

# Imagerie multi-échelles de la tomate : du microscopique au macroscopique

D. Legland, M.-F. Devaux, B. Bouchet,  
F. Guillon, M. Lahaye

INRA Nantes - Biopolymères, Interaction et Assemblage  
INRA Versailles - Grignon – Plateforme PLASTIC

# Contexte :

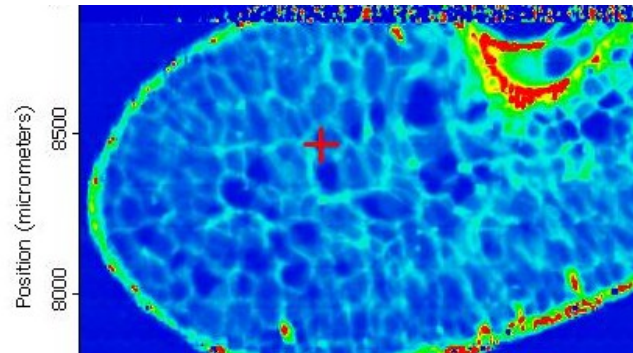
## valoriser les produits agronomiques

### ■ Améliorations :

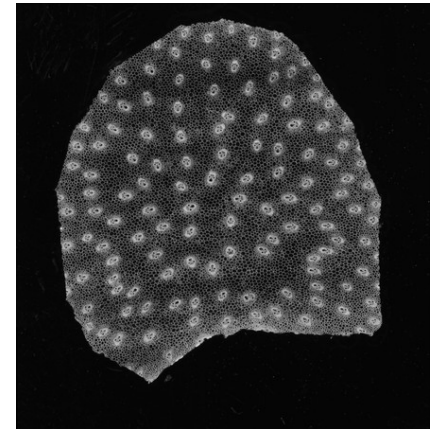
- de la qualité sensorielle
- des propriétés d'usages



Fruit de tomate

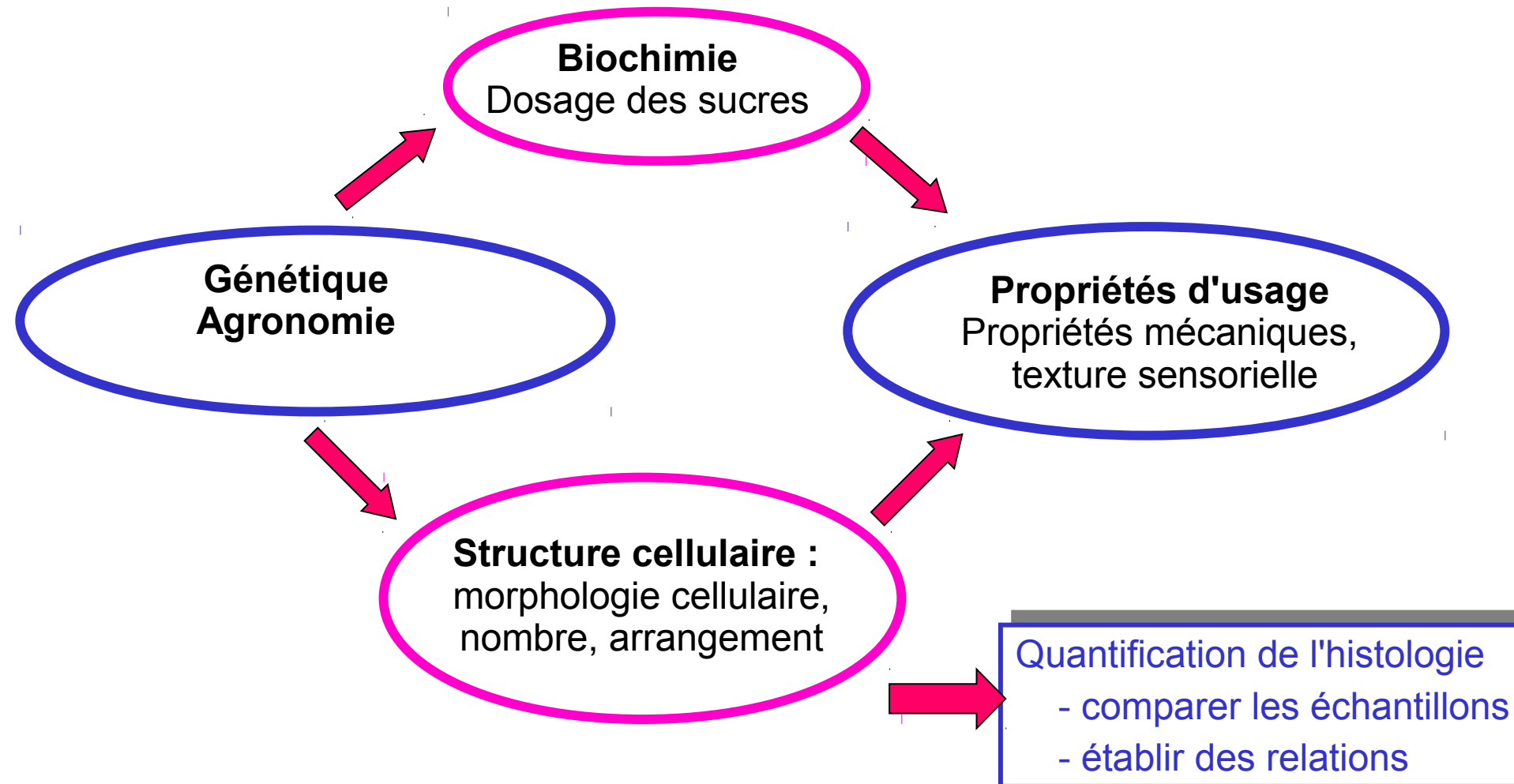


Grain de blé

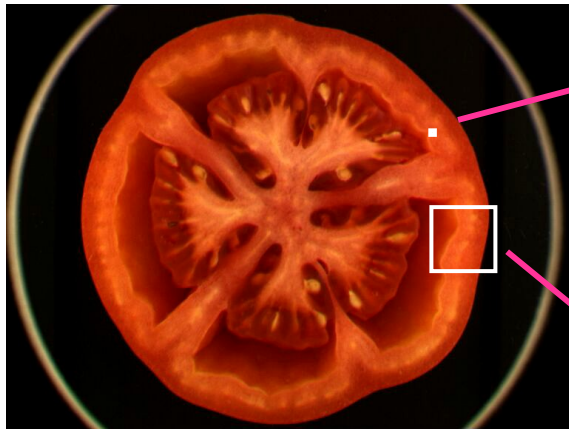


Tige de maïs

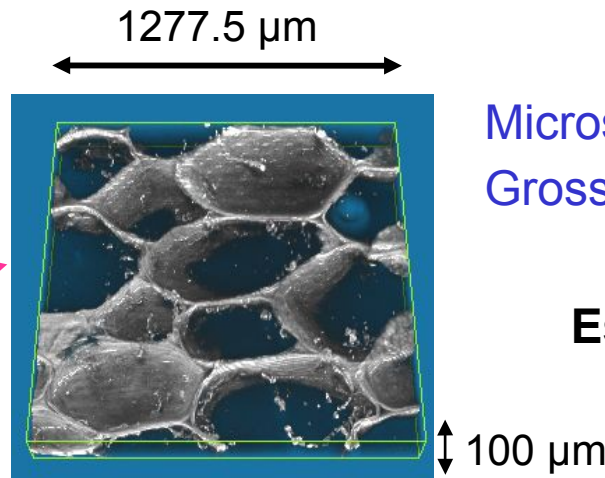
# Caractérisation des tissus végétaux



# Imagerie du fruit de tomate

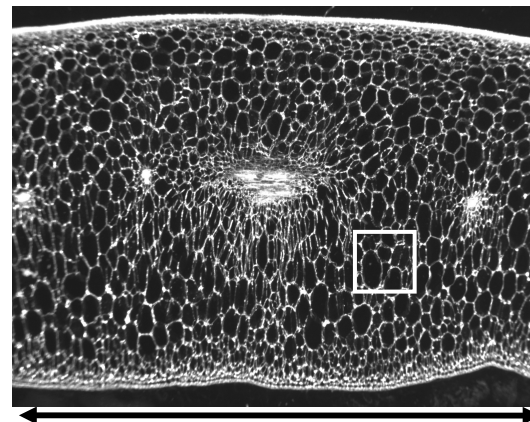


Sections de **tissu frais**  
200  $\mu\text{m}$  d'épaisseur



Microscopie confocale 3D :  
Grossissement X10

**Cellules**  
**Espaces intercellulaires**



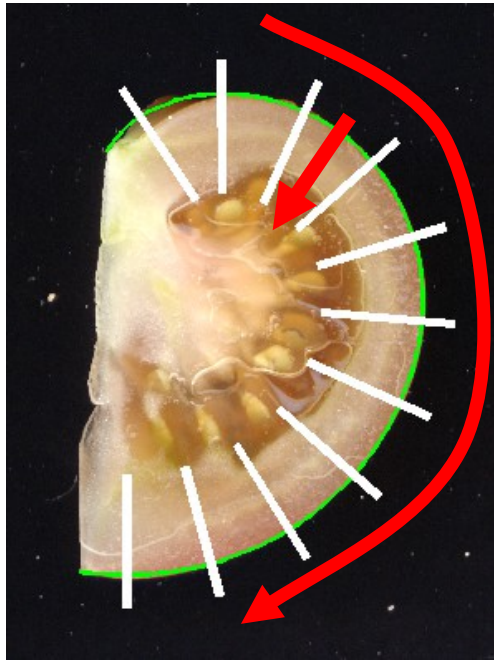
Macroscopie 2D

**Tissus**  
**Cellules**

11.3 mm

# Cartographie à l'échelle du fruit

- Étude des variations de la structure cellulaire dans le fruit

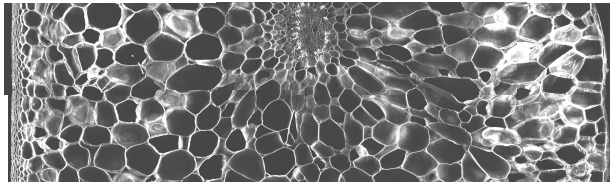


Taille et forme en fonction de :

- distance à la cuticule
- distance à la tige (pédicelle)
- cartographie 2D

Intégrer la variabilité biologique

- cartographie "moyenne"



Variété : Tradiro

14 fruits, 5 prélèvements par fruit

10 positions à partir du pédicelle

# Quantification de l'histologie

## ■ Échelle microscopique

- Surface de paroi cellulaire
- Estimation de la morphologie 3D

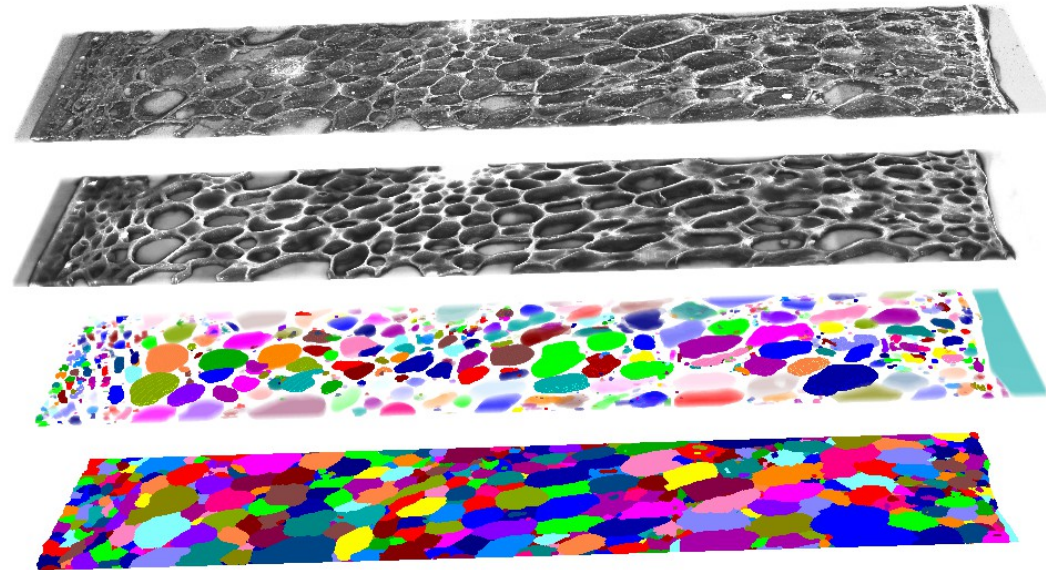
## ■ Échelle Macroscopique

- Distribution de la « taille » des cellules
- Granulométrie en niveaux de gris



# Segmentation des images 3D

- Images mosaïques
- Correction de la décroissance lumineuse
- Filtrage directionnel
- Ligne de partage des eaux (3D)



# Morphométrie 3D

- Paramètres géométriques
  - Volume de péricarpe
  - Surface des cellules
  - Densité de surface

$$V(Y) = \int_Y dy$$

$$S(X) = \int_{\partial X} dx$$

$$S_V(X) = \frac{S(X)}{V(Y)}$$

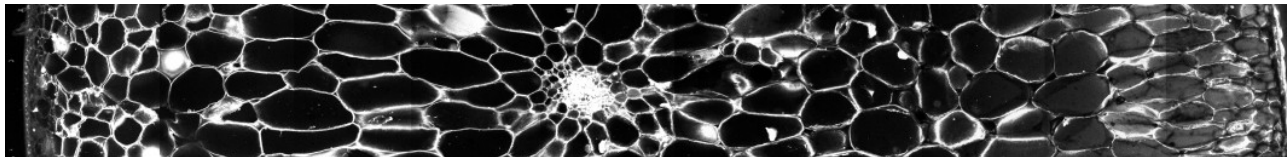
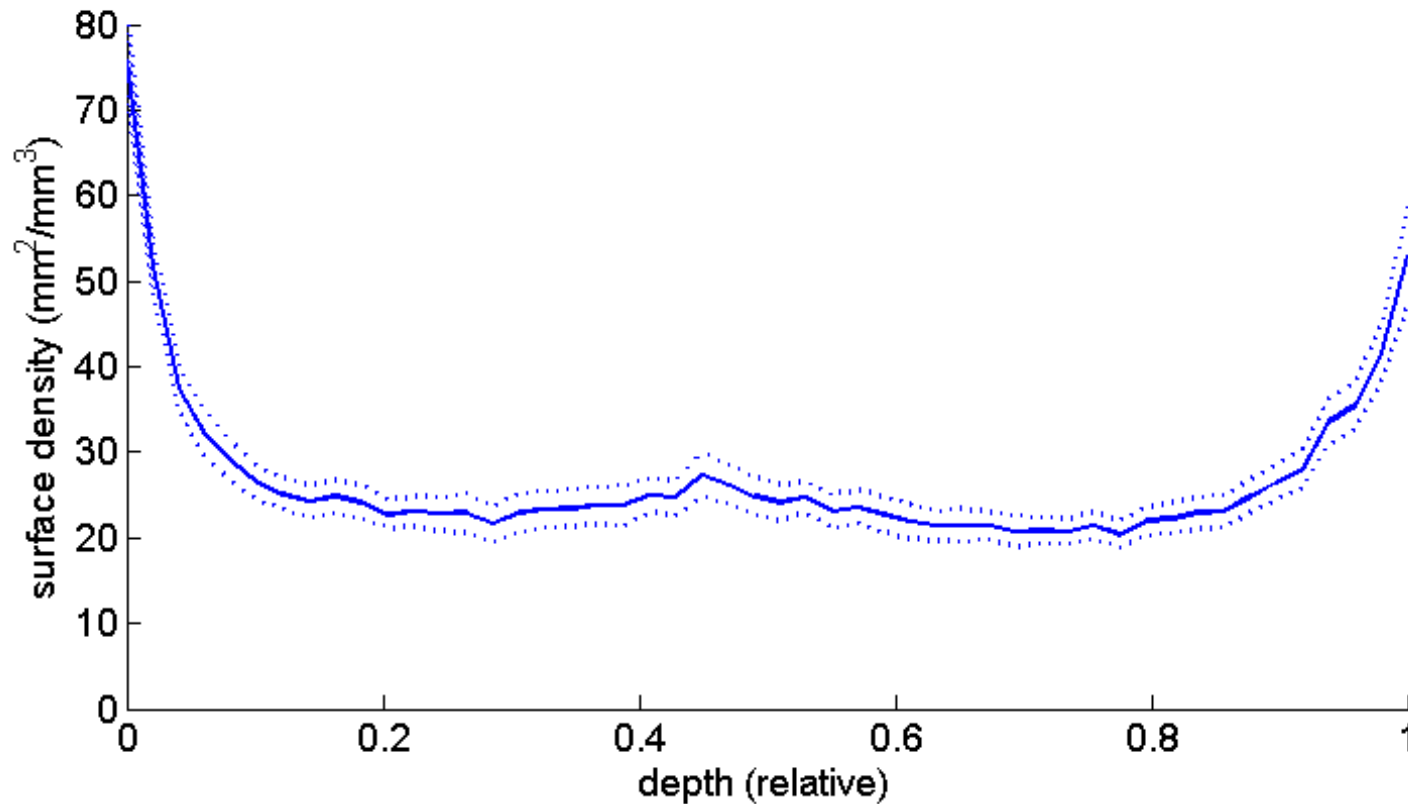
Volume (cm <sup>3</sup> )	Volume (m <sup>2</sup> )	Volume (mm <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> )
85.2	2.2	26.95
4.2	0.9	0.59

Si on considère 10 millions de cellules par tomate :

=> diamètre moyen de 200-300  $\mu\text{m}$

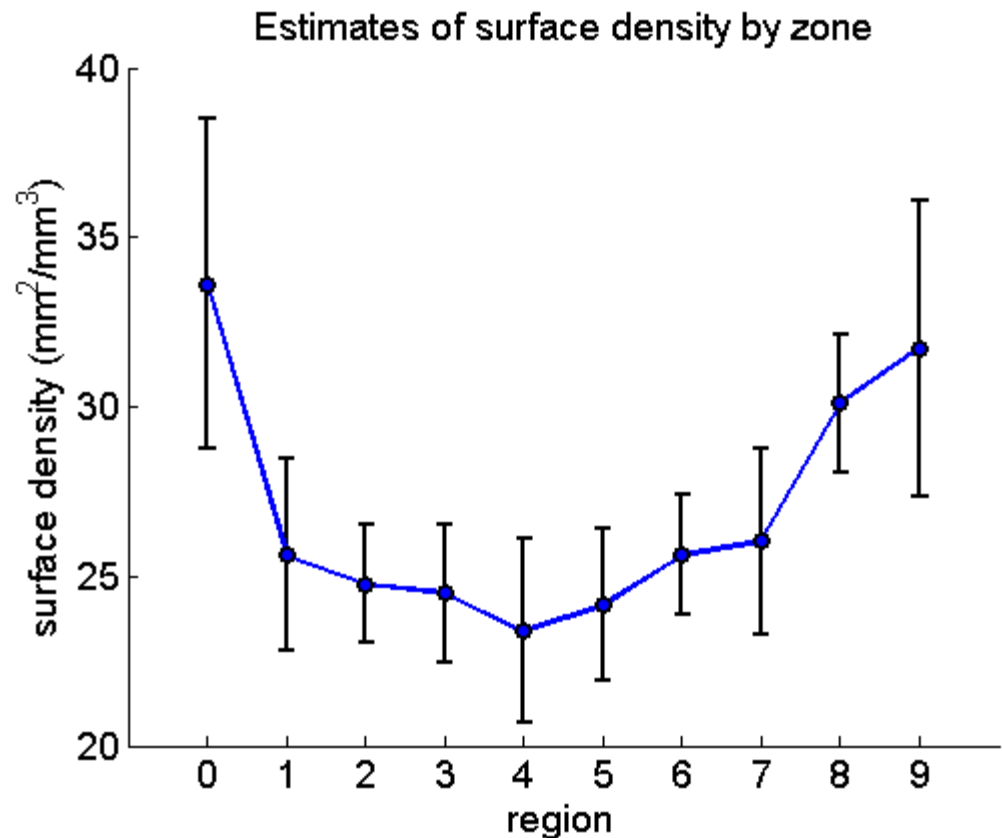
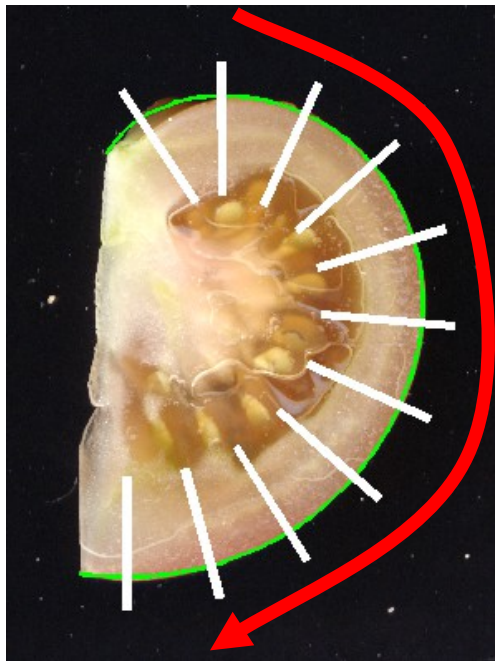


# Profils de densité de surface

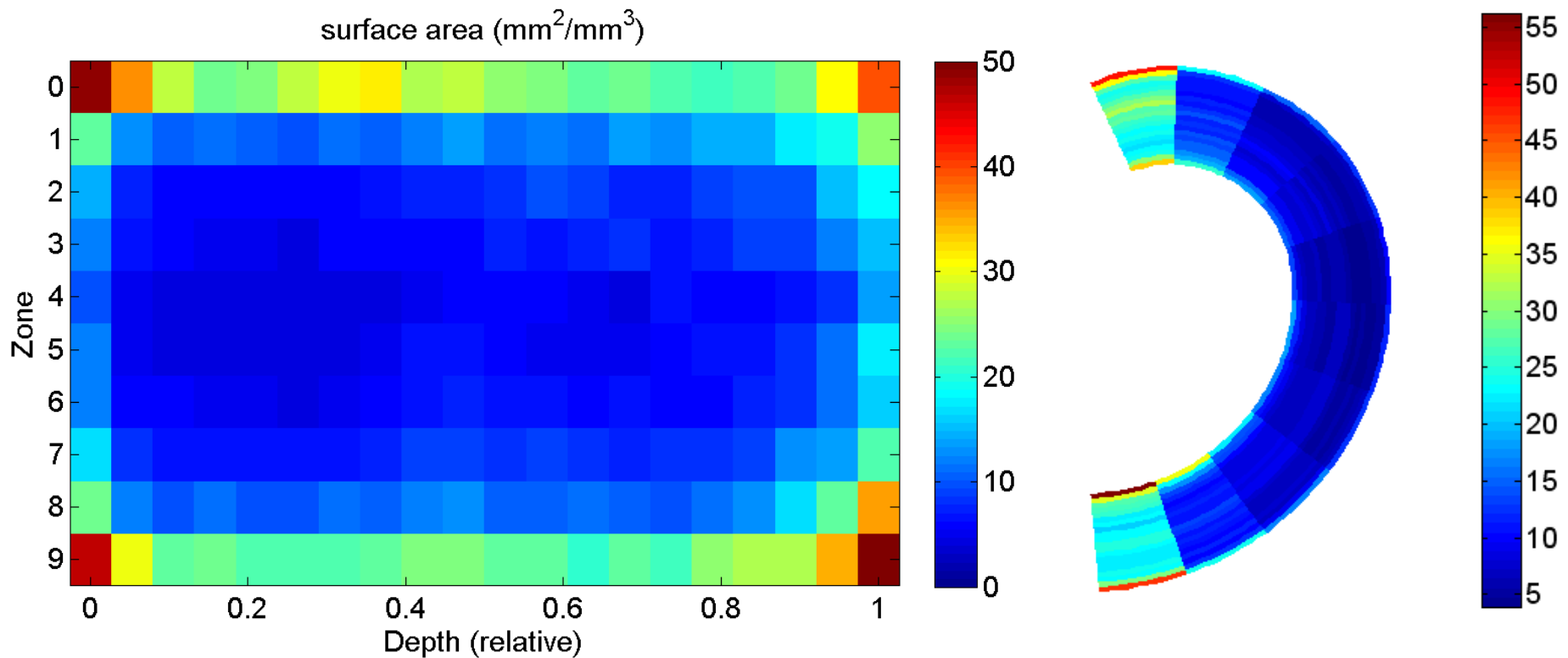


# Hétérogénéité en fonction de la région

- Décomposition du péricarpe en 10 régions
- Estimation de la densité de paroi dans chaque région



# Cartographie de l'hétérogénéité



# Quantification de l'histologie

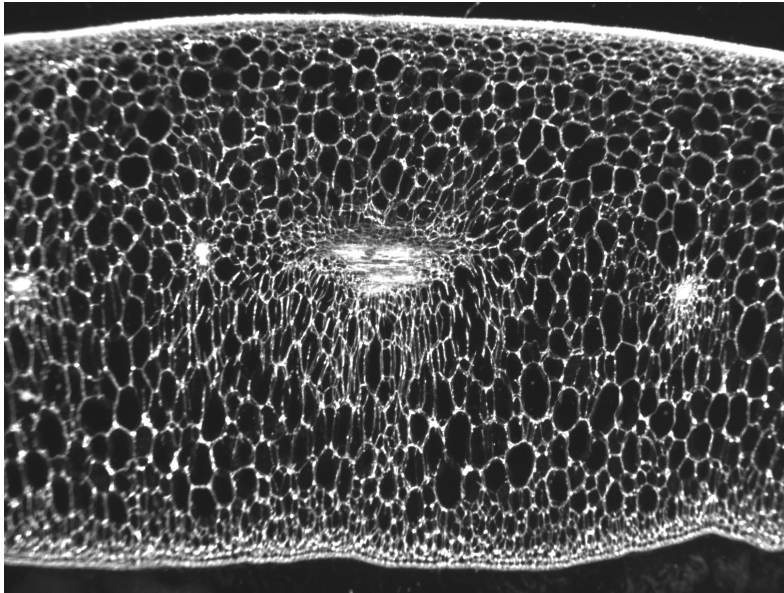
## ■ Échelle microscopique

- Surface de paroi cellulaire
- Estimation de la morphologie 3D

## ■ Échelle Macroscopique

- Distribution de la “taille” des cellules
- Granulométrie en niveaux de gris

# Imagerie macroscopique



11.3 mm

On voit des cellules, mais...

- on peut avoir plusieurs couches
- on a du mal a segmenter les petites cellules

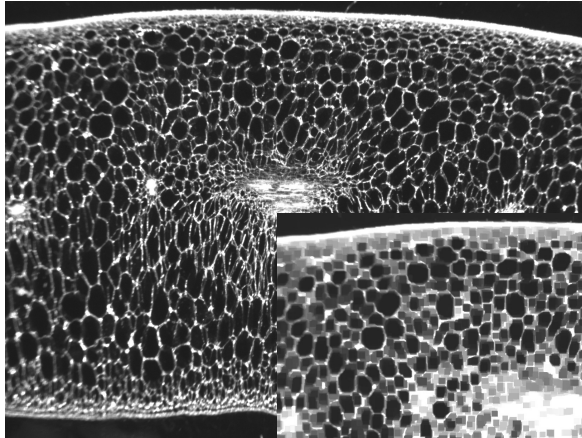


Extraction des informations de forme  
et de taille sur les niveaux de gris  
sans utiliser de segmentation

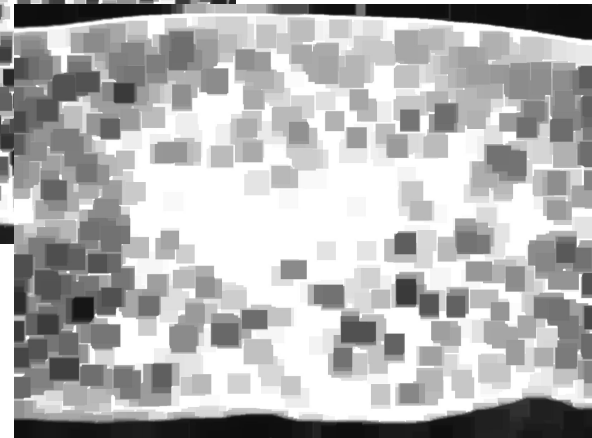
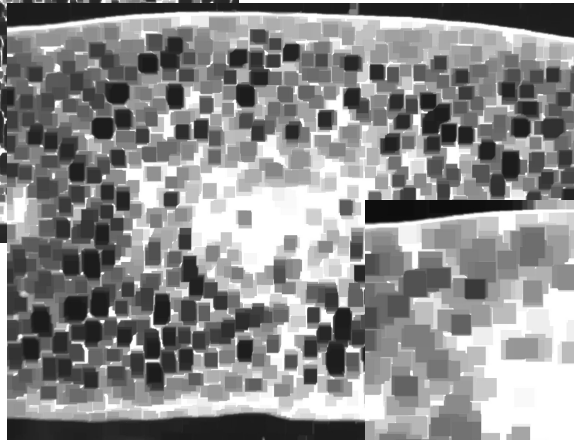
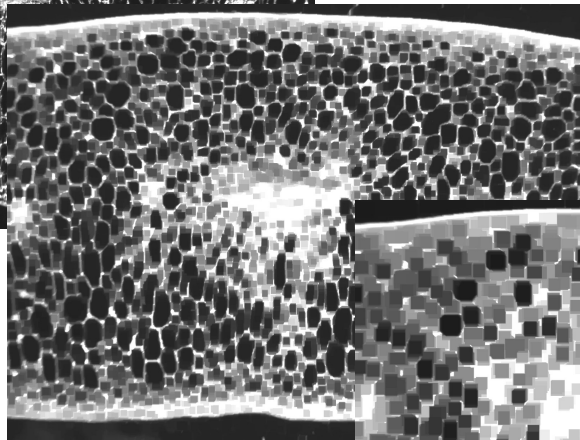
→ Analyse de la texture d'image

**Granulométrie en niveaux de gris  
par morphologie mathématique**

# Granulométrie morphologique



- Principe : appliquer des filtres de taille croissante



Élément structurant : carré  
Fermeture : filtre les objets sombres  
-> fait disparaître les cellules

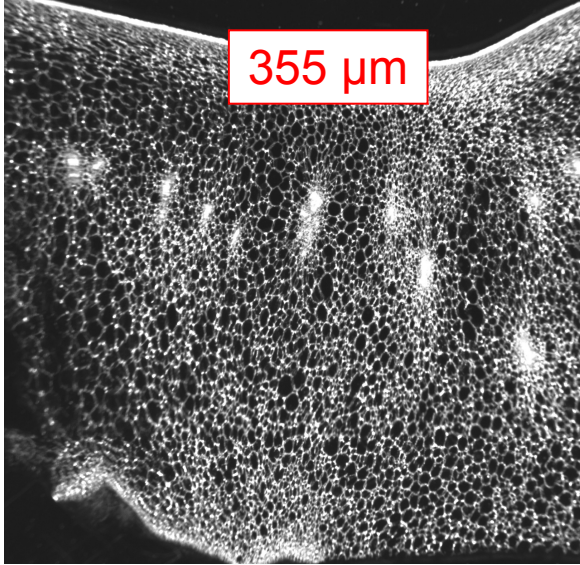


# Morphologie mathématique

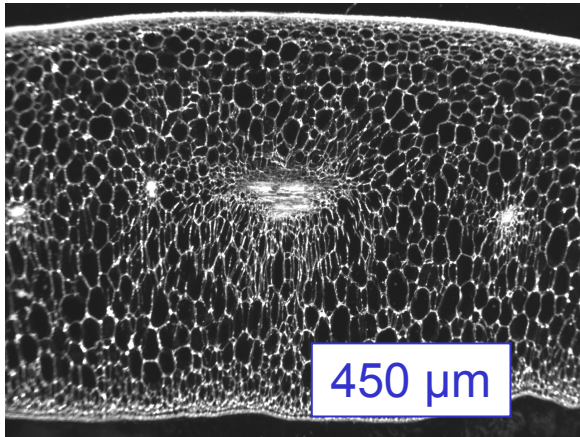
## Courbes granulométriques

Geometrical means

355  $\mu\text{m}$

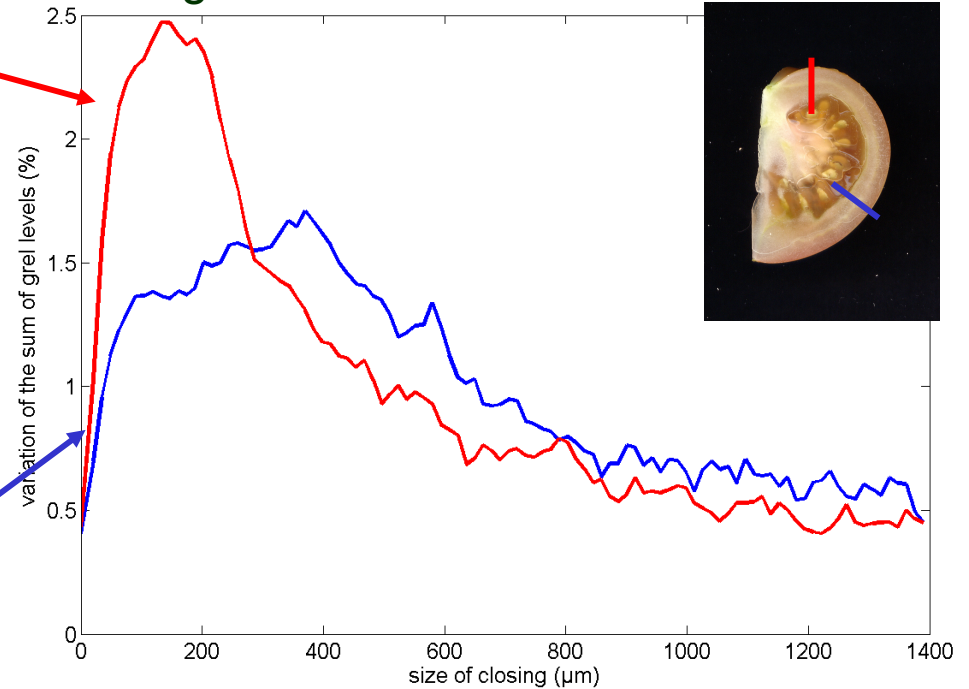


450  $\mu\text{m}$



Fermeture par élément structurant linéaire vertical

Variation de la somme  
des niveaux de gris

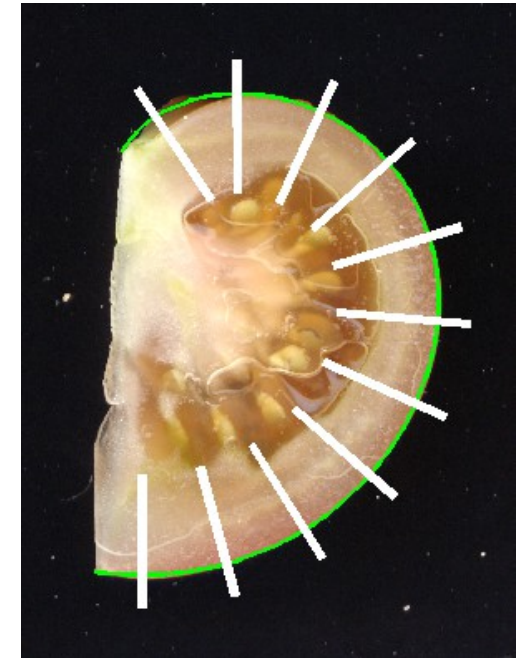
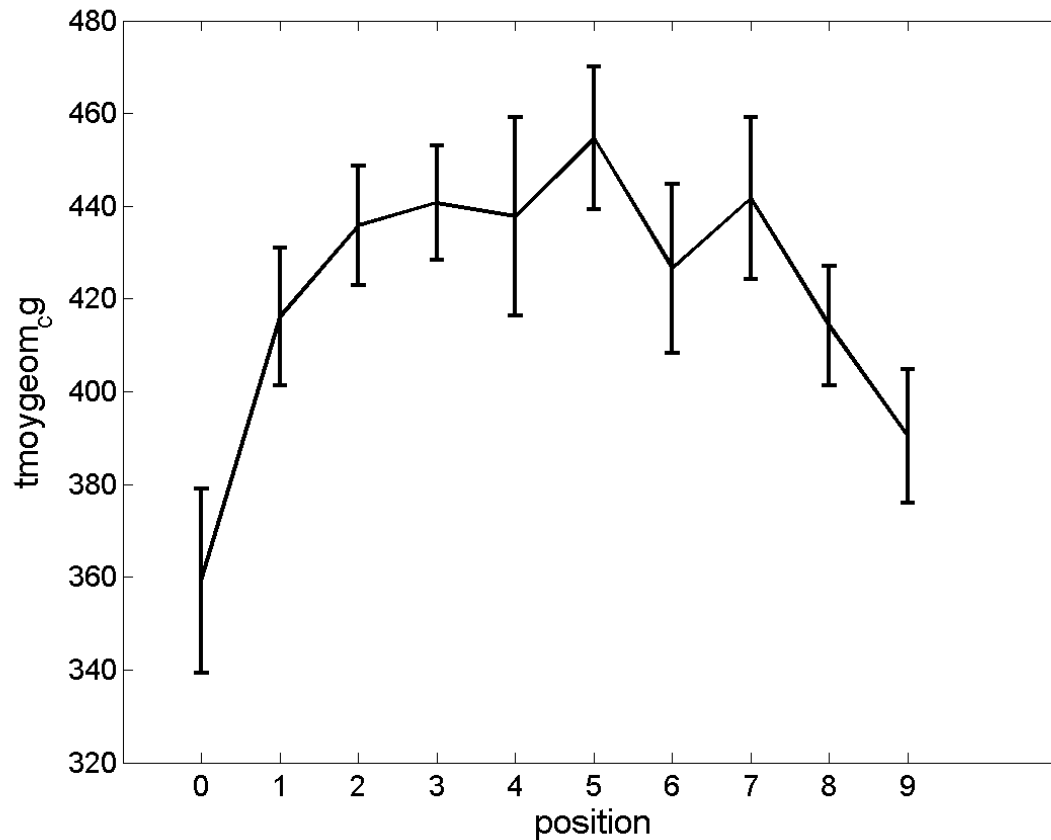


Taille de l'élément structurant ( $\mu\text{m}$ )

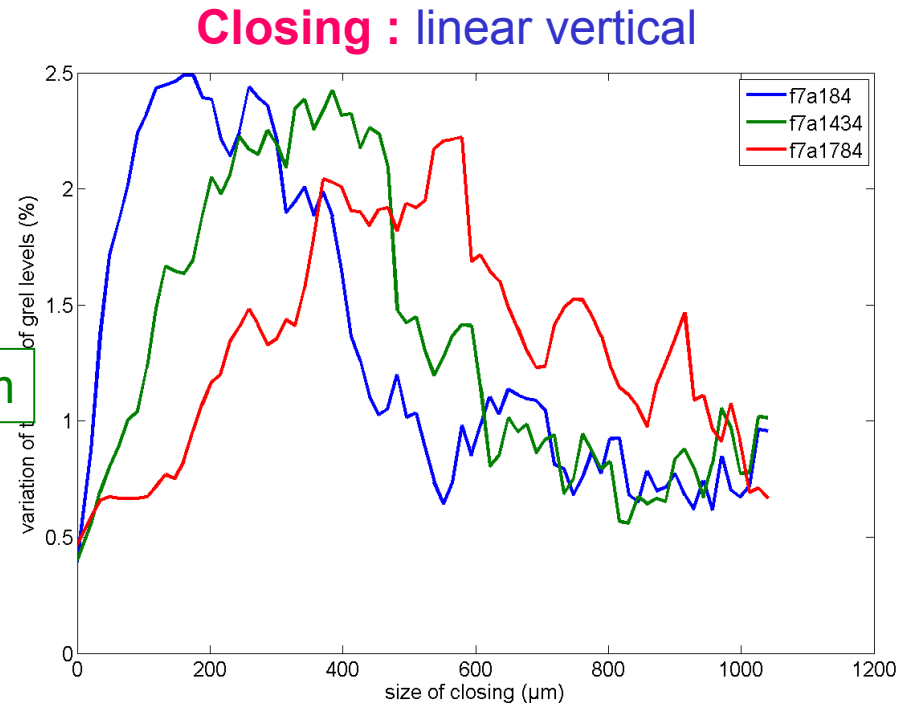
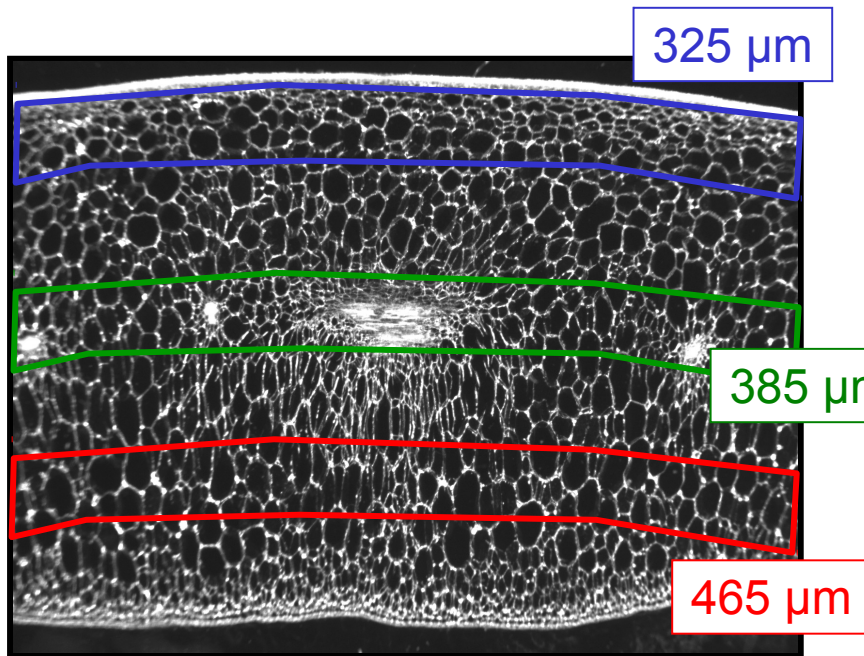


# Hétérogénéité en fonction de la région

Élément structurant linéaire vertical

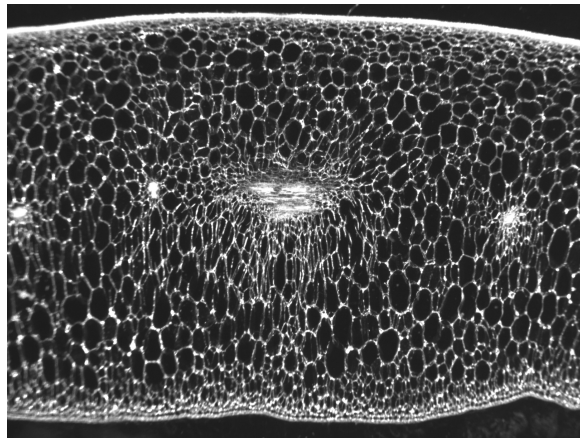
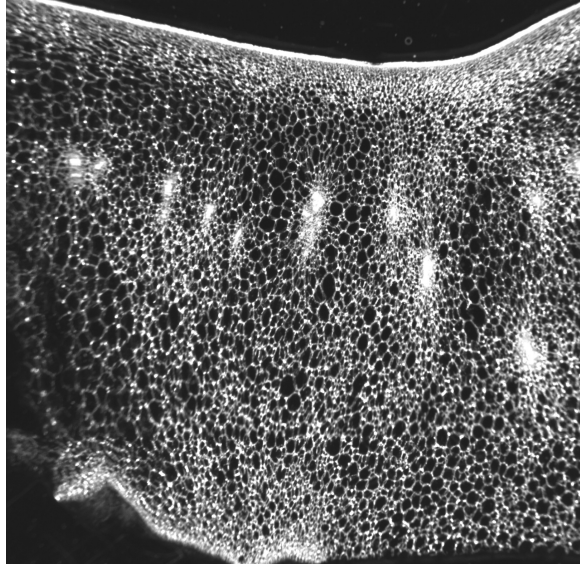


# Courbe granulométrique en fonction de la position

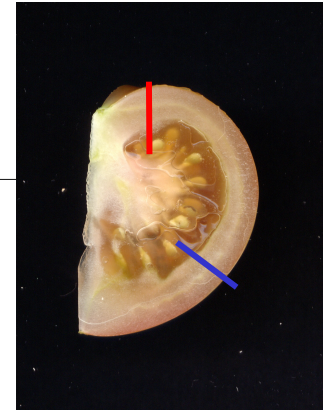
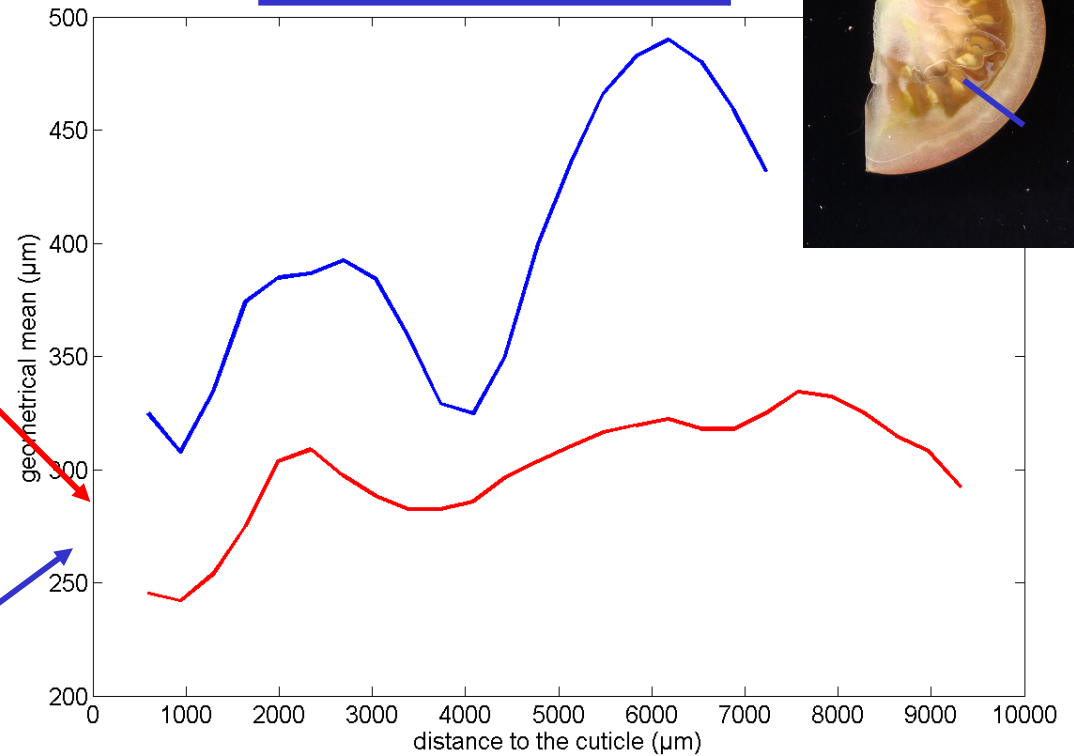


# Courbes granulométriques en fonction de la distance à la cuticule

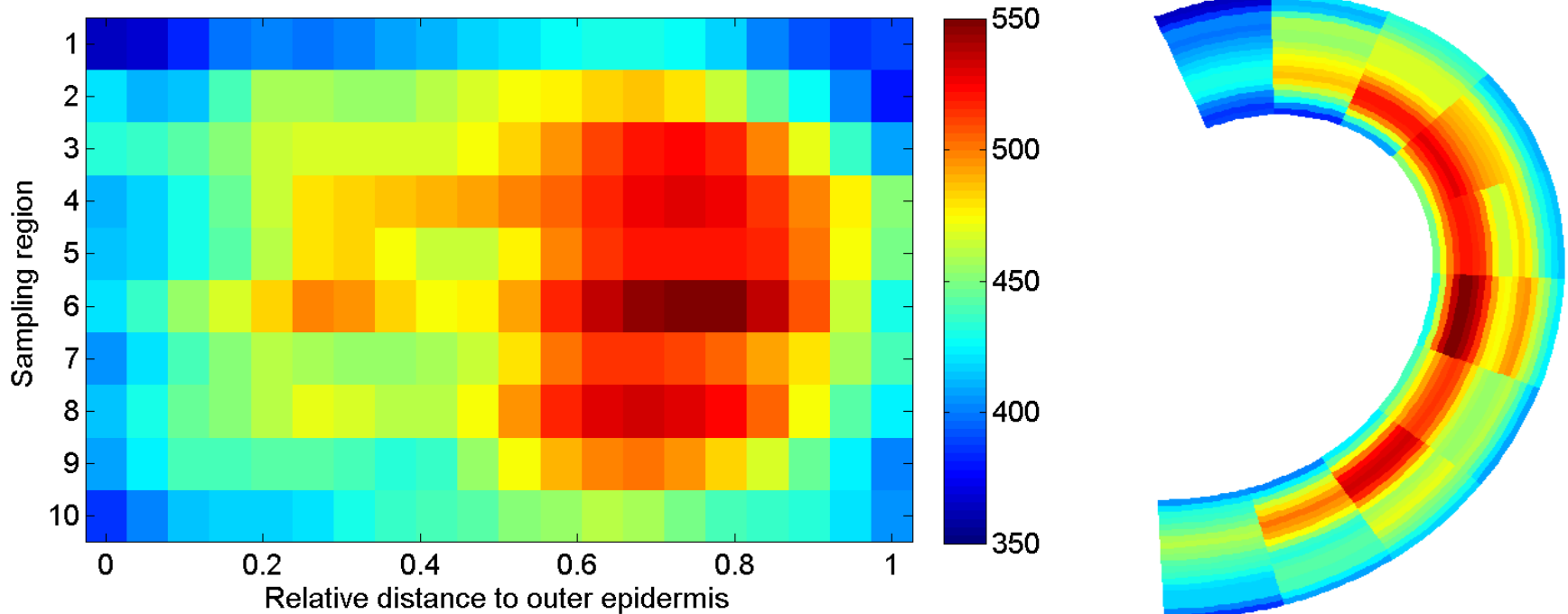
**Closing** : structuring element : linear vertical



Geometrical means



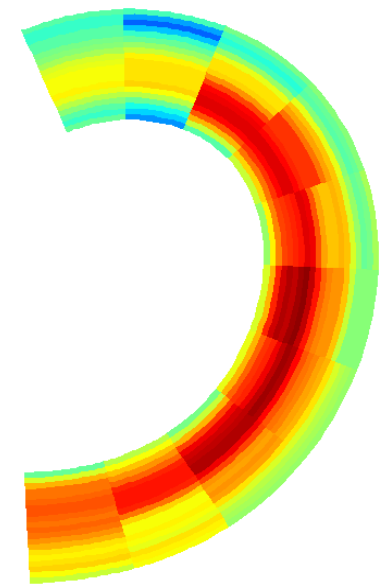
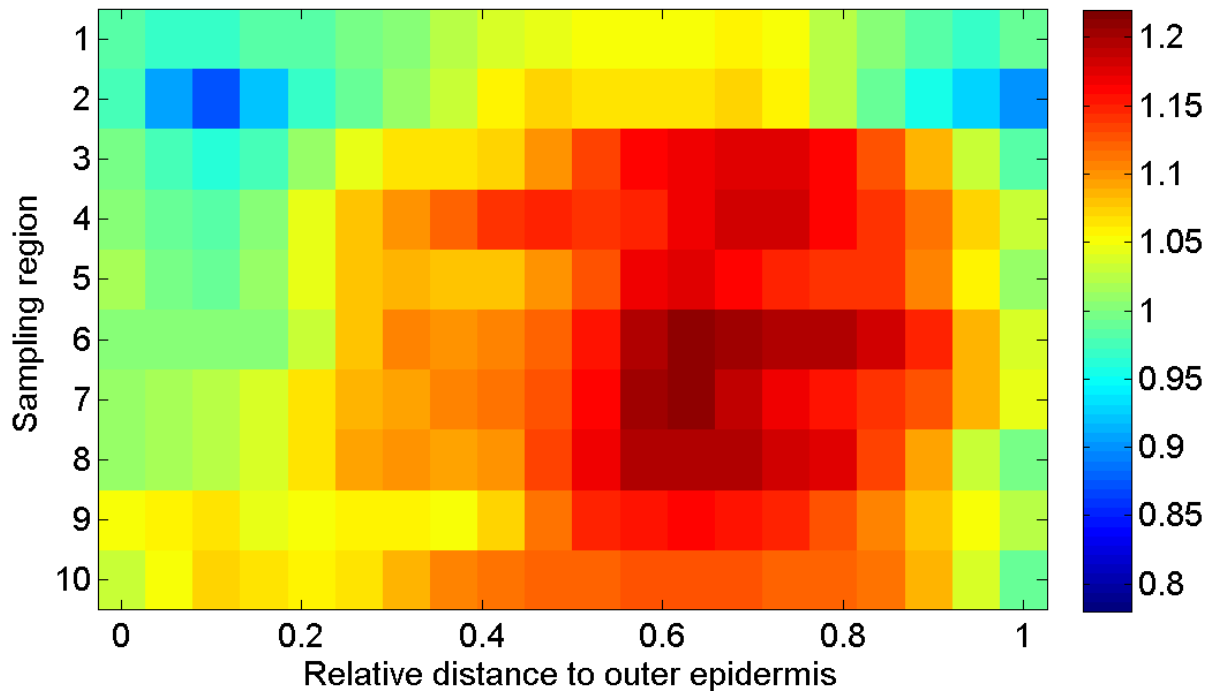
# Cartographie de la taille moyenne des cellules



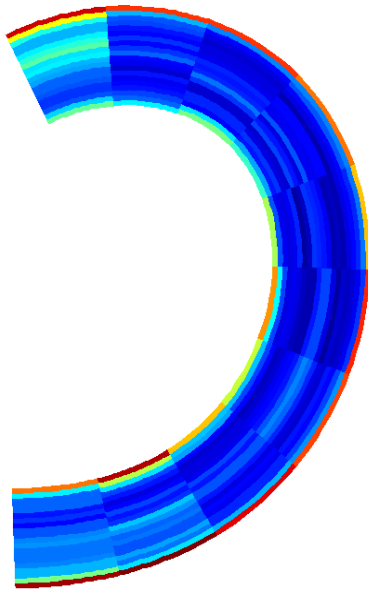
Distance à la cuticule ( $\mu\text{m}$ )

# Forme des cellules

- Combine les éléments vertical + horizontal
  - « Allongement » des cellules

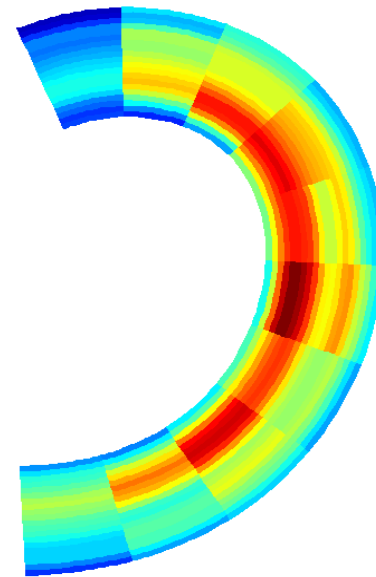


# Comparaison des échelles



## ■ Microscopie

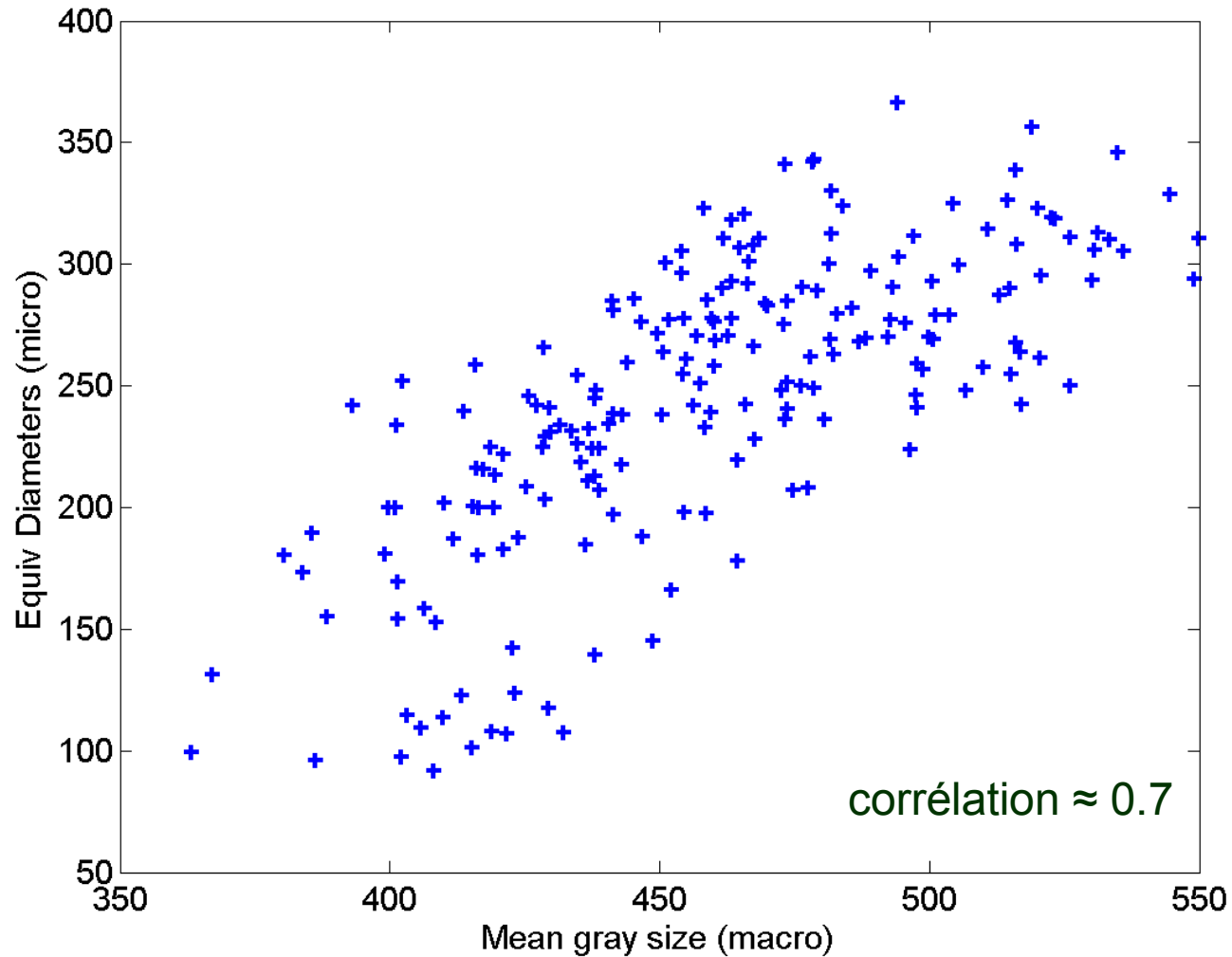
- Mesures précises
- « vraie valeur »
- Grande variabilité



## ■ Macroscopie

- Champ de vue +large
- Mesure aussi la forme
- Méthode rapide
- Mesure indirecte

# Comparaison micro-macro





# Perspectives

## ■ Macroscopie

- Identifier la variabilité entre les régions
- Segmenter les régions ?

## ■ Microscopie confocale

- Identifier cellules et espaces intercellulaires
- Mesurer l'épaisseur de paroi

## ■ Approche multi-échelles

- Cartographie statistique multivariée -> anatomie
- Intégrer d'autres modalités (IRM, CT...)



# Merci pour votre attention

- Des questions ?

# Références

- **Legland, D.; Devaux, M.; Bouchet, B.; Guillon, F. & Lahaye, M., 2012**  
Cartography of cell morphology in tomato pericarp at the fruit scale  
*J. Microsc.*, 247, 78-93
- **Legland, D.; Guillon, F.; Kiêu, K.; Bouchet, B. & Devaux, M.-F., 2010**  
Stereological estimation of cell wall density of DR12 tomato mutant using three-dimensional confocal imaging  
*Ann. Bot.*, 105, 265-276
- **Devaux, M.-F.; Bouchet, B.; Legland, D.; Guillon, F. & Lahaye, M., 2008**  
Macro-vision and grey level granulometry for quantification of tomato pericarp structure  
*Postharvest Biol. Technol.*, 47, 199-209
- **Legland, D.; Devaux, M.-F.; Kiêu, K. & Bouchet, B., 2008**  
Stereological estimation for layered structures based on slabs perpendicular to a surface  
*J. Microsc.*, 232, 44-55
- **Legland, D.; Kiêu, K. & Devaux, M.-F., 2007**  
Computation of Minkowski measures on 2D and 3D binary images  
*Image Anal. Stereol.*, 26, 83-92

# Morphométrie 3D

- Paramètres géométriques
  - Volume de péricarpe
  - Surface des cellules
  - Densité de surface
- Procédure d'estimation
  - Calcul de la probabilité d'échantillonnage
  - Intégration de la probabilité

$$V(Y) = \int_Y dy$$

$$S(X) = \int_{\partial X} dx$$

$$S_V(X) = \frac{S(X)}{V(Y)}$$

$$\hat{V}(Y) = \int_{Y \cap T} P[y \in T]^{-1} dy$$

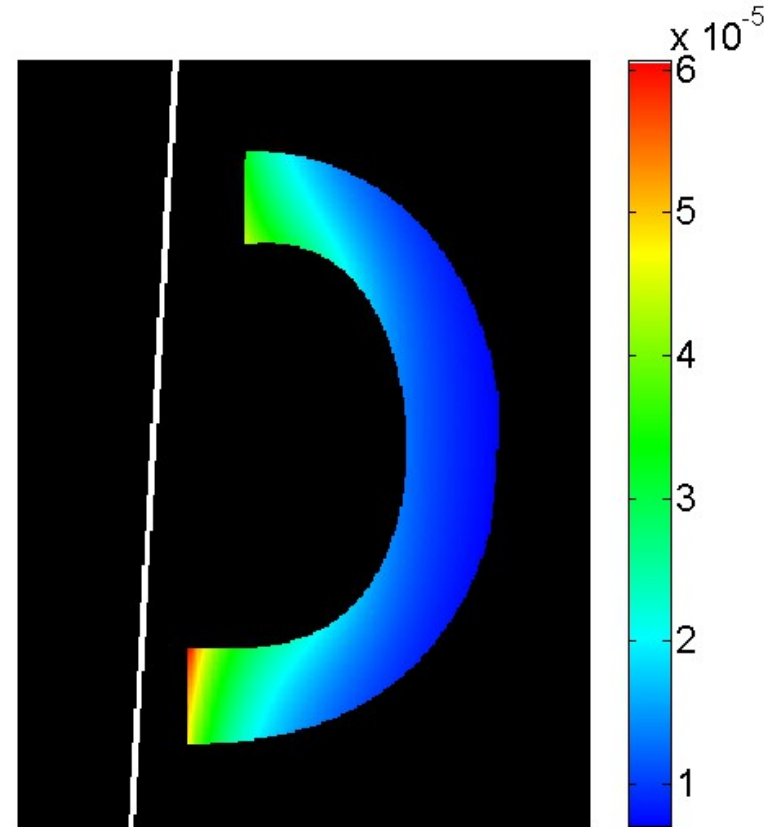
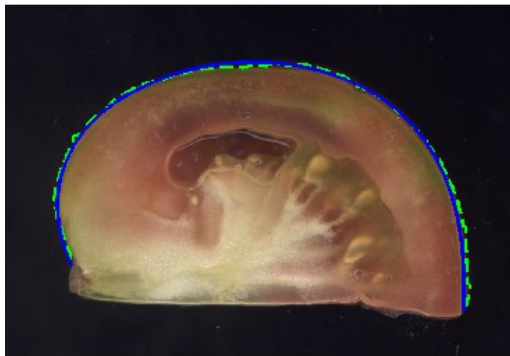
$$\hat{S}(X) = \int_{\partial X \cap T} P[x \in T]^{-1} dx$$

# Calcul des probabilités

- Expression à partir de caractéristiques locales :

$$P[x \in T | Y] \simeq \lambda_0 \frac{l_1 \cdot l_2}{(1 - \kappa_1 d)(1 - \kappa_2 d)}$$

- Calcul des paramètres en utilisant des contours ajustés sur des quartiers :



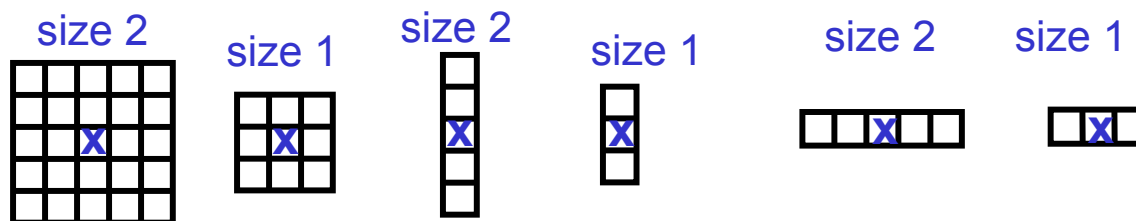
# Morphologie Mathématique

Transformations non linéaires des images

opérateurs de base : **érosion** et **dilatation**

en combinaison : **ouverture** et **fermeture**

Utilisation de masques de tailles et de formes différentes  
=> « éléments structurants »

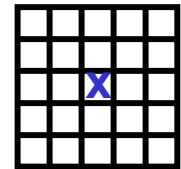
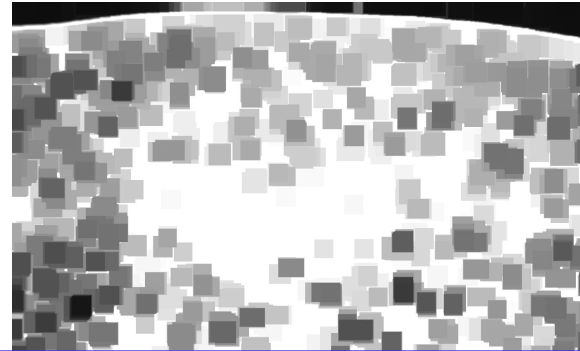
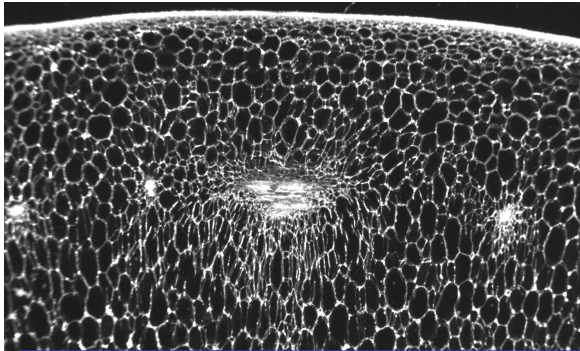


Exemples d'éléments structurants

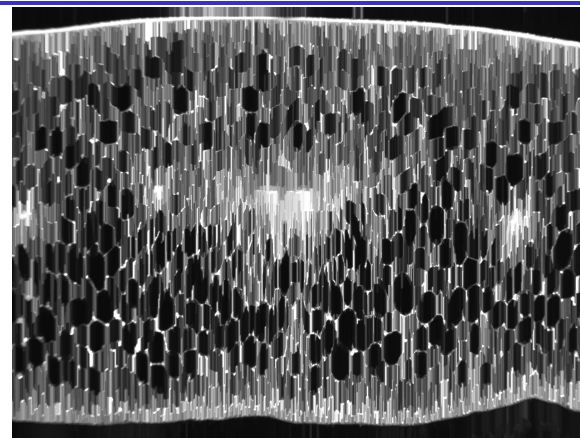
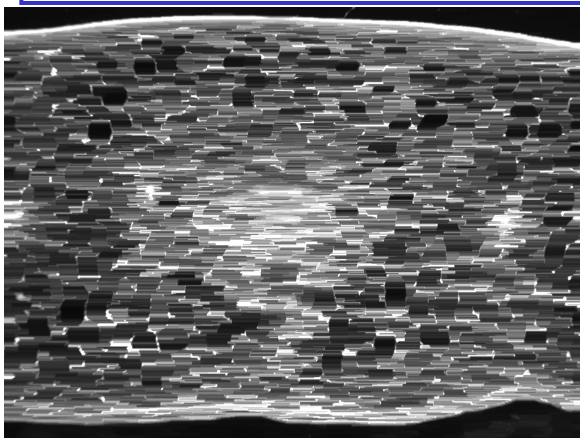
# Morphologie mathématique

## Différentes tailles d'éléments structurants

Fermeture : filtre les objets sombres => les cellules



Considère les variations de niveaux de gris comme une mesure de la quantité de cellules « tamisée » par l'opération de fermeture



Size  $\approx$  355  $\mu$ m