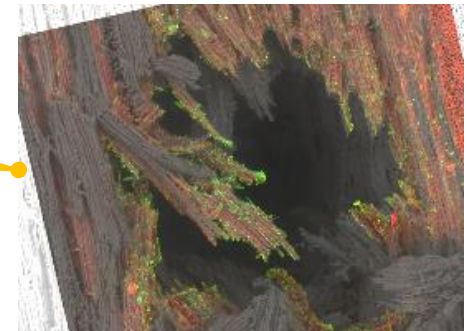
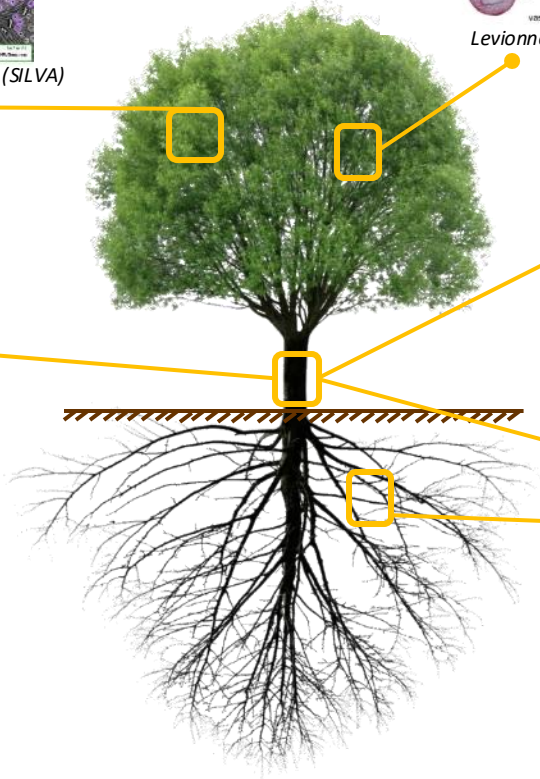
Levionnois et al., 2021 (ECOFOG-AMAP)



Sasani et al., 2021 (BIOFORA)



Thèse Ignatius-Kristia Adikumia (coord. C. Rathgeber)



Besserer et al., en cours (LERMAB, IAM)

➤ Diffractomètre RX (structure cellulose)

- Mesure de l'angle des microfibrilles (AMF) pilote la flexibilité de la fibre et du bois (combiné à la densité)

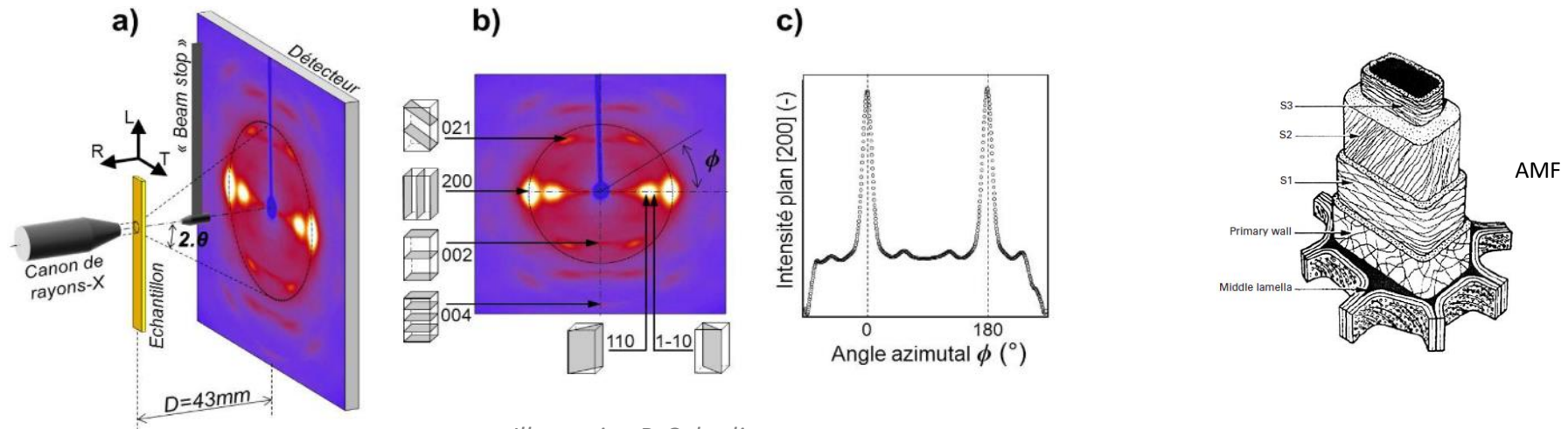
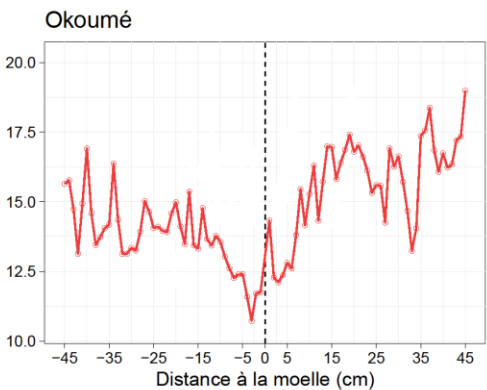
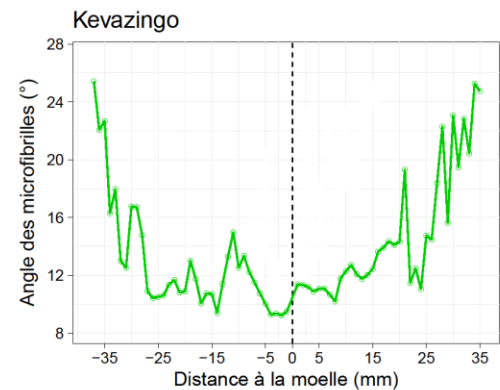
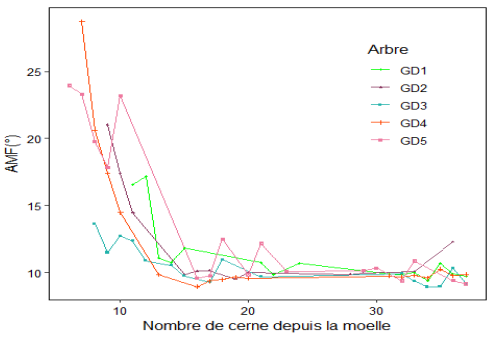
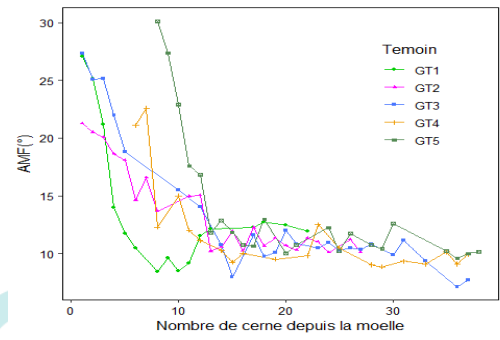


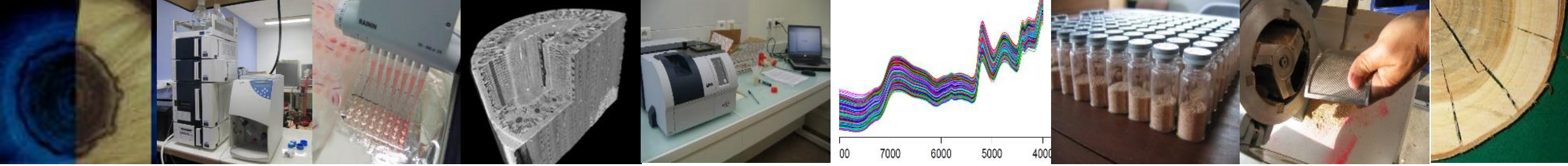
Illustration P. Cabrolier

Dimension des échantillons : 20*10*1 mm



- L'angle des microfibrilles de cellulose est un des paramètres qui permettent d'étudier la transition juvénile / adulte (Thèse Jean Léon Zue Ondo)





Merci de votre attention

Nous répondons à vos questions **aux posters B32 et B35**

