

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 :

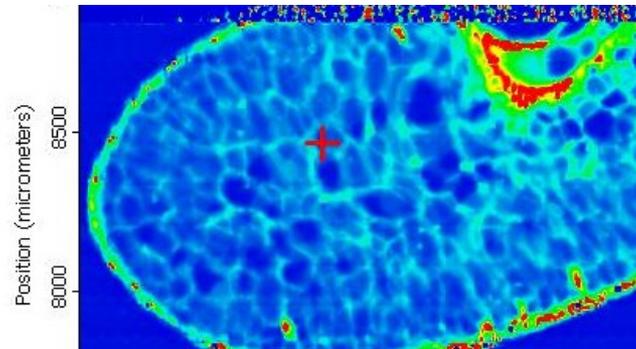
valoriser les produits agronomiques

■ Améliorations :

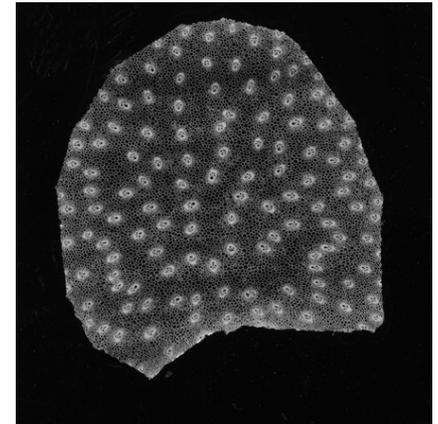
- de la qualité sensorielle
- des propriétés d'usages



Fruit de tomate

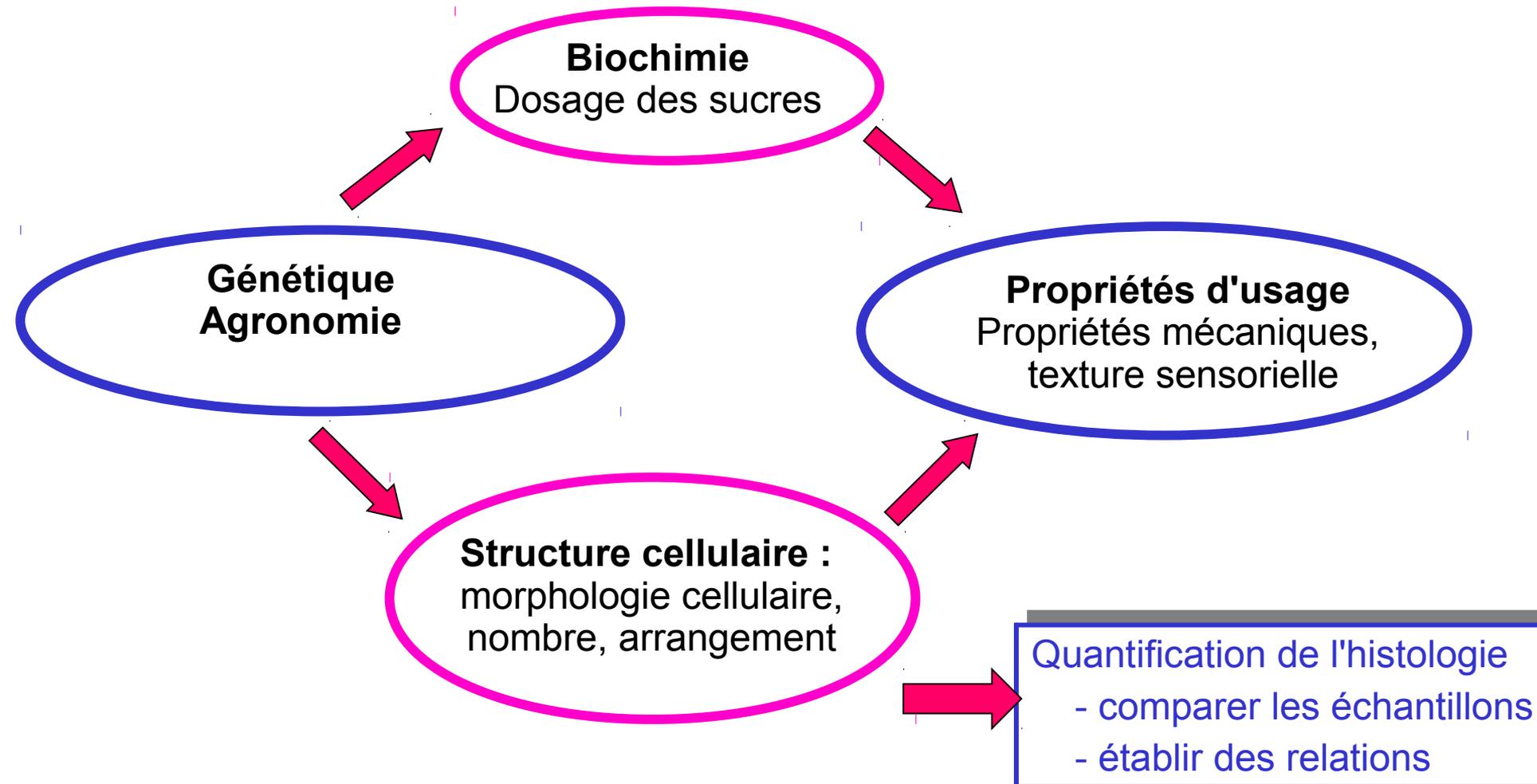


Grain de blé

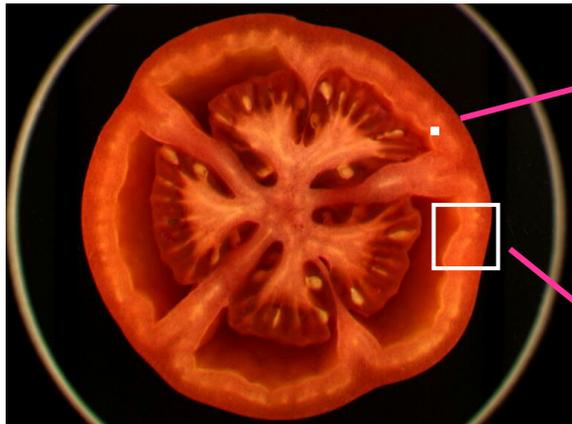


Tige de maïs

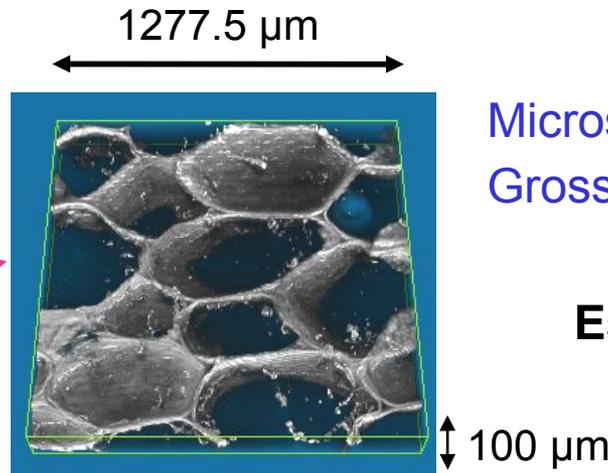
Caractérisation des tissus végétaux



Imagerie du fruit de tomate

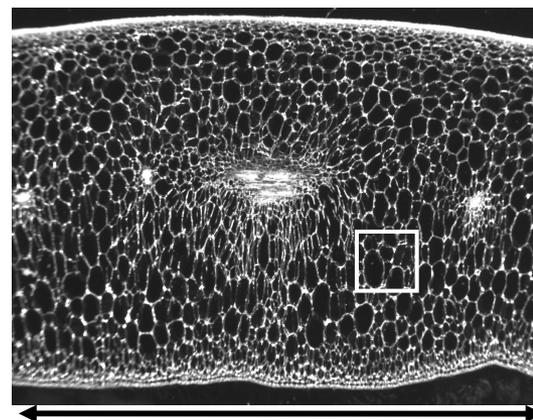


Sections de **tissu frais**
200 μm d'épaisseur



Microscopie confocale 3D :
Grossissement X10

Cellules
Espaces intercellulaires



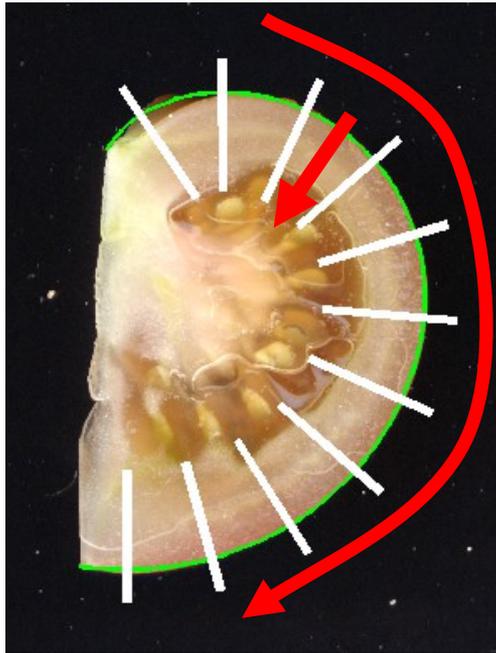
Macroscopie 2D

Tissus
Cellules

11.3 mm

Cartographie à l'échelle du fruit

- Étude des variations de la structure cellulaire dans le fruit

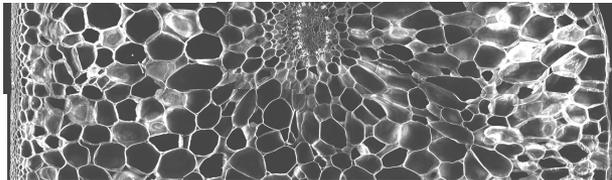


Taille et forme en fonction de :

- 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

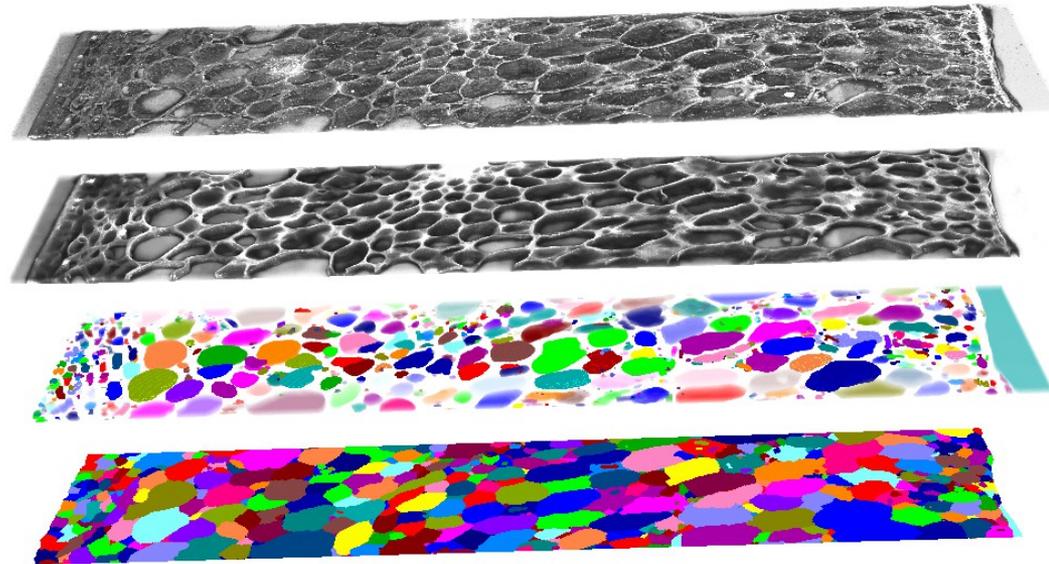
- Surface de paroi cellulaire
- Estimation de la morphologie 3D

■ 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

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

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

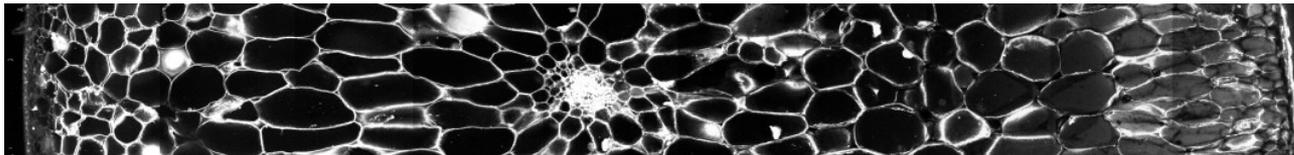
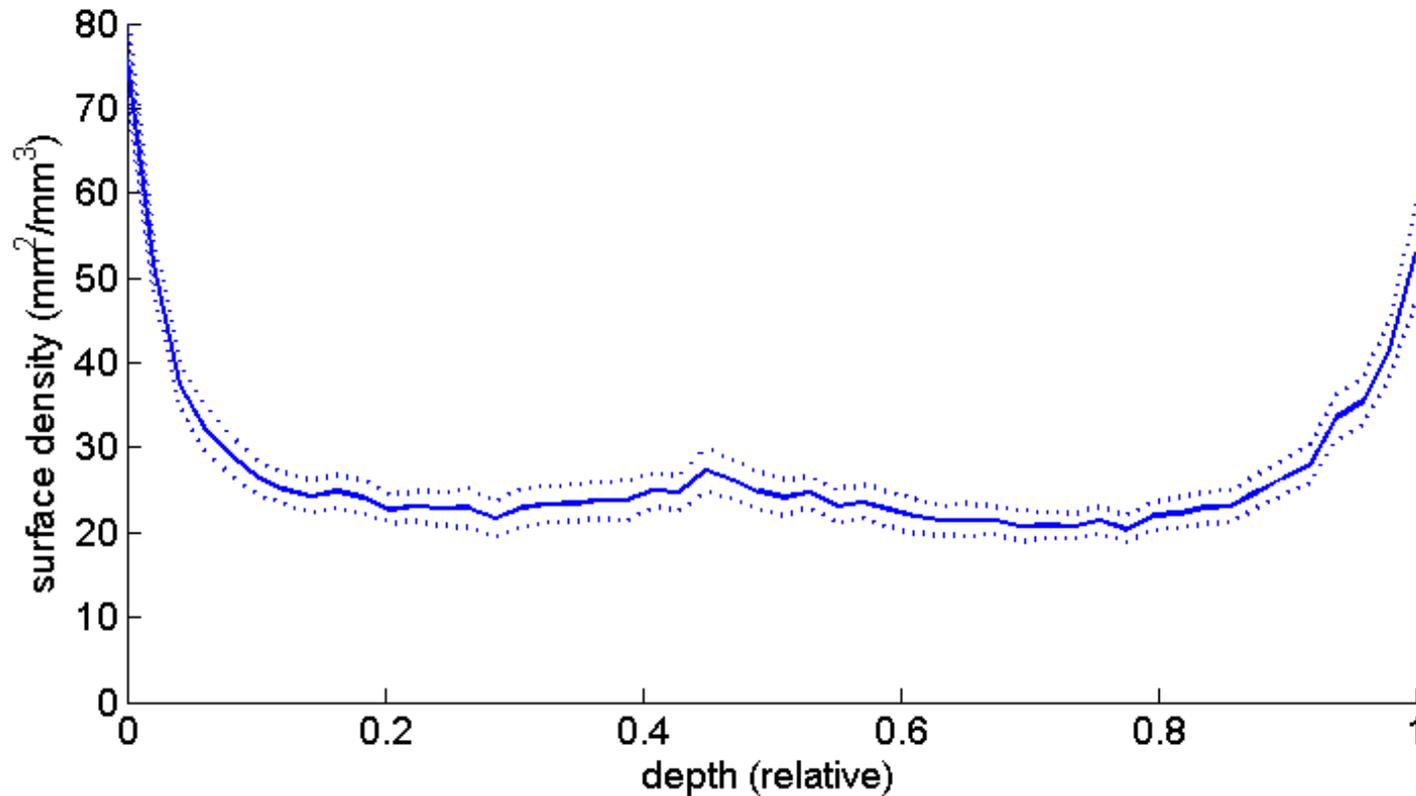
$$S_V(X) = \frac{S(X)}{V(Y)}$$

| Volume (cm ³) | Volume (m ²) | Volume (mm ² /mm ³) |
|---------------------------|--------------------------|--|
| 85.2 | 2.2 | 26.95 |
| 4.2 | 0.9 | 0.59 |

Si on considère 10 millions de cellules par tomate :

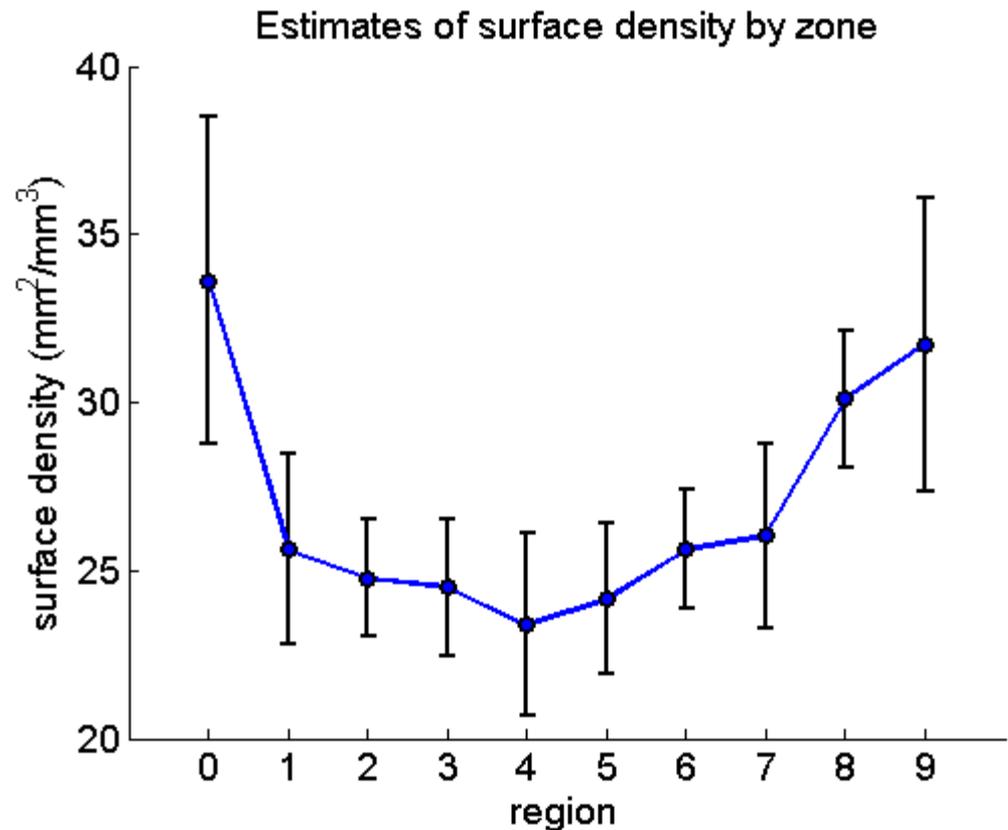
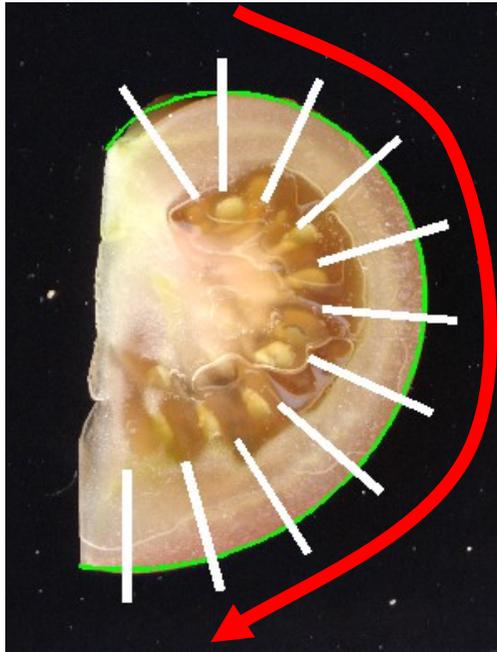
=> diamètre moyen de 200-300 μm

Profils de densité de surface

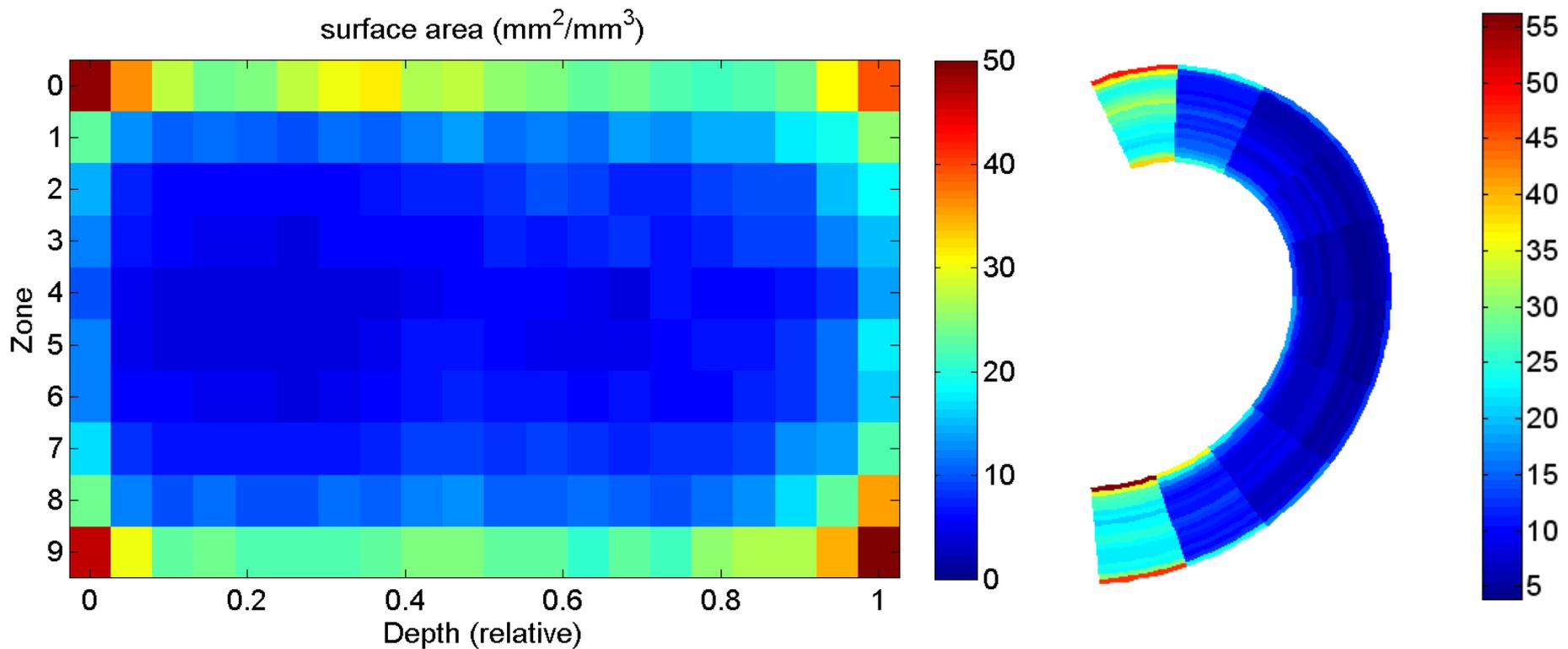


Hétérogénéité en fonction de la région

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



Cartographie de l'hétérogénéité



Quantification de l'histologie

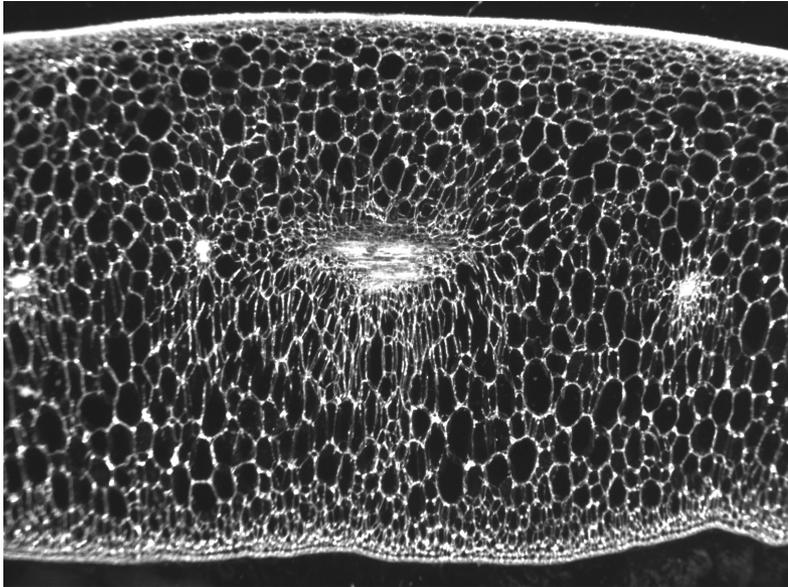
■ Échelle microscopique

- 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 à segmenter les petites cellules

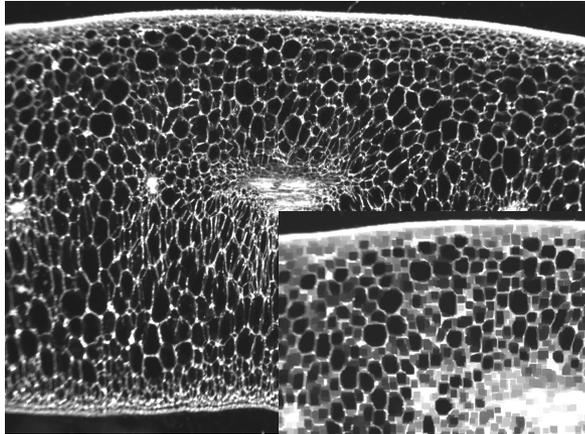


Extraction des informations de forme
et de taille sur les niveaux de gris
sans utiliser de segmentation

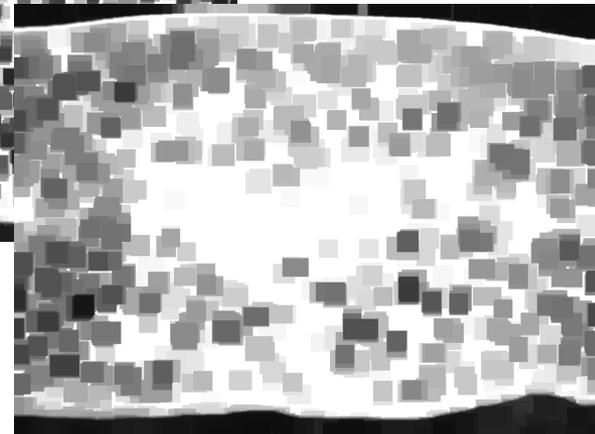
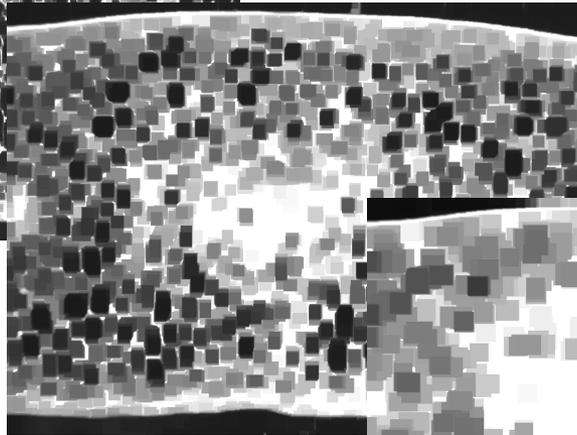
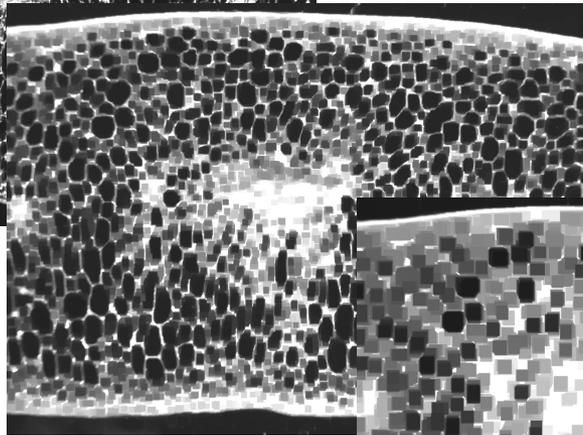
→ Analyse de la texture d'image

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

Granulométrie morphologique



- Principe : appliquer des filtres de taille croissante



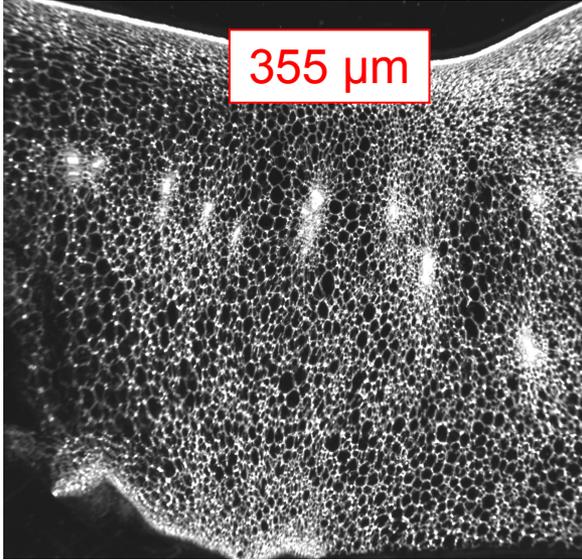
Élément structurant : carré
Fermeture : filtre les objets sombres
-> fait disparaître les cellules

Morphologie mathématique

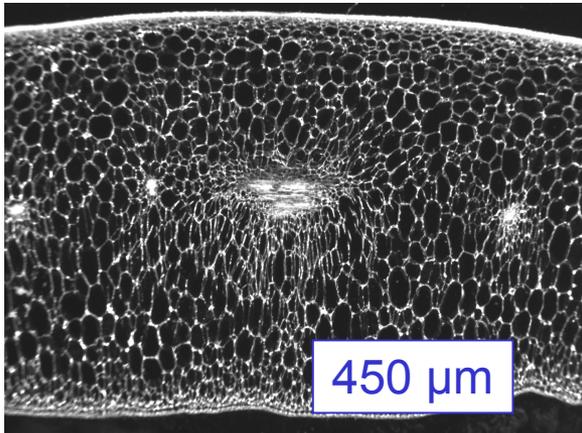
Courbes granulométriques

Geometrical means

355 μm

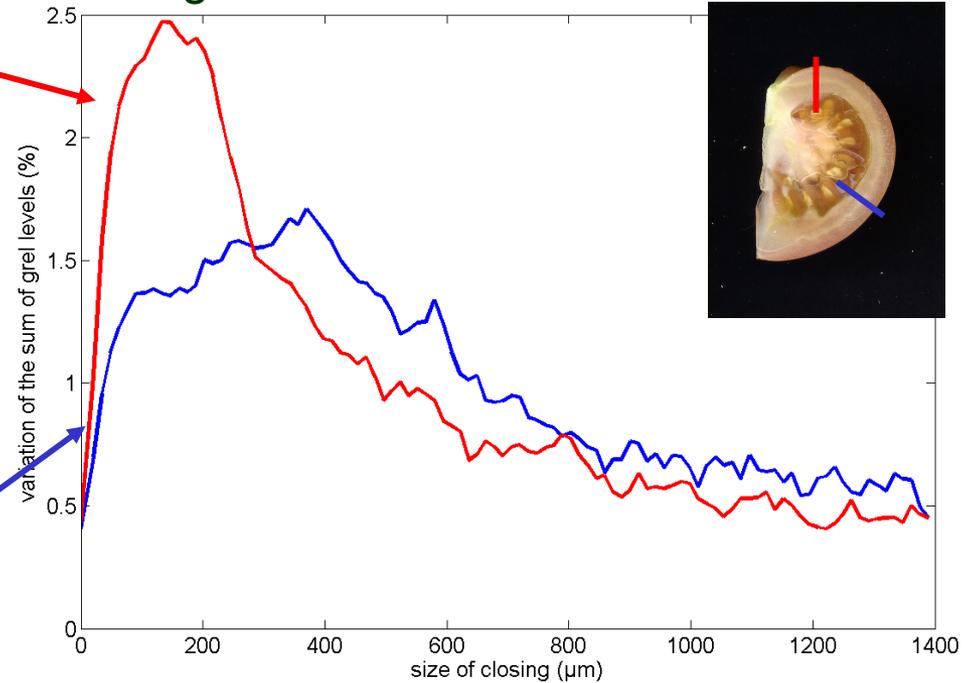


450 μm



Fermeture par élément structurant linéaire vertical

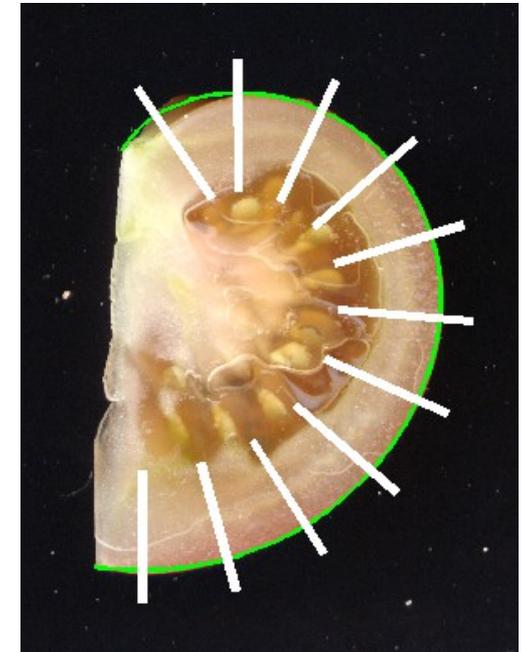
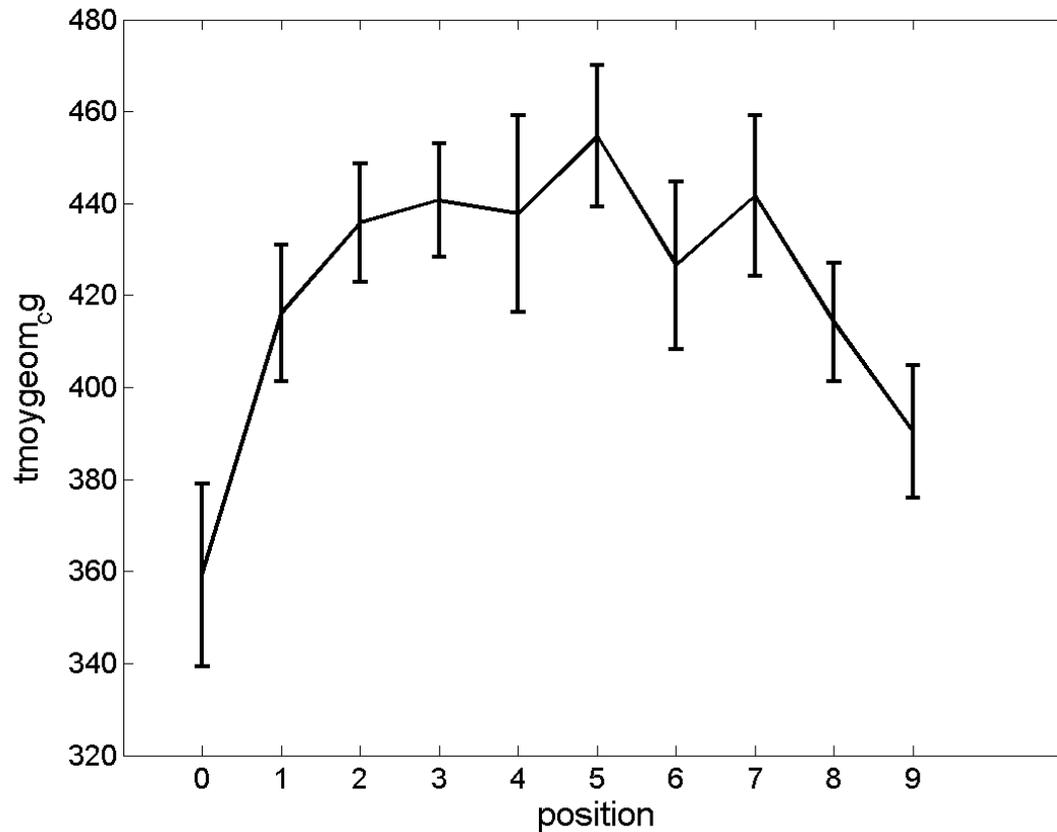
Variation de la somme
des niveaux de gris



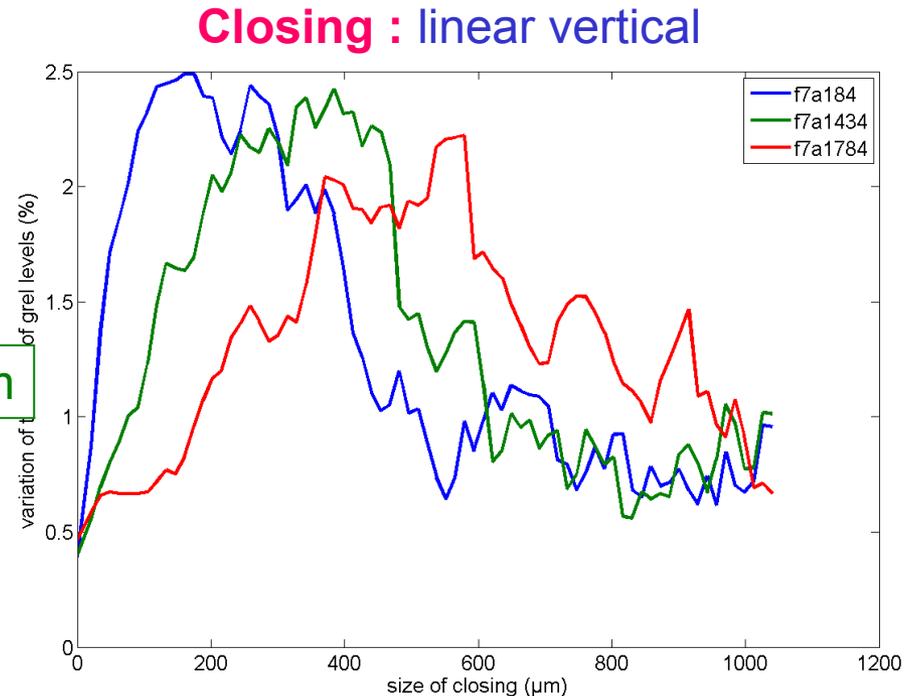
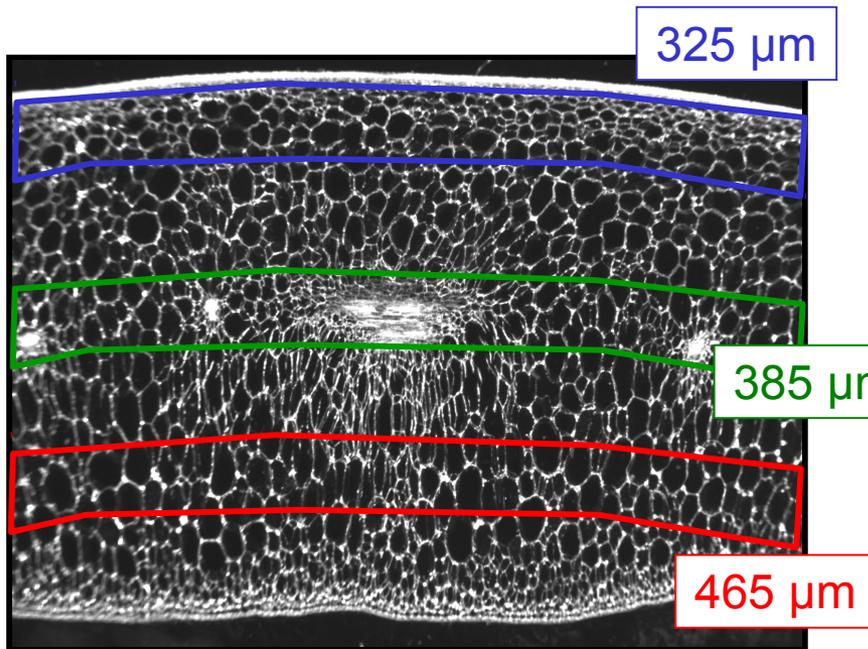
Taille de l'élément structurant (μm)

Hétérogénéité en fonction de la région

Élément structurant linéaire vertical

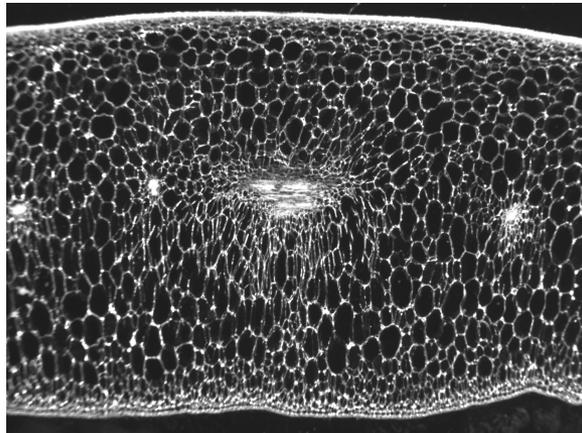
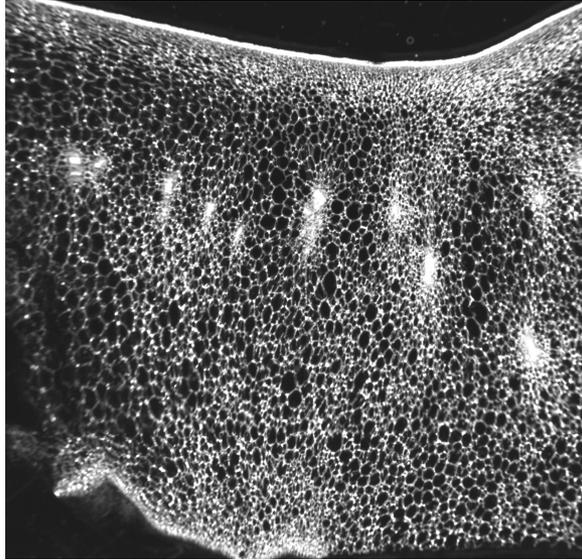


Courbe granulométrique en fonction de la position

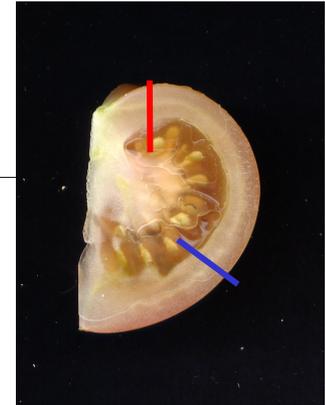
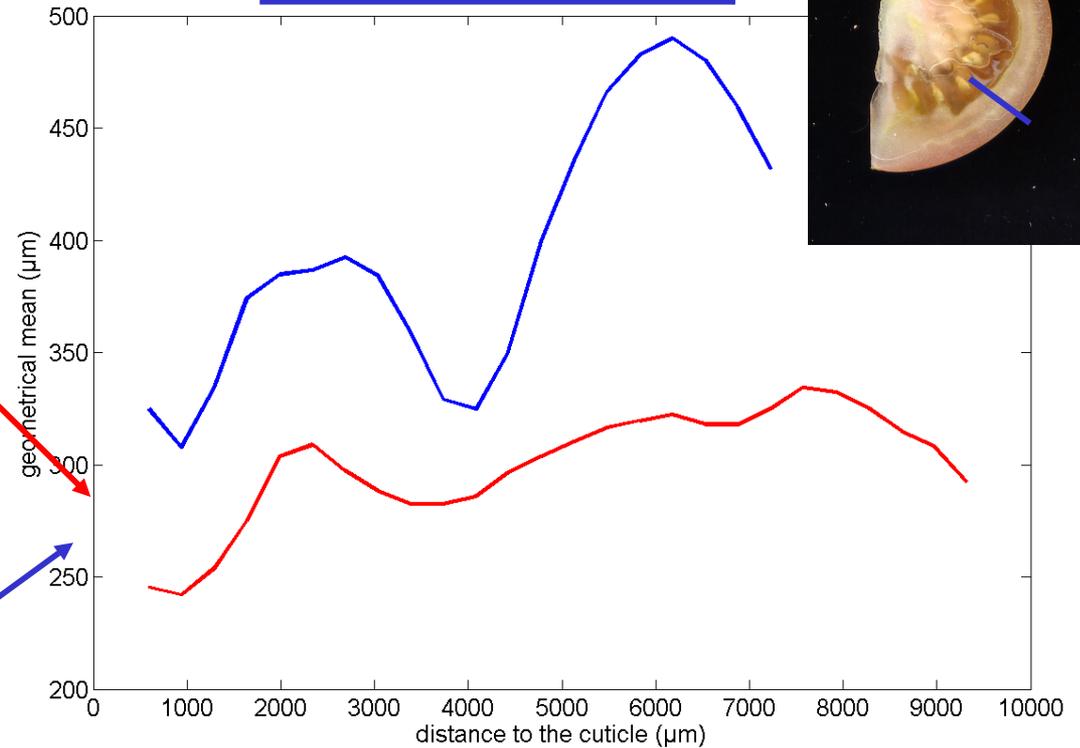


Courbes granulométriques en fonction de la distance à la cuticule

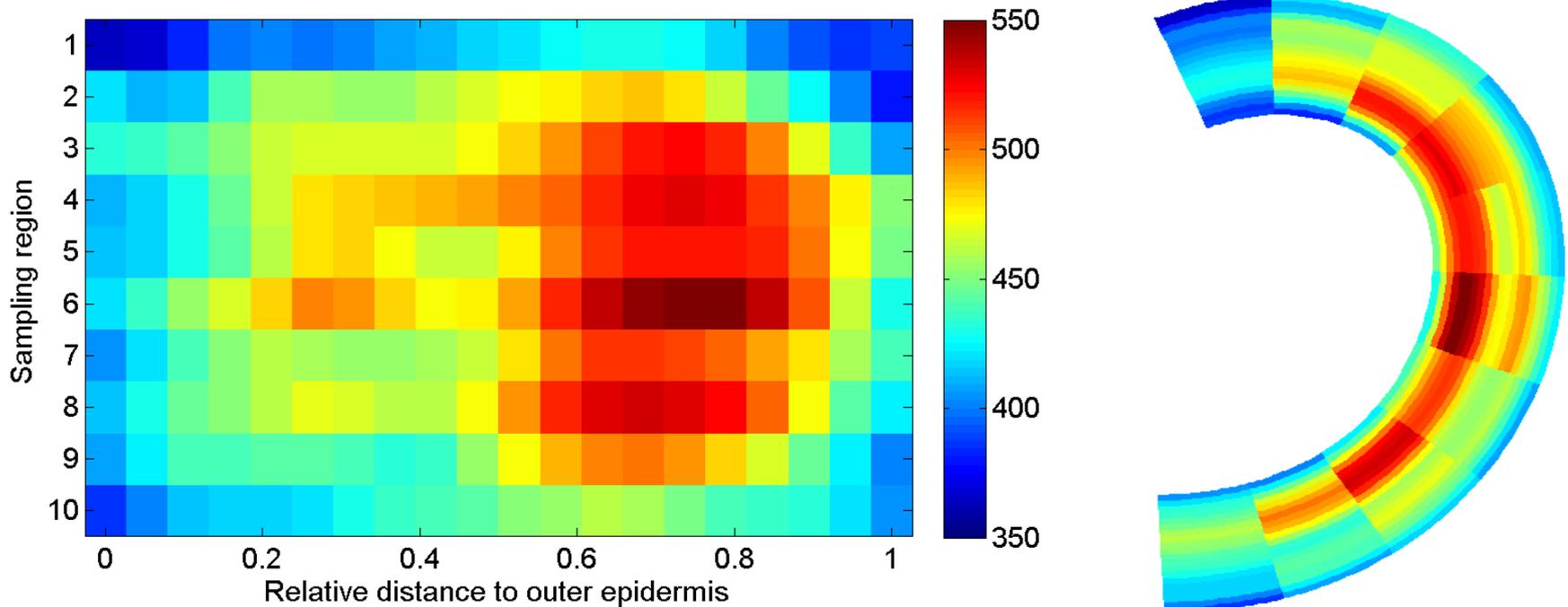
Closing : structuring element : linear vertical



Geometrical means



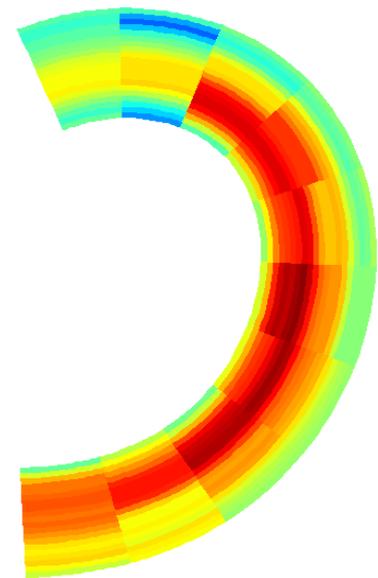
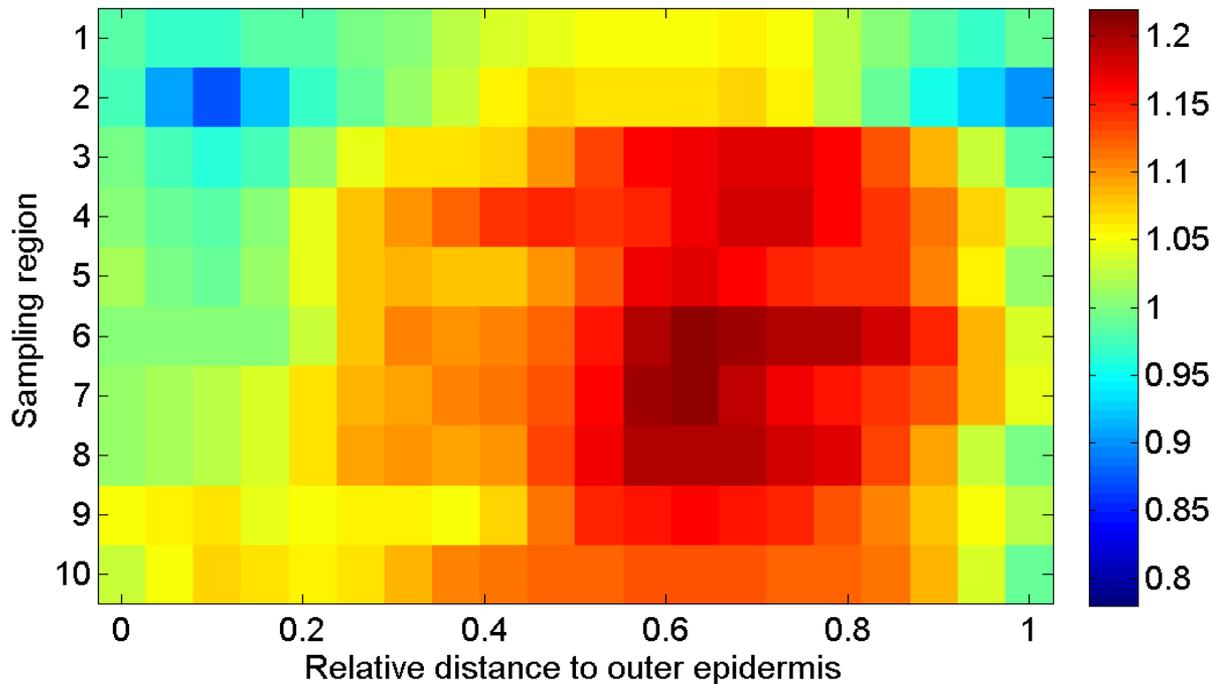
Cartographie de la taille moyenne des cellules



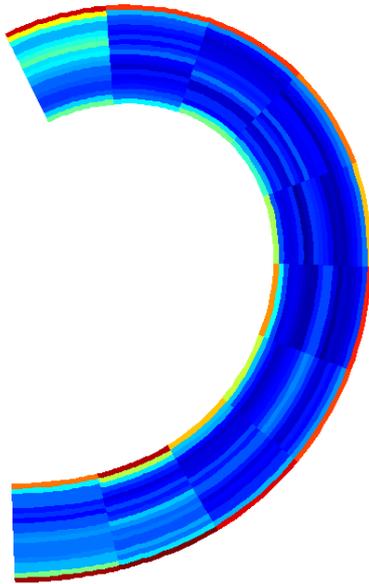
Distance à la cuticule (μm)

Forme des cellules

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

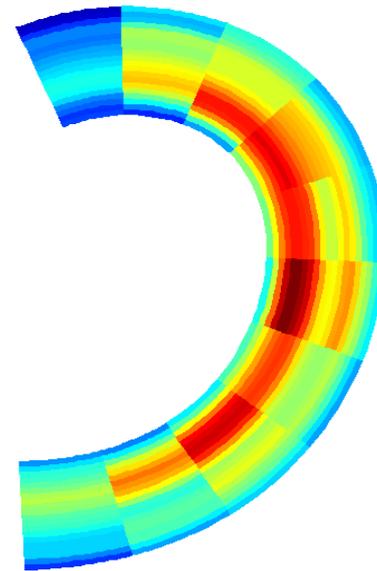


Comparaison des échelles



■ Microscopie

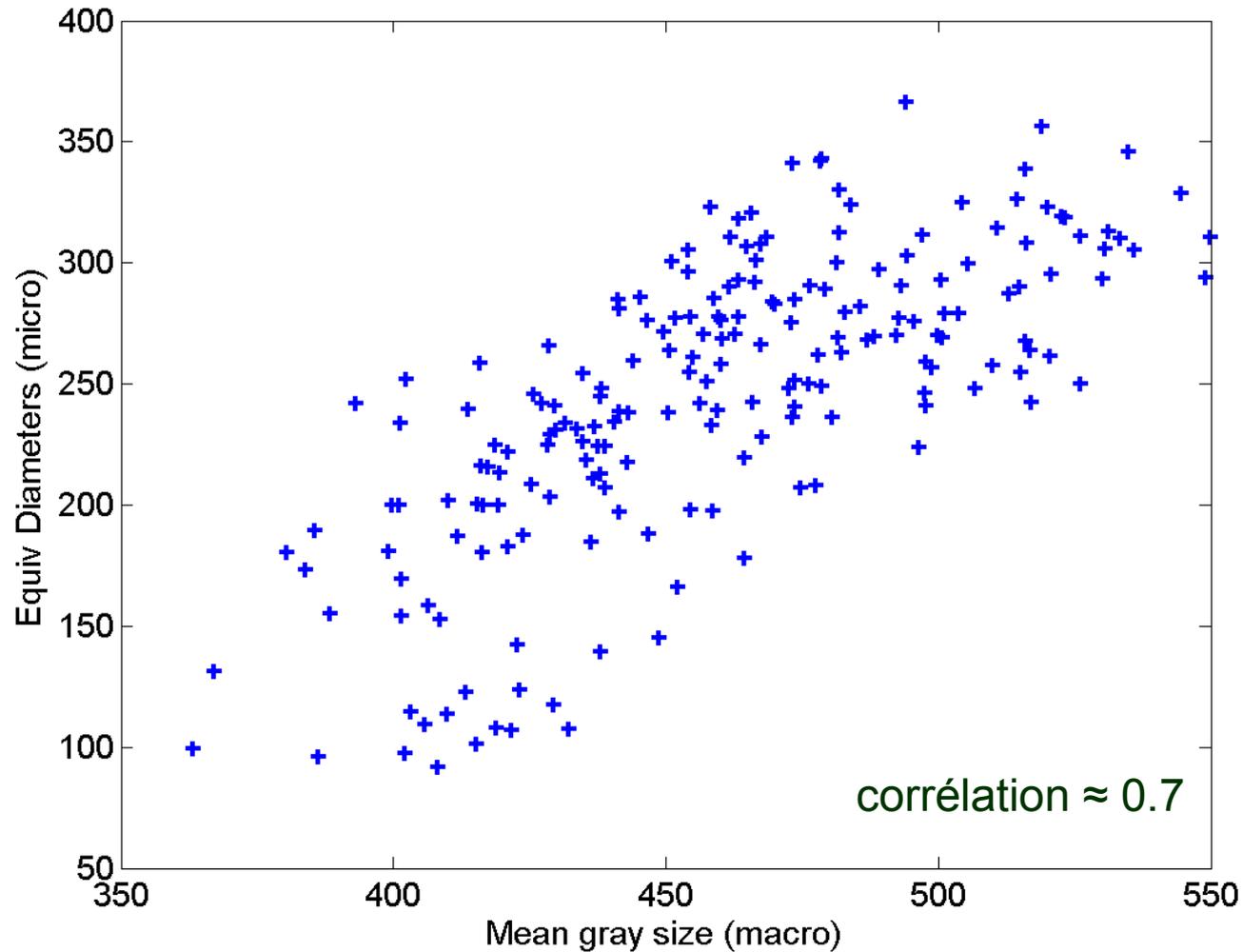
- Mesures précises
- « vraie valeur »
- Grande variabilité



■ 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

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

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

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

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

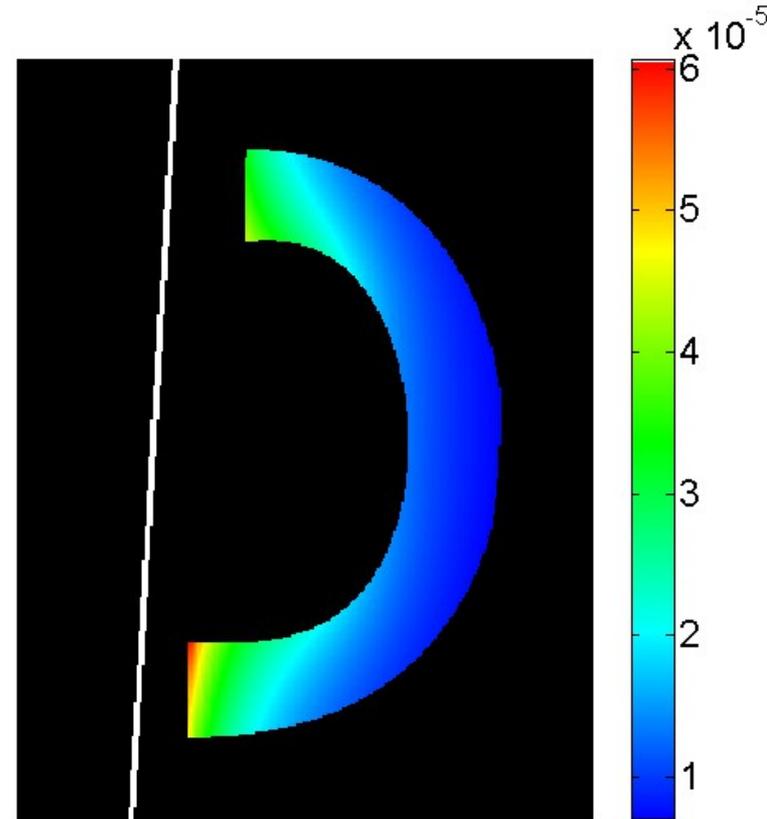
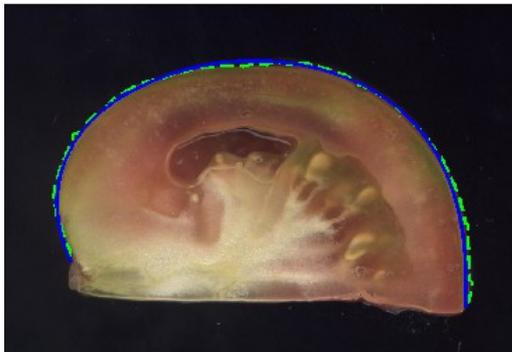
$$\hat{S}(X) = \int_{\partial X \cap T} P[x \in T]^{-1} dx$$

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 :



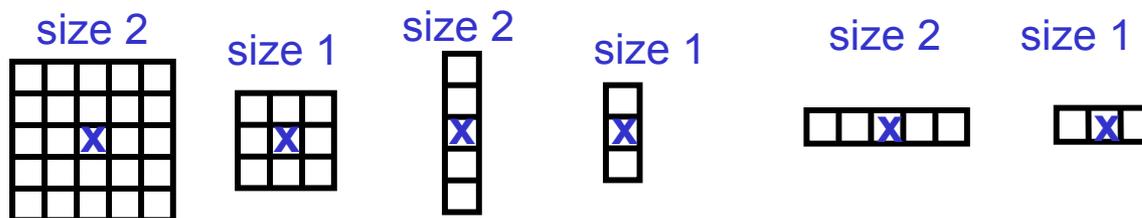
Morphologie Mathématique

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 »

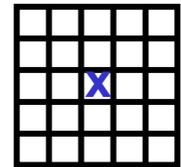
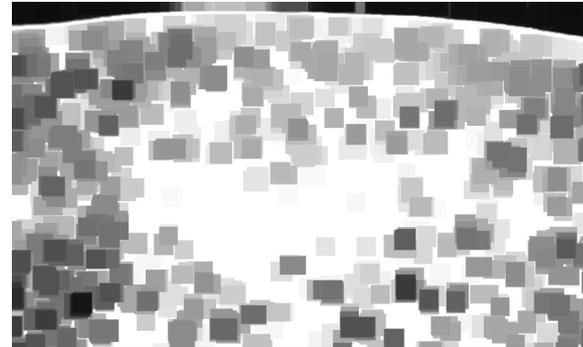
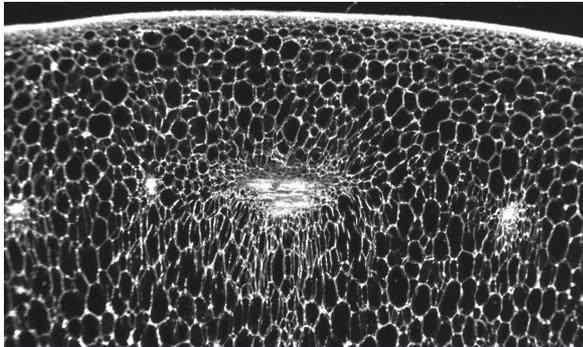


Exemples d'éléments structurants

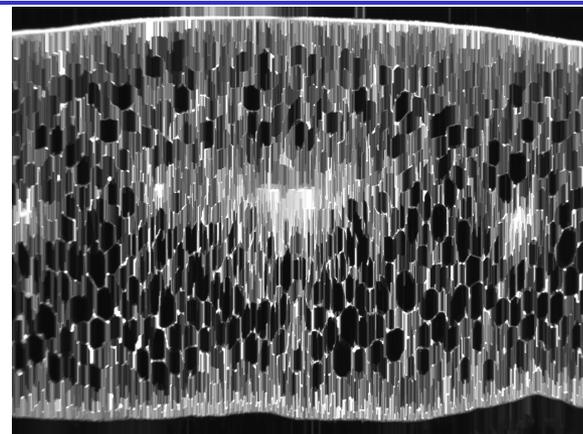
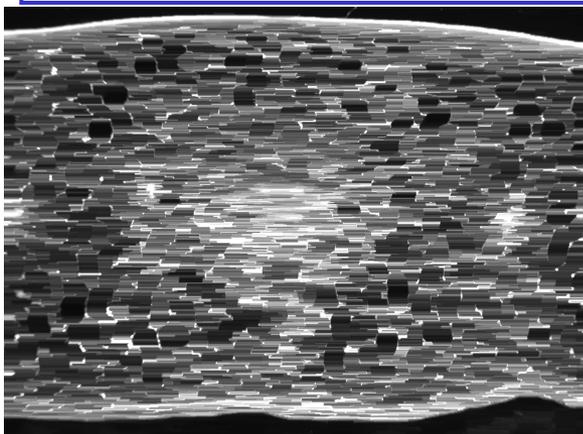
Morphologie mathématique

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 μ m