



Laboratoire  
d'Informatique  
de Robotique  
et de Microélectronique  
de Montpellier



# Caractérisation automatique d'organisations cellulaires dans des mosaïques d'images microscopiques de bois

*Application à l'étude des files cellulaires*

*Spécialité **Bio-Informatique***

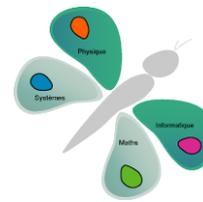
Doctorant : **Guilhem Brunel**

Directeurs de thèse : **Marc Jaeger, Gérard Subsol**

Encadrement en informatique : **Philippe Borianne**

Encadrement en biologie : **Yves Caraglio**

Soutenance le 1<sup>er</sup> octobre 2014  
Mail : [gbrunel34@gmail.com](mailto:gbrunel34@gmail.com)



## 1. Contexte

- a. Contexte biologique
- b. Questionnements biologiques
- c. Enjeux de la thèse

## 2. Acquisition. De nouvelles méthodologies

- a. Essences de travail
- b. De la préparation à l'acquisition

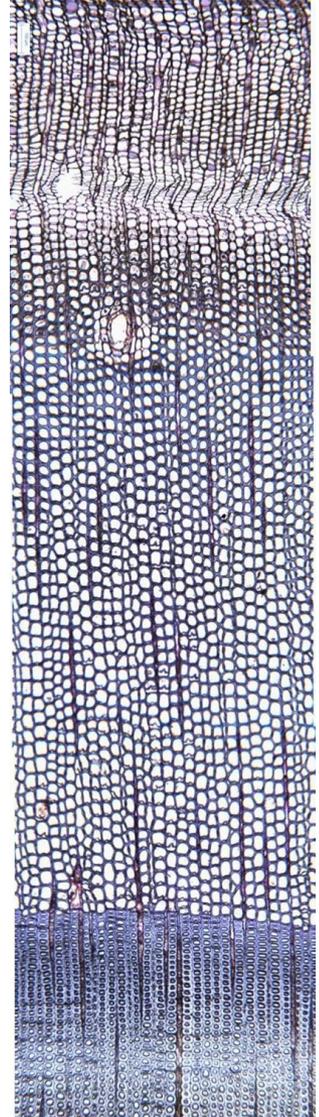
## 3. Files cellulaires. De l'identification à la caractérisation

- a. Segmentation des cellules
- b. Modélisation des arrangements cellulaires
- c. Fusion des données
- d. Fiabilité et mesures

## 4. Résultats et discussions

- a. Implémentation et validation
- b. Utilisation dans un cadre biologique

## 5. Conclusions et perspectives



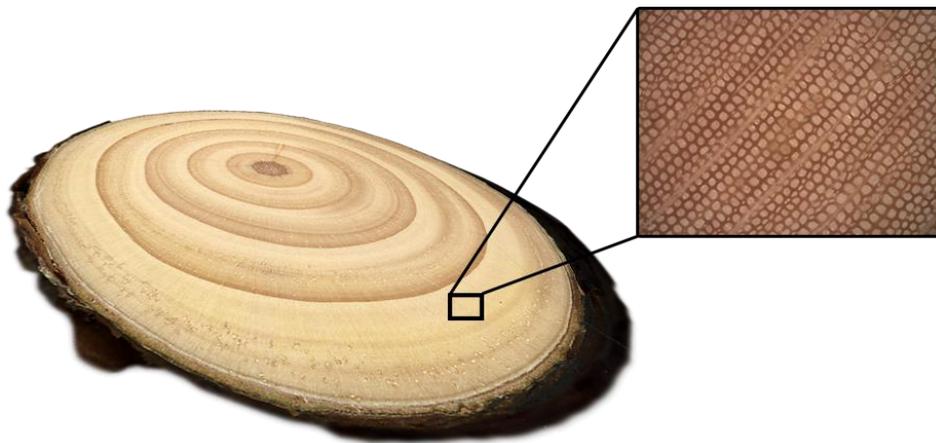
# 1.a. Contexte Biologique



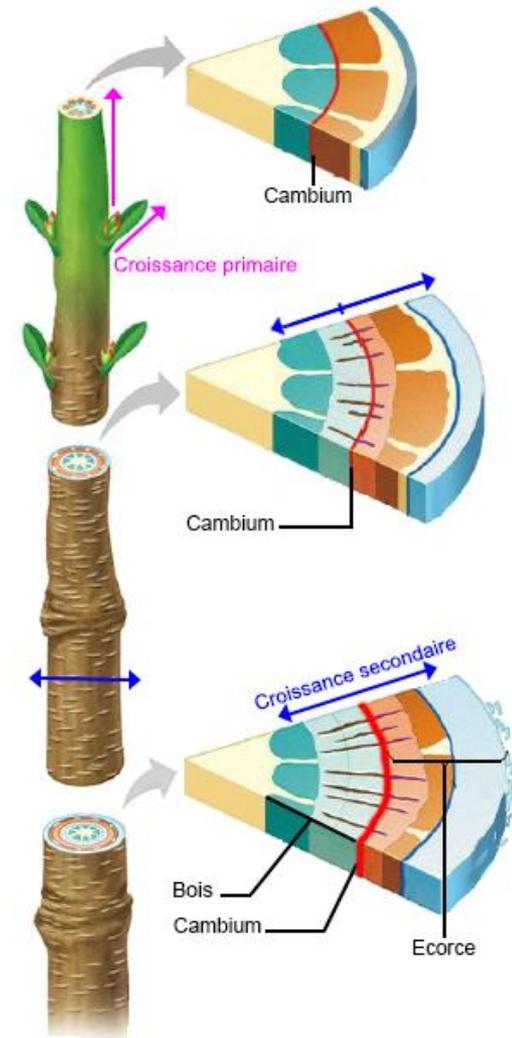
**Objectif** : Comprendre le développement des arbres

- Primaire = allongement / ramification
- **Secondaire** = épaissement

**Plan ligneux** = La disposition des tissus, la forme et la taille des cellules



*Rondelle de Pin (Pinus brutia)*

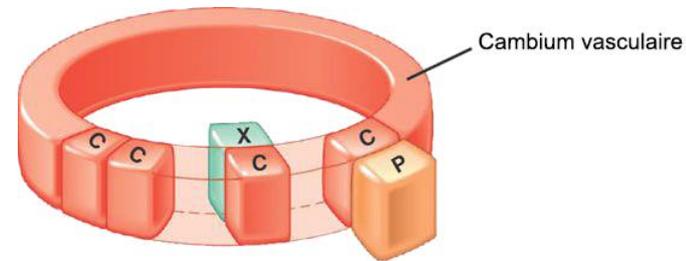
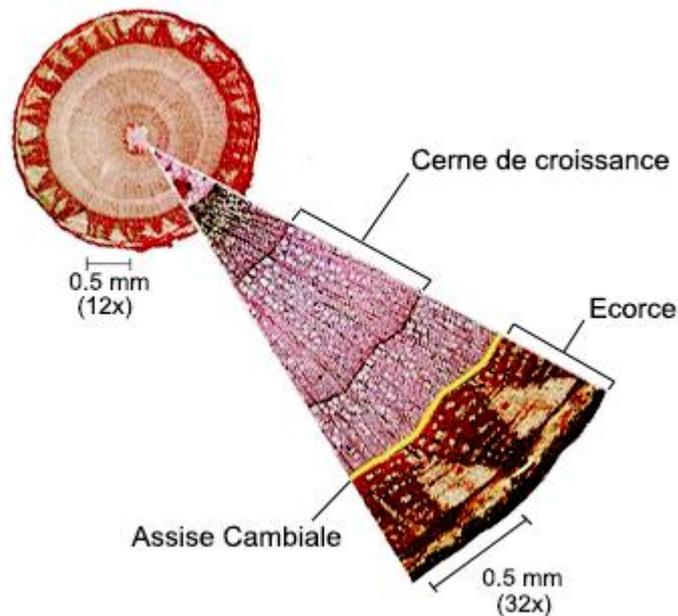


# 1.a. La croissance secondaire

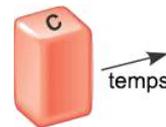


Elle est produite par l'assise cambiale

- Division d'une cellule "mère" (ou initiale) [C]
- Ensemble de cellules filles [X] [P]



X: xylème  
C: cambium  
P: phloème



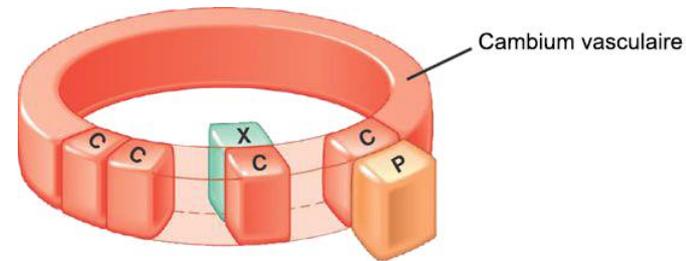
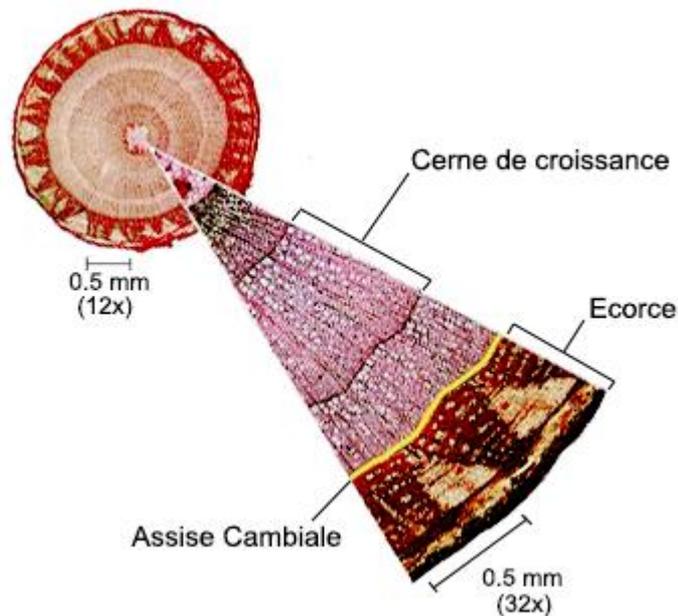
Accumulation des cellules pendant la croissance secondaire

# 1.a. La croissance secondaire

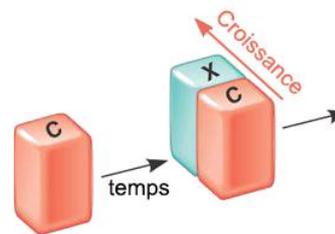


Elle est produite par l'assise cambiale

- Division d'une cellule "mère" (ou initiale) [C]
- Ensemble de cellules filles [X] [P]



X: xylème  
C: cambium  
P: phloème



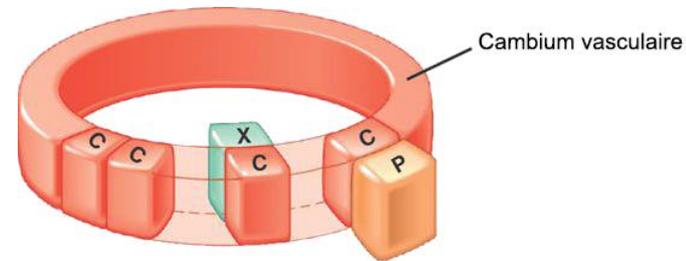
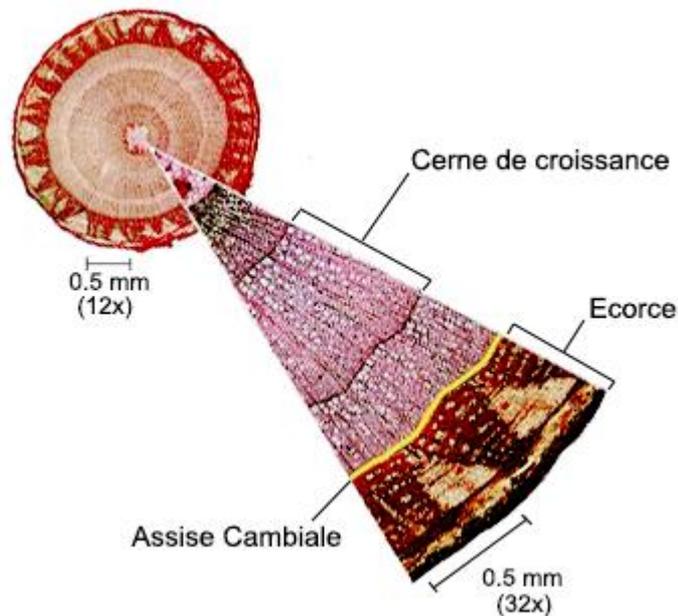
Accumulation des cellules pendant la croissance secondaire

# 1.a. La croissance secondaire

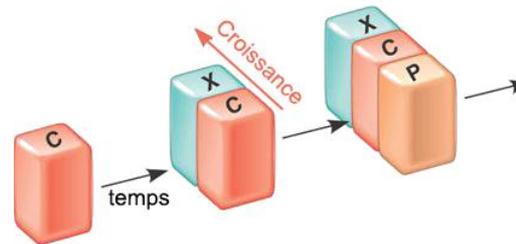


Elle est produite par l'assise cambiale

- Division d'une cellule "mère" (ou initiale) [C]
- Ensemble de cellules filles [X] [P]



X: xylème  
C: cambium  
P: phloème



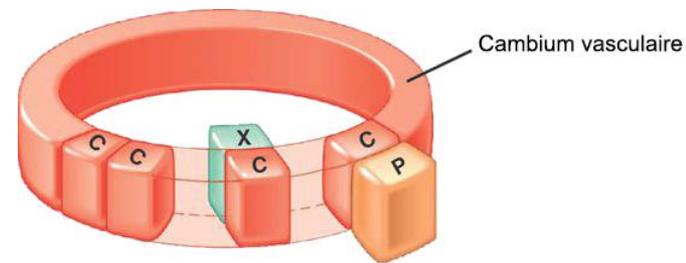
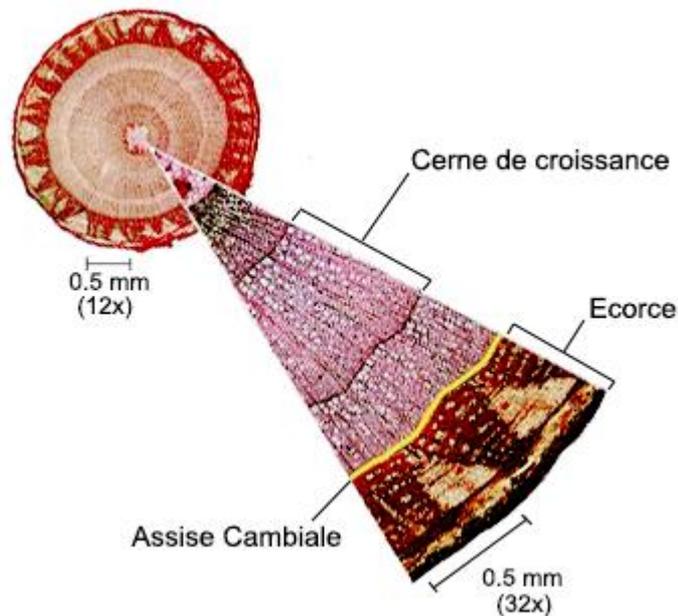
Accumulation des cellules pendant la croissance secondaire

# 1.a. La croissance secondaire

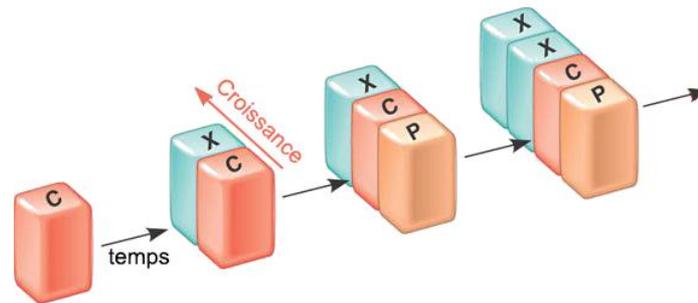


Elle est produite par l'assise cambiale

- Division d'une cellule "mère" (ou initiale) [C]
- Ensemble de cellules filles [X] [P]



X: xylème  
C: cambium  
P: phloème



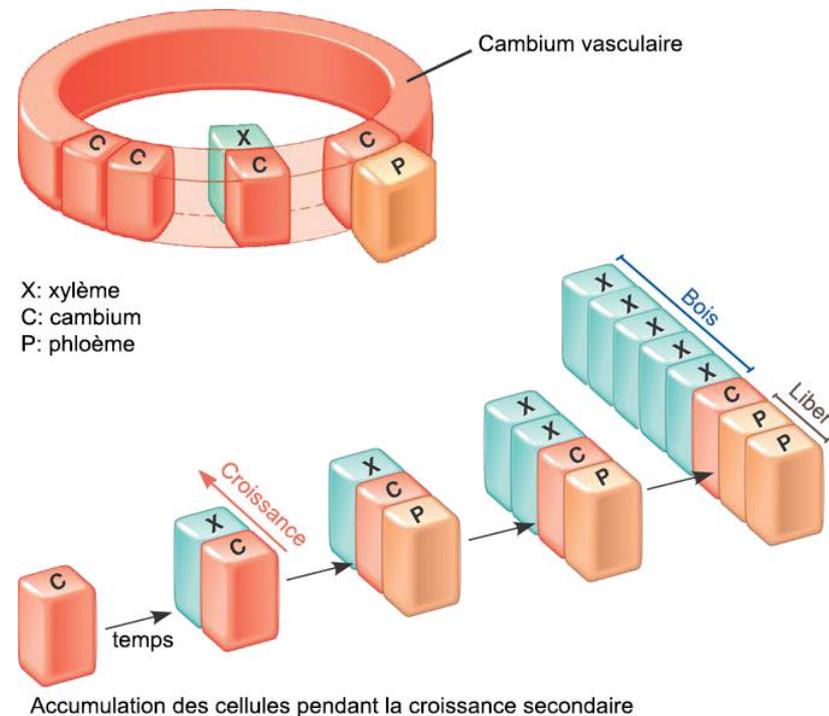
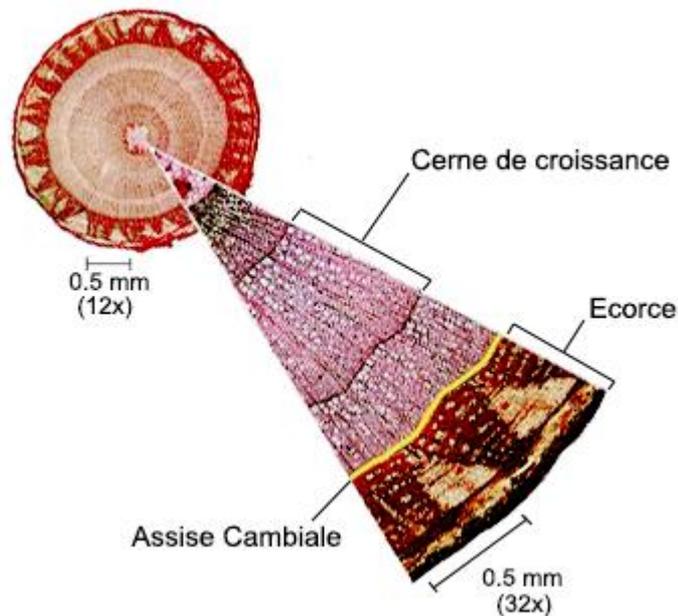
Accumulation des cellules pendant la croissance secondaire

# 1.a. La croissance secondaire



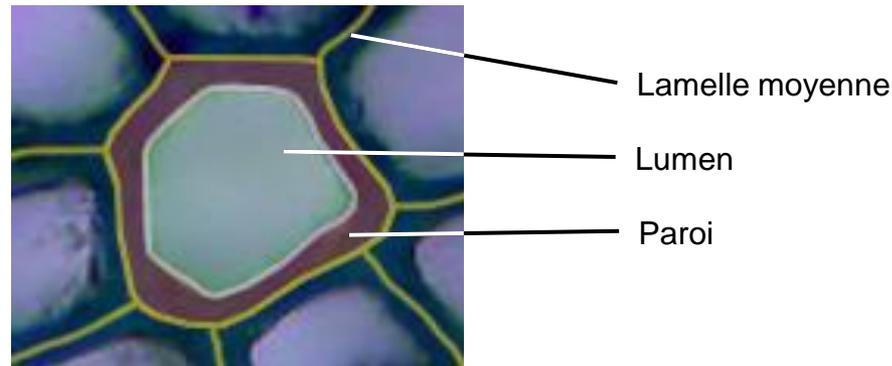
Elle est produite par l'assise cambiale

- Division d'une cellule "mère" (ou initiale) [C]
- Ensemble de cellules filles [X] [P]





- Maturation des cellules (*Lachaud et al. 1999*)
- Typage des cellules (*Lachaud et al. 1999*)



## Intérêt

⇒ Aborder les changements anatomiques des **phases de production** et de **différenciation** du xylème II (*Thibeault-Martel et al. 2008*)

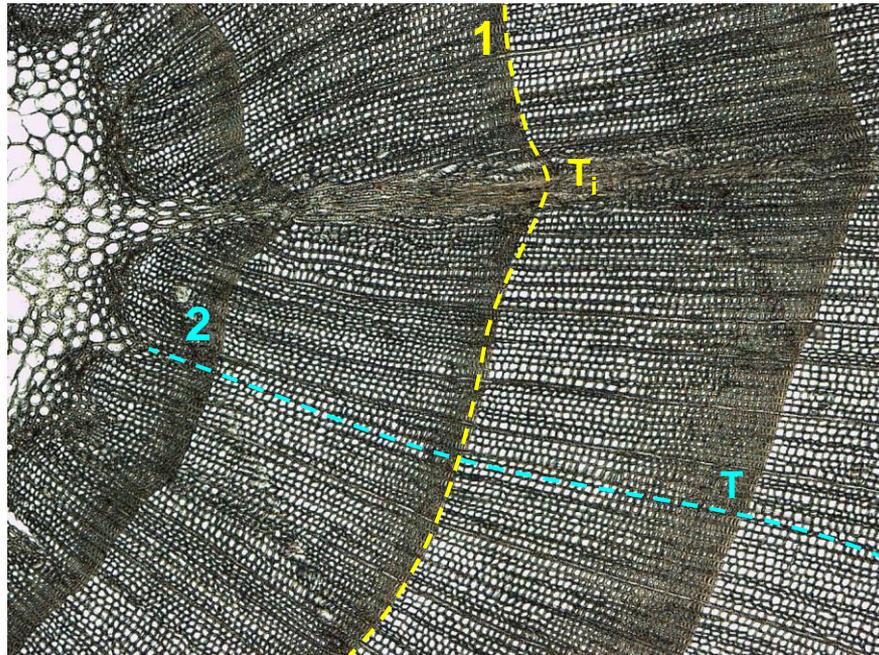
## Limite

⇐ Pour expliquer les **mécanismes** de croissance du bois, il faut étudier la **dynamique de la différenciation** cellulaire



Deux organisations sont à considérer :

- Production cellulaire à un temps donné = Cerne de croissance<sup>1</sup>  
(Heinrich et al. 2007) (Nicolini et al. 2003)
- Activité d'une initiale au cours du temps = File cellulaire<sup>2</sup>  
(Rozenberg et al. 2004)





Activité d'une initiale au cours du temps *(Rozenberg et al. 2004)*

Production cambiale au niveau des initiales *(Rossi et al. 2006)*

*(Rathgeber et al. 2011)*

⇒ Appréhender la mise en place, la différenciation et la rythmicité temporelle des cellules *(Gindl et al. 2001)*

⇐ Peu de publications

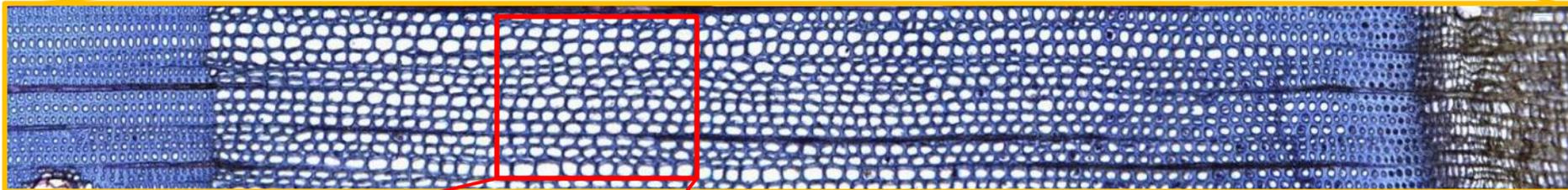
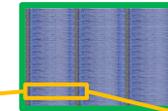
⇐ Probablement lié au coût d'obtention des mesures

# 1.b. Étude des files cellulaires

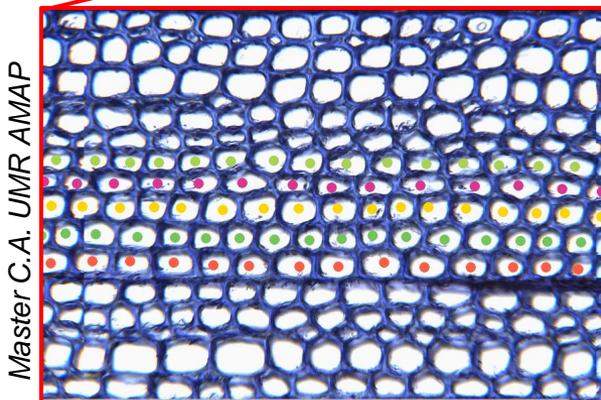


*Exemple : “Réactivation cambiale et dynamique chez Pinus brutia”*

- Grande zone d’observation (1 cm<sup>2</sup>)
- 50 zones d’observation (2,4 mm<sup>2</sup>)
- Numérisation : (mosaïque d’) images



*Mosaïque de 8 images de Pin (Pinus brutia)*



Master C.A. UMR AMAP

*Comptage manuel des cellules par file*



*Automatiser ?*



## Les files cellulaires

⇒ Analyser, comprendre et prédire les mécanismes de croissance du bois :

*Développement,  
Plasticité, Production*



*Génétiques,  
Environnementaux*

⇐ Nécessite de travailler sur des grandes zones d'étude pour capter la variabilité

- **Traitement de masse** (y compris la production images)
- Identification des structures et organisations
- Production de mesures complexes et fiables



## Publications de références

**Jones R, Bischof L. 1996.** *A graph-based segmentation of wood micrographs.* In: Billard L, Fisher NI, eds. *Computing Science and Statistics*, 28. Sydney: Interface Foundation of North America, 12–20.

### **A Graph-Based Segmentation of Wood Micrographs**

Ronald Jones and Leanne Bischof  
CSIRO Division of Mathematics and Statistics  
Locked Bag 17, North Ryde  
NSW 2113, Australia  
Email: Ronald.Jones, Leanne.Bischof@dms.CSIRO.AU

**Kennel P, Subsol G, Guérout M, Borianne P. 2010.** *Automatic identification of cell files in light microscopic images of conifer wood.* 2010 2<sup>nd</sup> International Conference on Image Processing Theory Tools and Applications (IPTA). IEEE, 98–103.

Image Processing Theory, Tools and Applications

### **Automatic Identification of Cell Files in Light Microscopic Images of Conifer Wood**

P. Kennel<sup>1</sup>, G. Subsol<sup>2</sup>, M. Guérout<sup>3</sup> and P. Borianne<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cirad – UMR Amap, Montpellier, F-34000 France  
e-mail: pol.kennel@cirad.fr, philippe.borianne@cirad.fr

<sup>2</sup> LIRMM, CNRS / Université Montpellier 2, France  
e-mail: gerard.subsol@lirmm.fr

<sup>3</sup> Inra – UMR Amap, Montpellier, F-34000 France  
e-mail: Michael.guerout@cirad.fr

# 1.c. Les outils existants



## Spécialisées

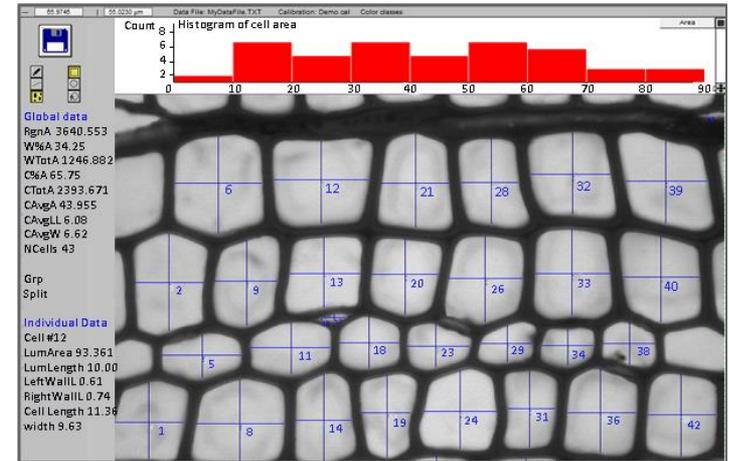
- WinCell (*Hitz et al. 2008*)

## Commerciales

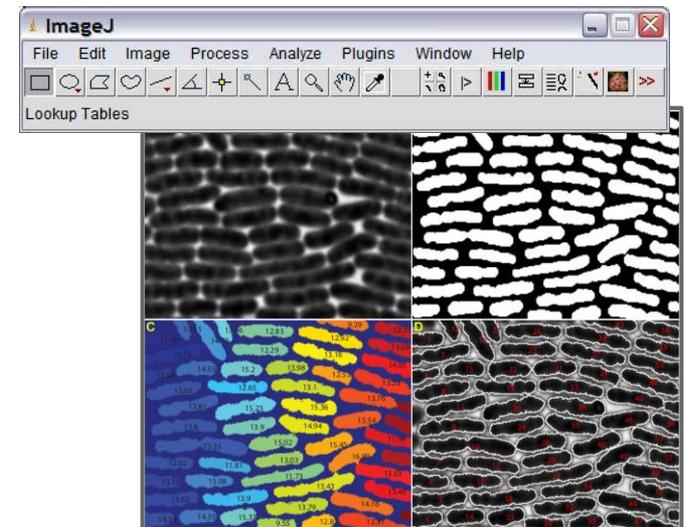
- Visilog (*Travis et al. 1996*)
- Photoshop (*Singh et al. 2003*)

## Open source

- ImageJ (*Clair et al. 2007*)
- Fiji (*Schindelin et al. 2012*)
- Orfera (*Inglada et al. 2009*)



Mesure de cellules - WinCell



Mesure de cellules - ImageJ



Proposer des nouvelles méthodologies d'identification et caractérisation d'organisations cellulaires :

- Quelle préparation et numérisation pour les échantillons ?
- Comment d'identifier les arrangements cellulaires ?
- Comment suivre des arrangements sur de larges zones d'observation ?
- Comment qualifier la fiabilité des méthodes et des résultats ?
- Quelles mesures pour les cellules et les organisations ?

## 2. Acquisition. De nouvelles méthodologies

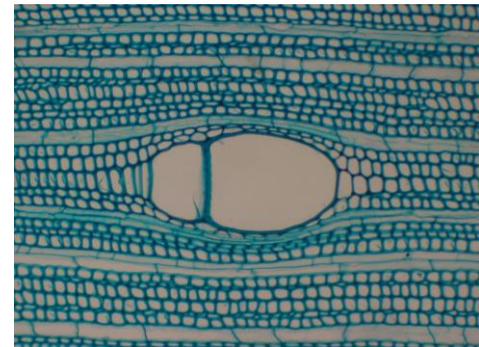


1. Définir les essences de travail
2. Identifier les protocoles des préparations
3. Numériser les images en vue d'un traitement

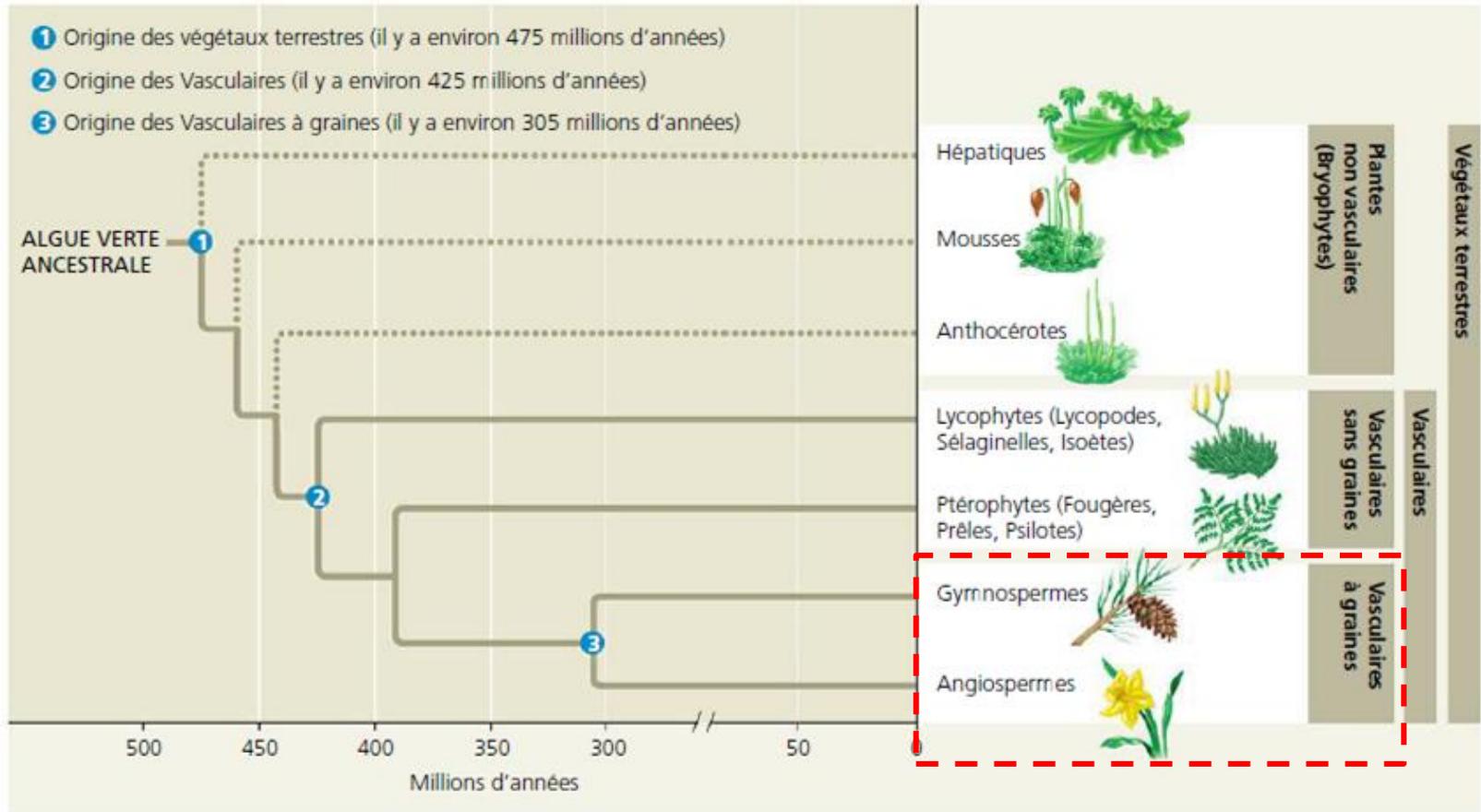


protocoles ?

*De l'arbre aux cellules*



# 2.a. Les essences de travail



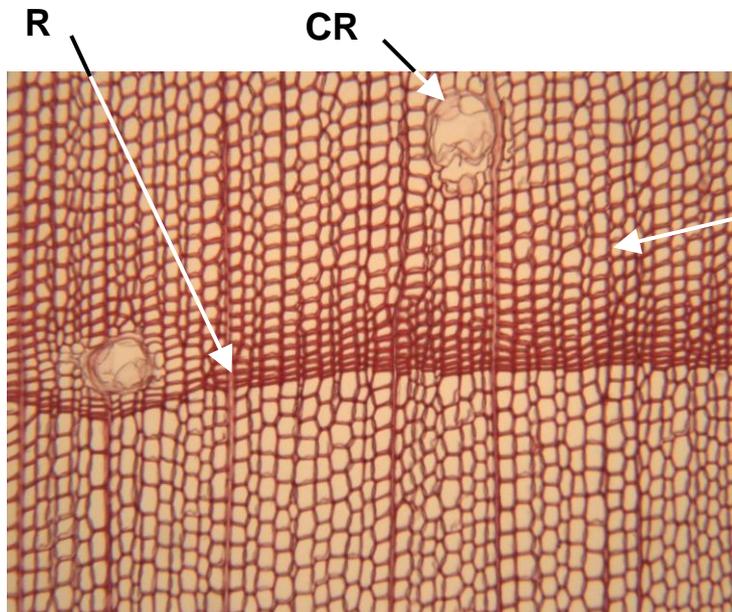
Angiospermes : Acajou (*Pycnanthus sp.*) et Frêne (*Fraxinus angustifolia*)

Gymnospermes : Pin (*Pinus nigra et Pinus brutia*) et Sapin (*Abies alba*)

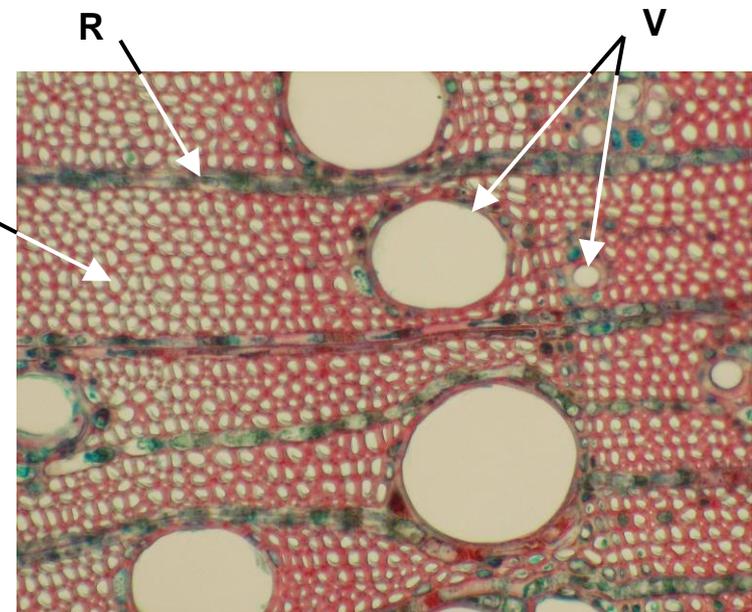
# 2.a. Les cellules du bois



Type	Fonction	Signe	Angiospermes	Gymnospermes
Fibres (~ trachéides)	Soutien, Conduction	F	oui	oui
Rayons	Echange, Stockage	R	oui	oui
Canaux Résinifères	Transport résine	CR	rare	oui
Vaisseaux	Transport sève brute	V	oui	/



Coupe transversale de pin - Gymnosperme



Coupe transversale de frêne - Angiosperme

### **Objectif** : préparer l'échantillon pour la numérisation

- Faire ressortir des éléments fonctionnels
- Augmenter le contraste entre les éléments

### **Pour les files cellulaires :**

- Pouvoir remonter les files sur plusieurs cernes
- Avoir accès à l'intégralité du plan ligneux
- Mosaiquage sans perte d'information

← Besoin d'un protocole pour de grandes zones d'étude

# 2.b. Les coupes histologiques



## Protocole standard *(Roy et al. 2009) (Rathgeber et al. 2011) (Brunel et al. 2012)*

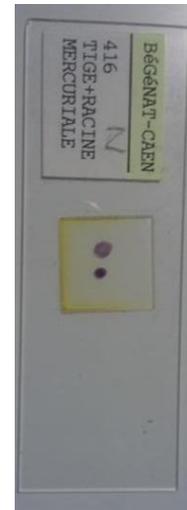
1. Découpe



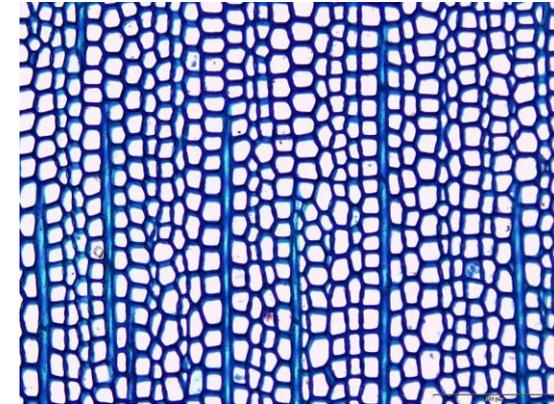
2. Coloration



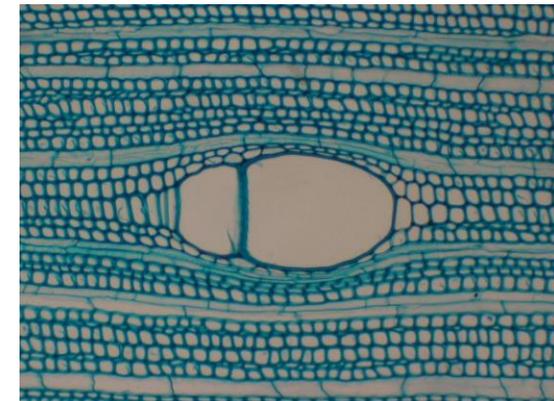
3. Échantillon



4. Acquisition



*Coupe transversale de sapin*



*Coupe transversale d'acajou*

← Pas adapté aux grandes zones d'observation

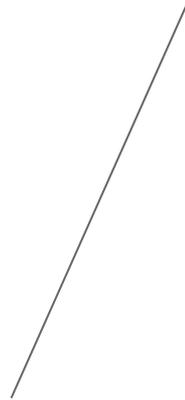
← Flou périphérique

## Nouvelle méthode *(Brunel et al. 2014)*

1. Ponçage



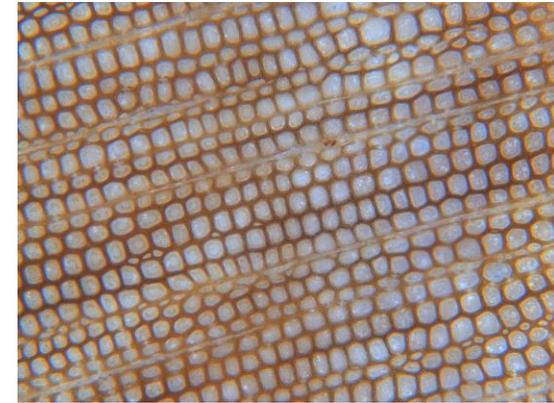
2. Coloration



3. Échantillon



4. Acquisition



*Coupe transversale de pin*



*Coupe transversale de pin*

- ⇒ **Intégralité** du plan
- ⇒ Temps de préparation court

- ⇐ Pas de coloration
- ⇐ Flou local

## Protocole pour la ponceuse

TABLE 1. *Sanded wood discs protocol.*

	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4	Step 5	Step 6
Abrasive type	Sic Foil 320	Sic Foil 500	Sic Foil 800	Sic Foil 1200	Sic paper 4000	MD MOL
Disc rotation (r.p.m.)	150	150	150	150	150	150
Rotating sample holder	150	150	150	150	150	150
Direction of rotation	»»	»»	»»	»»	»»	»»
Vertical force (N)	120	120	120	120	120	120
Duration of step (min)	2	2	2	2	2	5
Liquid lubricant	Water	Water	Water	Water	Water	DP blue
Abrasive product						DP spray P3

### Gestion des :

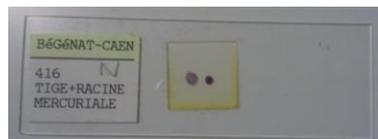
- disque / grain de ponçage
- pression
- ...

⇒ processus automatisé, temps fixe

# 2.b. Protocoles de préparation



Protocole	Taille max.	Temps Préparation	Coloration	Pavage numérique	Recul sur la méthode	Lumen	Éclairage
<b>Histologie</b>	micro carottage	> 5h	oui	/	forte	vide	diascopique
<b>Poncé</b>	plan ligneux	≈ 10min	/	oui	faible	plein	épiscopique



*Vibratome et lame (colorée)*

*Ponceuse et rondelle*

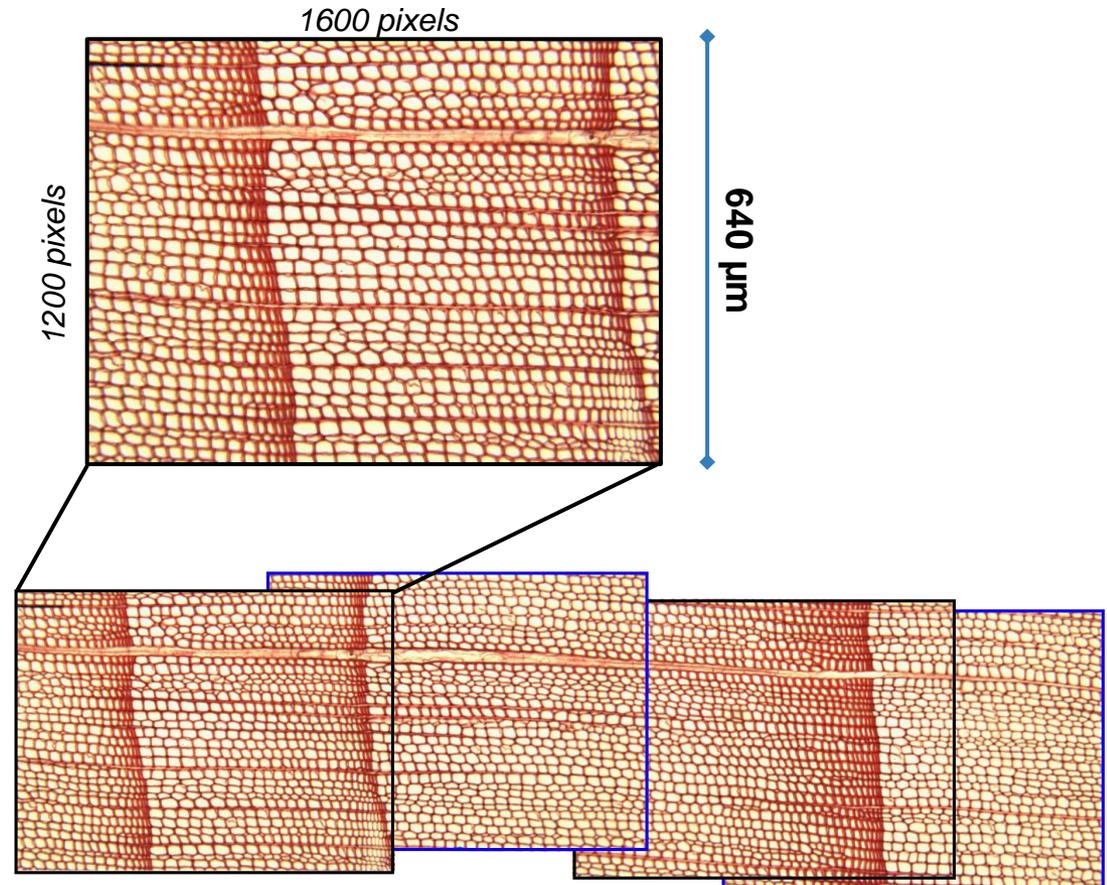
## 2.b. La numérisation



- ➔ Acquisition intégrale du plan ligneux
- **Coordonnées** des images dans la mosaïque
- Rondelle de 10 cm = 1500 images



*Microscope équipé d'une platine d'acquisition*



*Mosaïque de 4 images de Pin*



## a. **Segmentation des cellules**

- Prétraitement de l'image
- Individualisation des cellules

## b. **Modélisation des organisations cellulaires**

- Modélisation topologique
- Détection de l'orientation
- Création des files cellulaires

## c. **Fusion des données**

- Mosaïque des données

## d. **Fiabilité et mesures**

- Fiabilité des méthodes
- Mesures biologiques



**Objectif:** Individualiser les éléments structurants

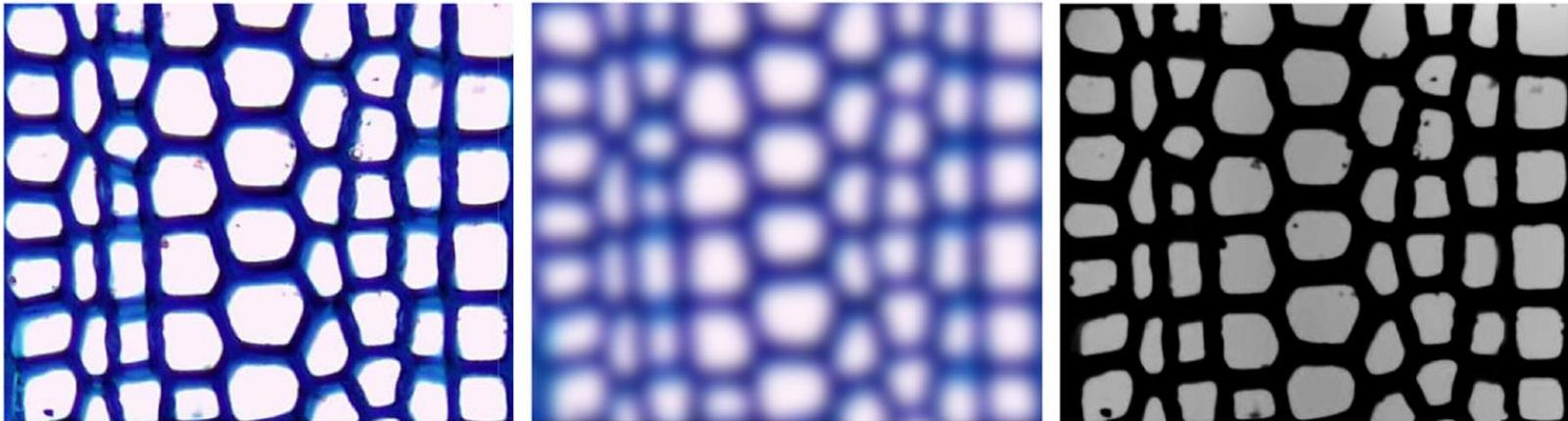
1. Quels filtres utilisés pour nettoyer l'image ?
2. Quel algorithme pour segmenter les cellules ?
3. Quelle est l'influence du flou sur ces méthodes ?



## ➔ Préparer l'image pour la segmentation

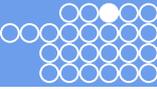
- Application de filtres standards
- Calibrage automatique des filtres

**Chaîne** : médian (*Huang et al. 1979*), différence de Gaussiennes (*Haddad et al. 1991*), 8 bits (*Busin et al. 2009*)



*Brunel et al. SCIA 2013*

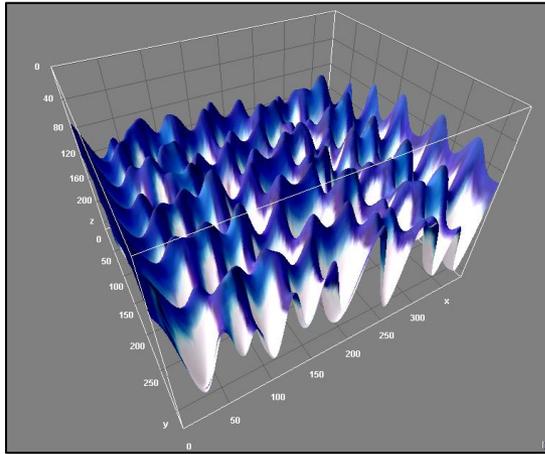
# 3.a. Segmentation - Le watershed



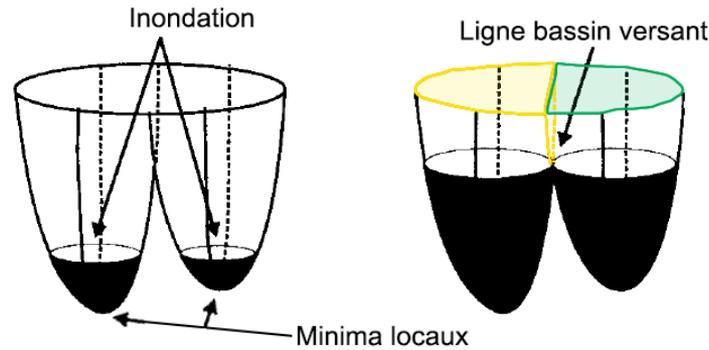
## ➔ Segmenter les cellules sous contrainte

- contours au niveau de la lamelle moyenne
- contours fermés

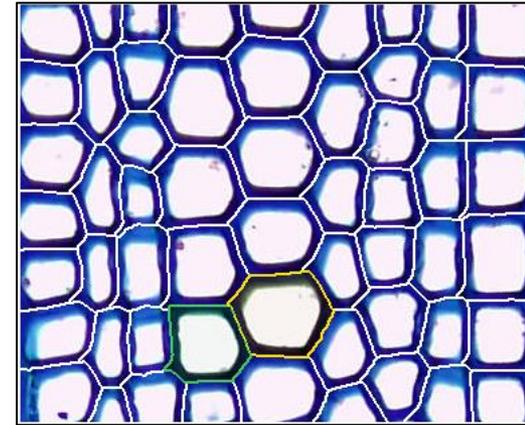
➔ Algorithme du **Watershed** (*Vincent and Soille 1991*) (*Najman et al. 1994*) (*Marcuzzo et al. 2009*)



Vue en 3D de la coupe de sapin



Watershed par inondation

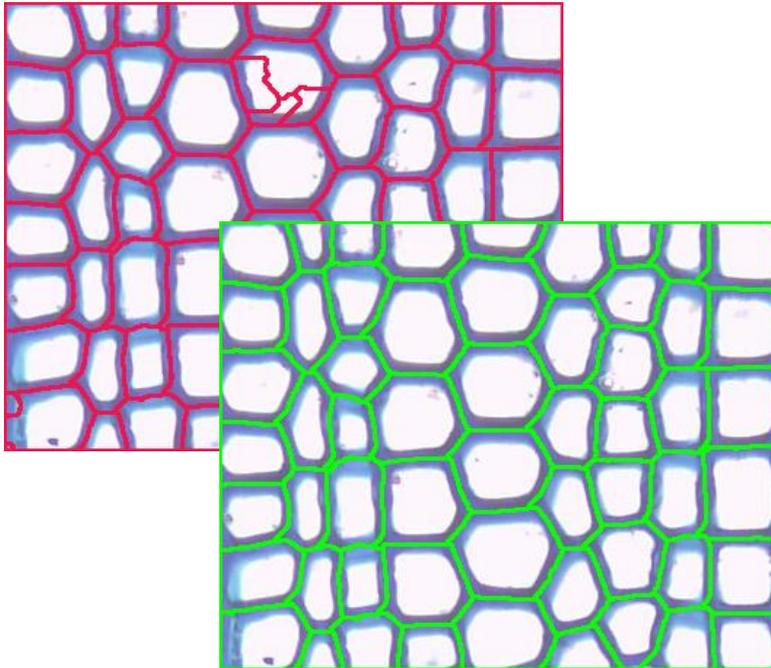


Les cellules sont entourées par les lignes de bassins versants

Principe de fonctionnement de l'algorithme du Watershed



- ➔ Supprimer les lignes surnuméraires
  - Étude du profil des lignes (*Brunel et al. PMA 2012*)

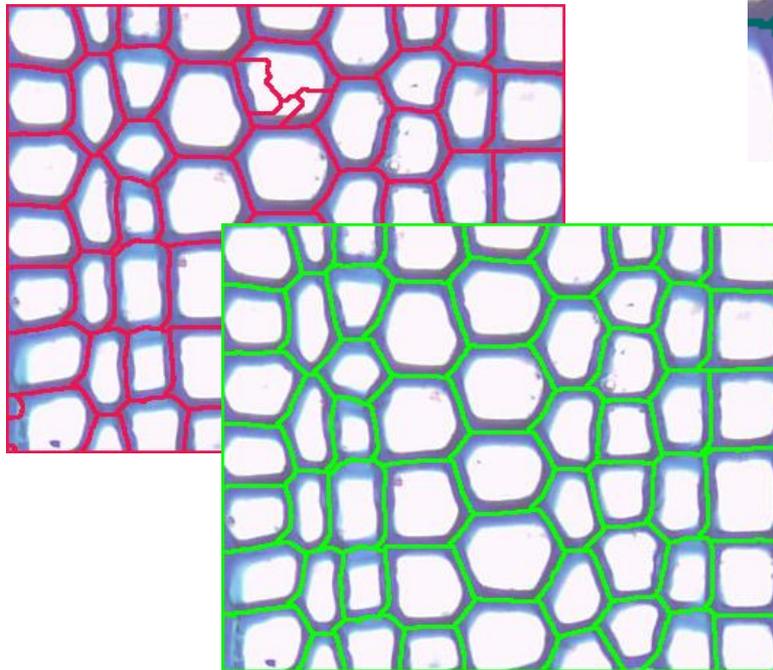


Suppression des lignes surnuméraires

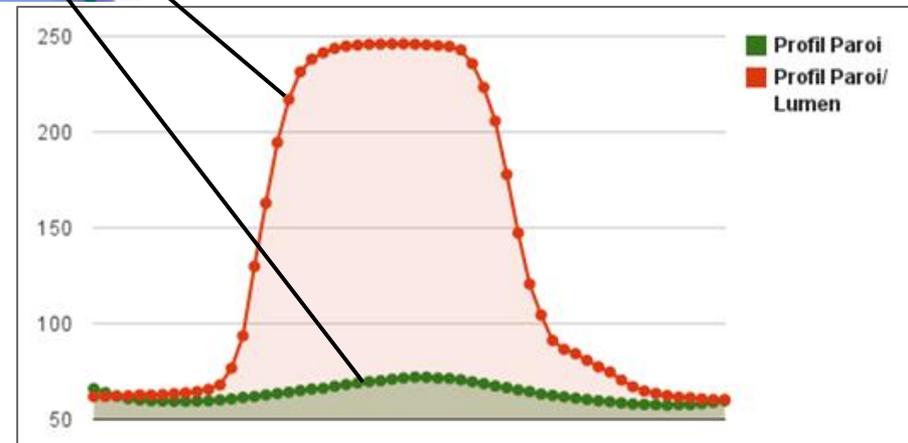
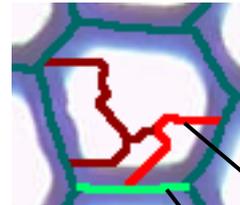


## ➔ Supprimer les lignes surnuméraires

- Étude du profil des lignes (*Brunel et al. PMA 2012*)



Suppression des lignes surnuméraires

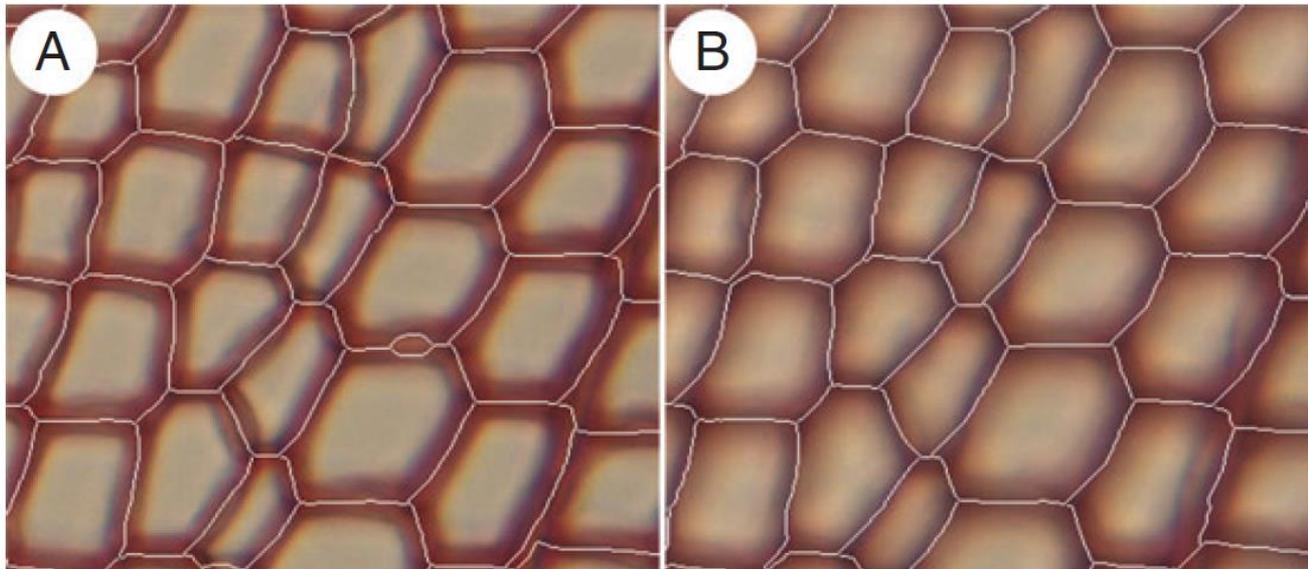


Étude du profil de deux d'arêtes

⇐ *Utilisation de variante du watershed* (*Beucher et al. 2009, 2012*)



- ➔ Vérifier l'influence du flou sur le traitement
  - Au niveau des lignes de crête (*Gupta et al. 2013*)



*Lignes de crête sur une image nette (A) et une image optiquement floutée (B)*

➔ Watershed : stable au flou de l'image



## a. **Segmentation des cellules**

- Prétraitement de l'image
- Individualisation des cellules

## b. **Modélisation des organisations cellulaires**

- Modélisation topologique
- Détection de l'orientation
- Création des files cellulaires

## c. **Fusion des données**

- Mosaïque des données

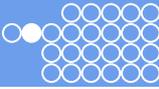
## d. **Fiabilité et mesures**

- Fiabilité des méthodes
- Mesures biologiques



### **Objectif:** Détecter des arrangements

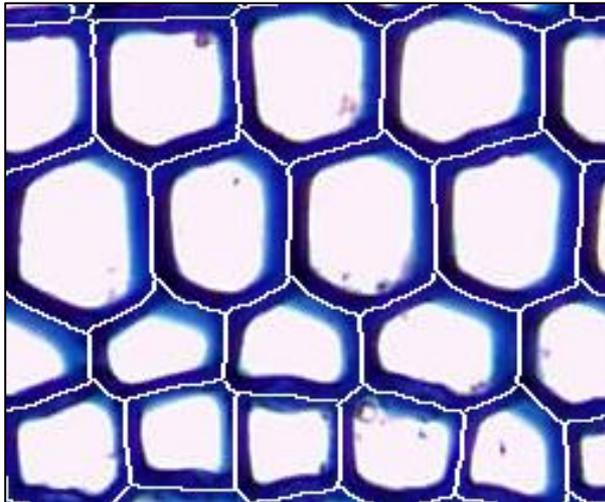
1. Connaître les relations topologiques entre éléments
2. Respecter des contraintes d'orientation
3. Indépendant du sens de parcours et de l'image



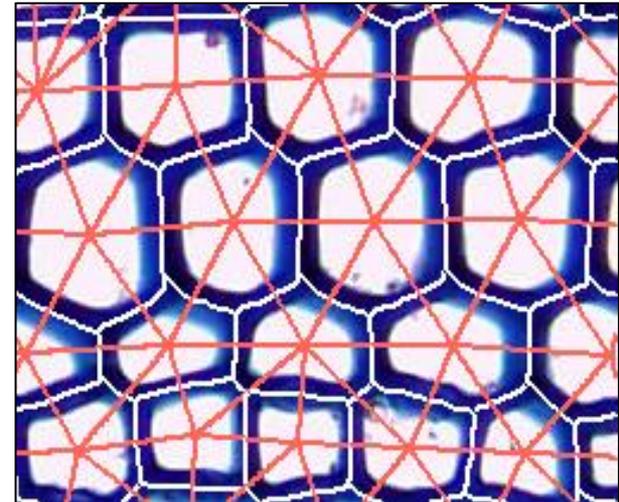
## ➔ Modéliser le voisinage des cellules

**Graphe d'adjacence** des cellules (*Lézoray et al. 2012*) (*Brunel et al. 2012*)

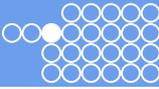
- Graphe = *Ensemble de noeuds et d'arêtes*
- Noeud = *Centroïde des bassins*
- Arête = *Adjacence entre 2 bassins*



*Passage au graphe  
d'adjacence*

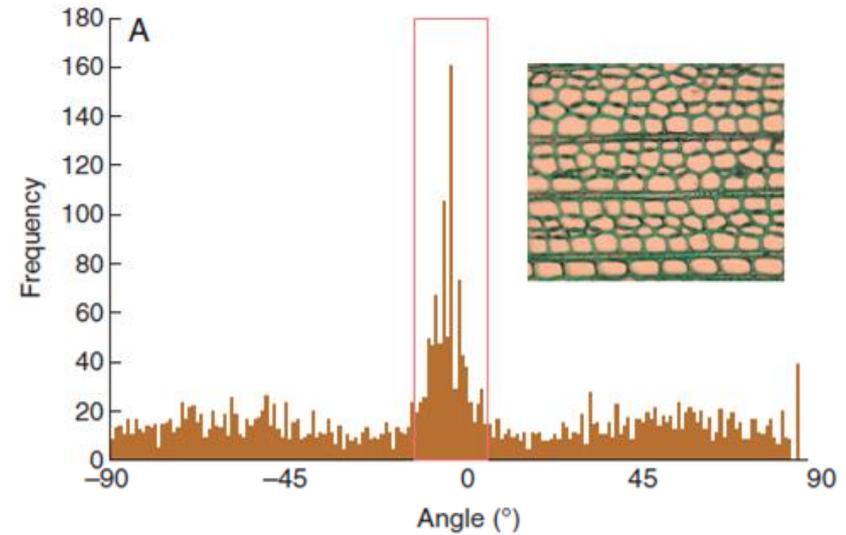
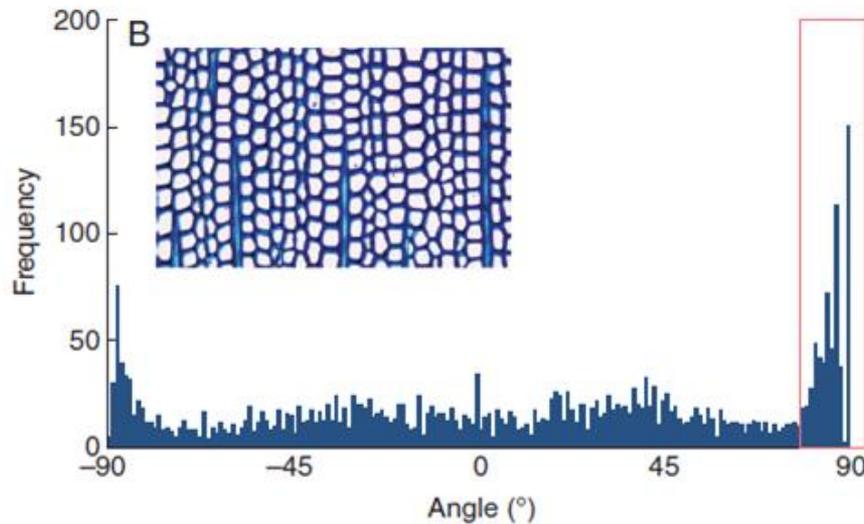
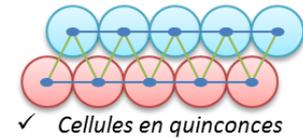


# 3.b. Orientation des arrangements



## ➔ Détecter l'orientation des files cellulaires

- Cellules en quinconce
- File cellulaire = **rectiligne**
- Étude des arêtes du graphe (*Jones et al. 1996*)

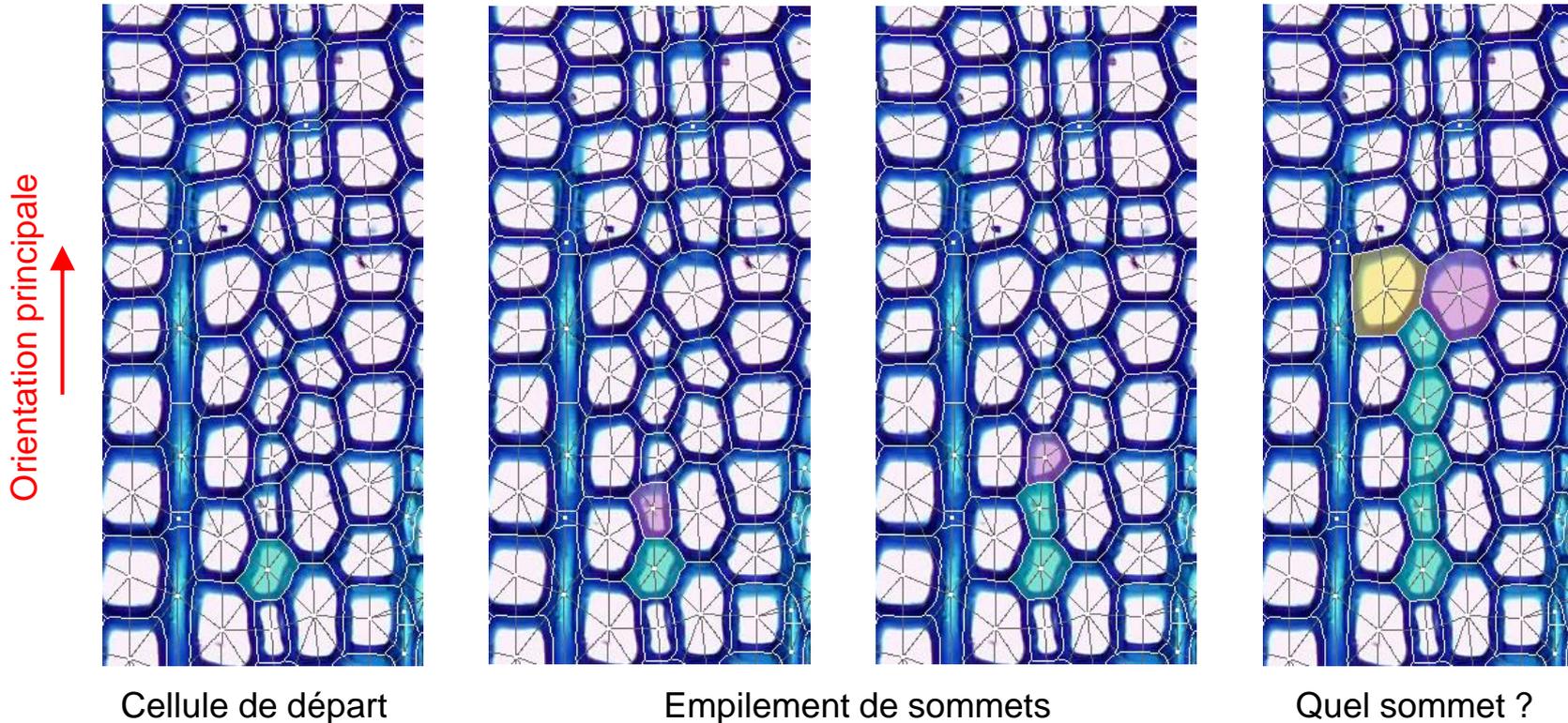


Histogrammes des arêtes du graphe d'adjacence



## ➔ Construire les files cellulaires

- Parcours du graphe sous contrainte **spatio-morphologique**
- Recherche de sommets voisins

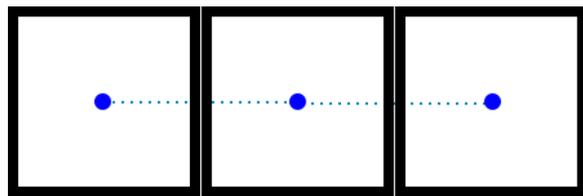
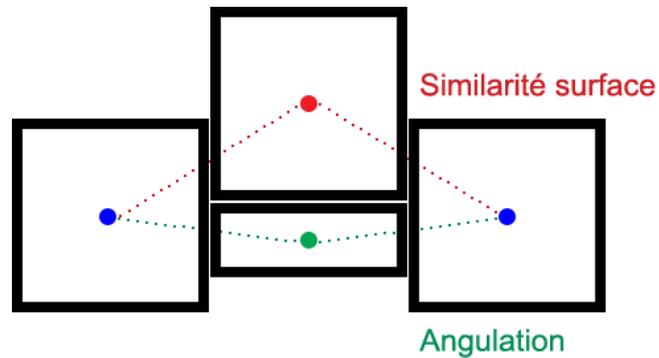




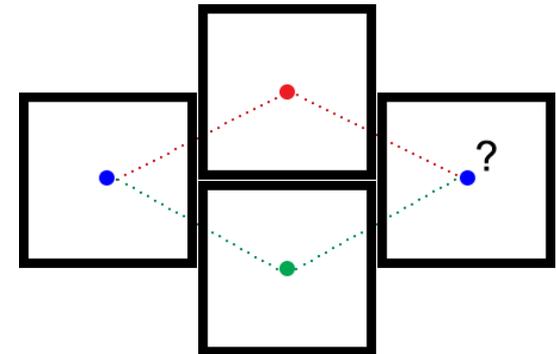
➔ Quel sommet choisir ?

Choix de la cellule sous double contrainte :

- **Angulaire (45°)**
- **Morphologique (Similarité)**



*Choix unique*

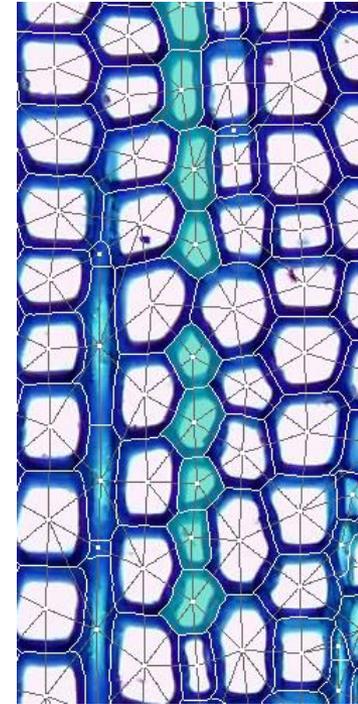
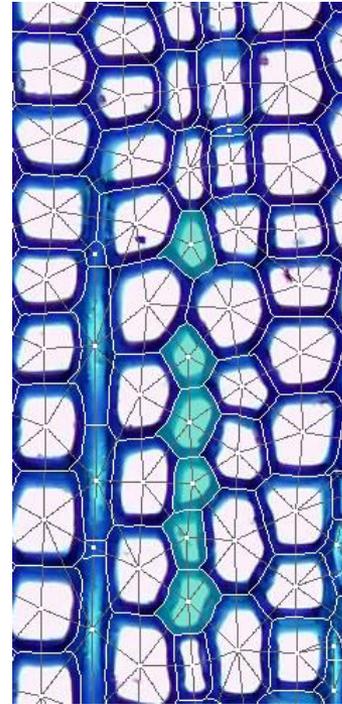
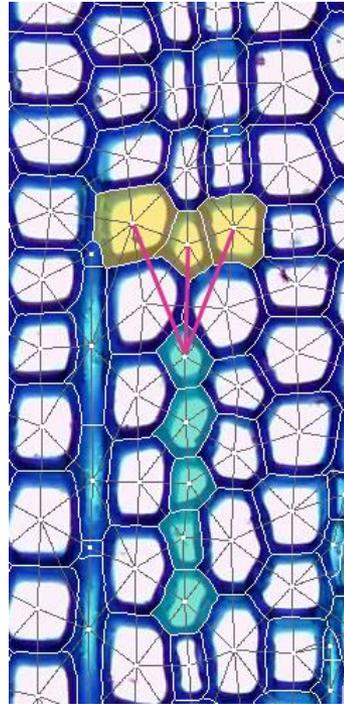
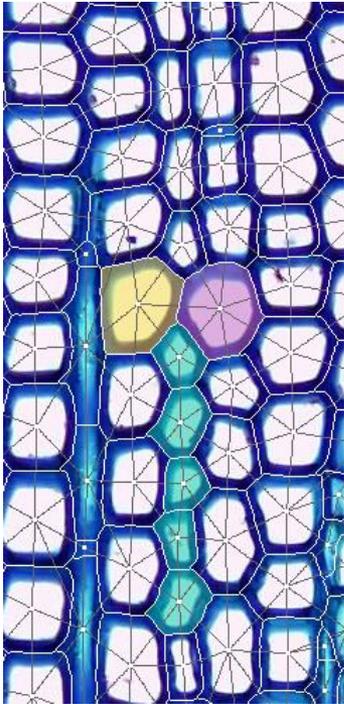


*Indétermination*



➔ Recherche dans un voisinage étendu

Orientation principale  
↑



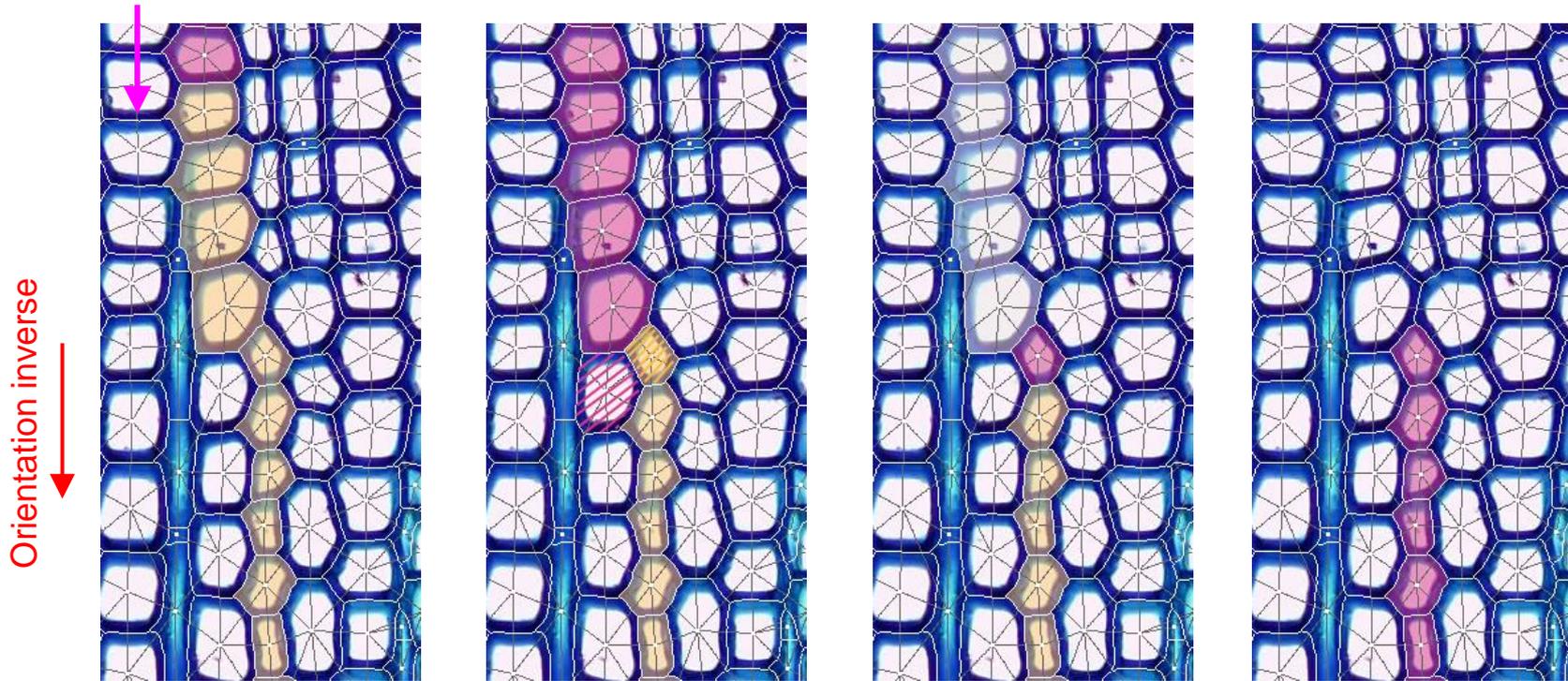
Définition de nouveaux voisins

Itération du processus



## Le rétrocontrôle

- Validation des files construites



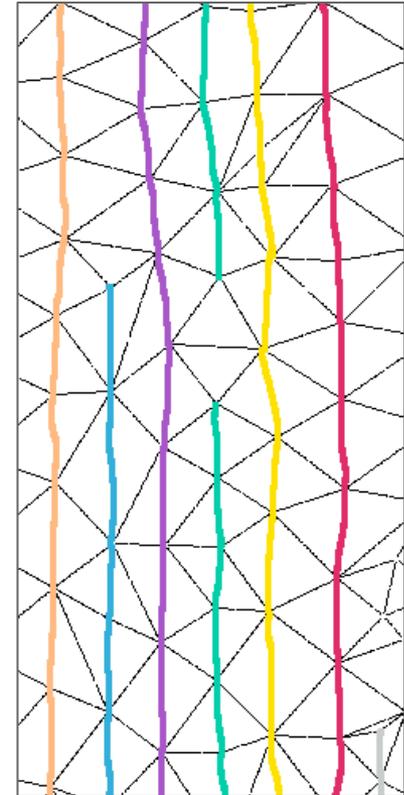
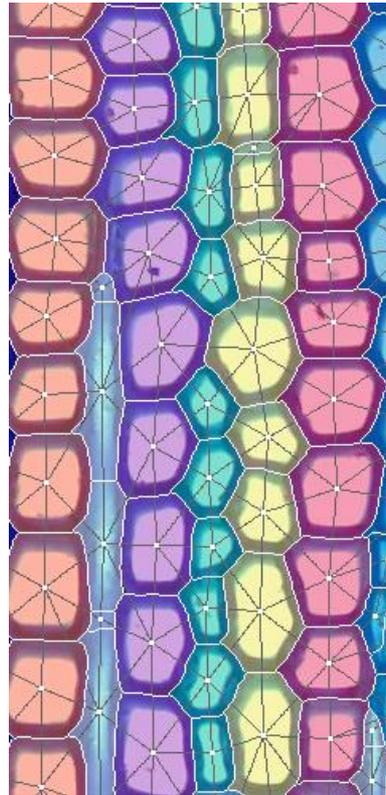
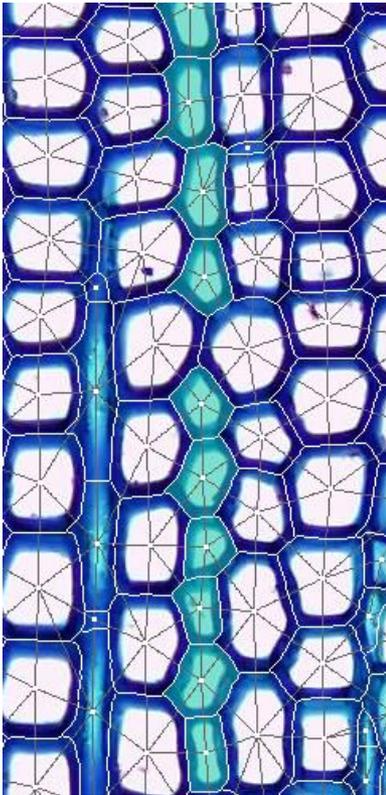
Parcours inverse

Suppression des cellules de la file

File cellulaire



Initialisation aléatoire du traitement  
Gestion des chevauchements  
⇒ Création des **files cellulaires**





## a. **Segmentation des cellules**

- Prétraitement de l'image
- Individualisation des cellules

## b. **Modélisation des organisations cellulaires**

- Modélisation topologique
- Détection de l'orientation
- Création des files cellulaires

## c. **Fusion des données**

- Mosaïque des données

## d. **Fiabilité et mesures**

- Fiabilité des méthodes
- Mesures biologiques

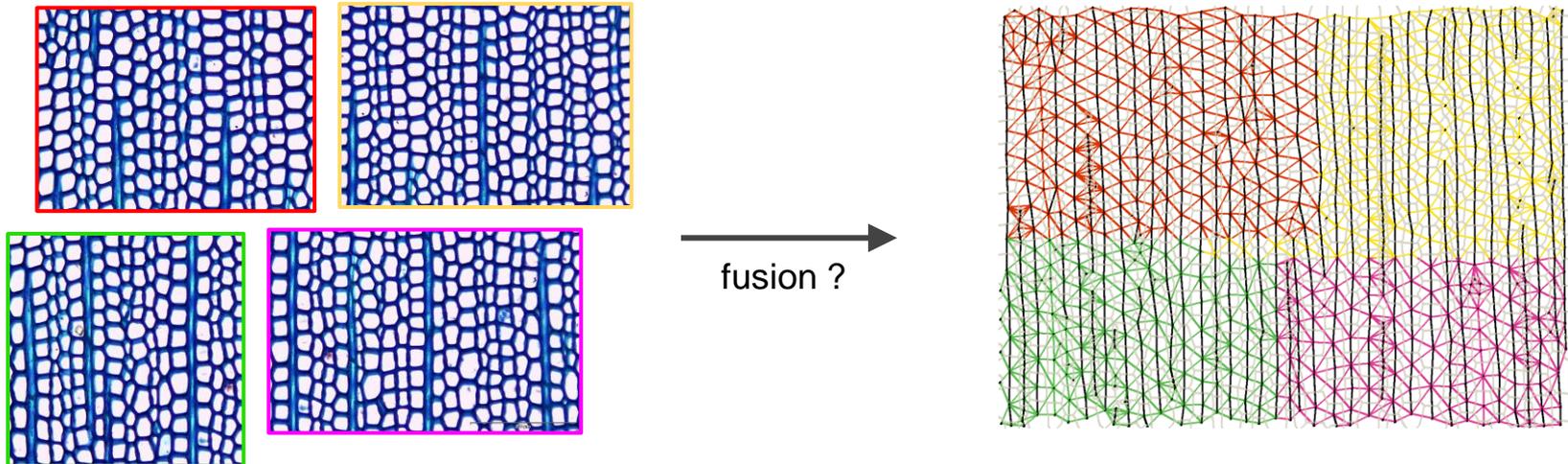


**Objectif** : Rechercher les structures sur l'intégralité du plan ligneux

⇒ Assembler les images - **Stitching** (*Brown et al. 2007*)

- Correction radiométrique et géométrique (*Vercauteren et al. 2006*) (*Clienti et al. 2010*)
- Image THR. Rondelle de 10 cm cad 2,4 M x 1,8 M pixels (2,5 Go)

⇒ Assembler les modèles (*Wyant et al. 1998*) (*Sjö Dahl et al. 2002*)

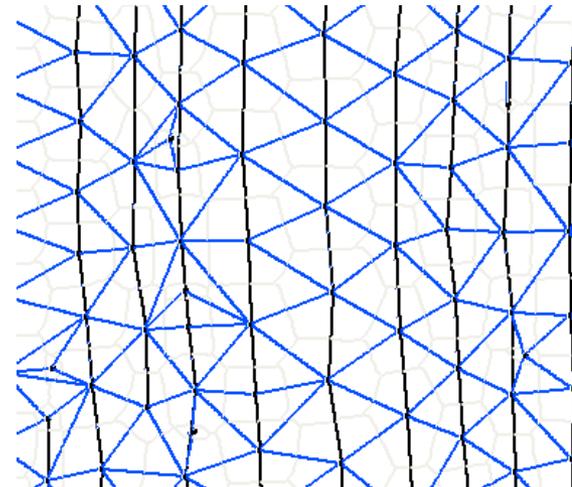
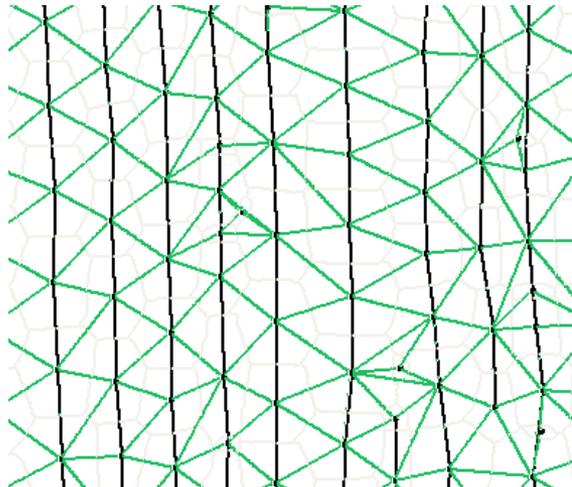




## Rappel : Images modélisées par des graphes

- Noeuds = cellules
- Arêtes = relation de voisinage
- Ensemble de noeuds et arêtes = **arrangements cellulaires**

⇒ Fusionner les graphes

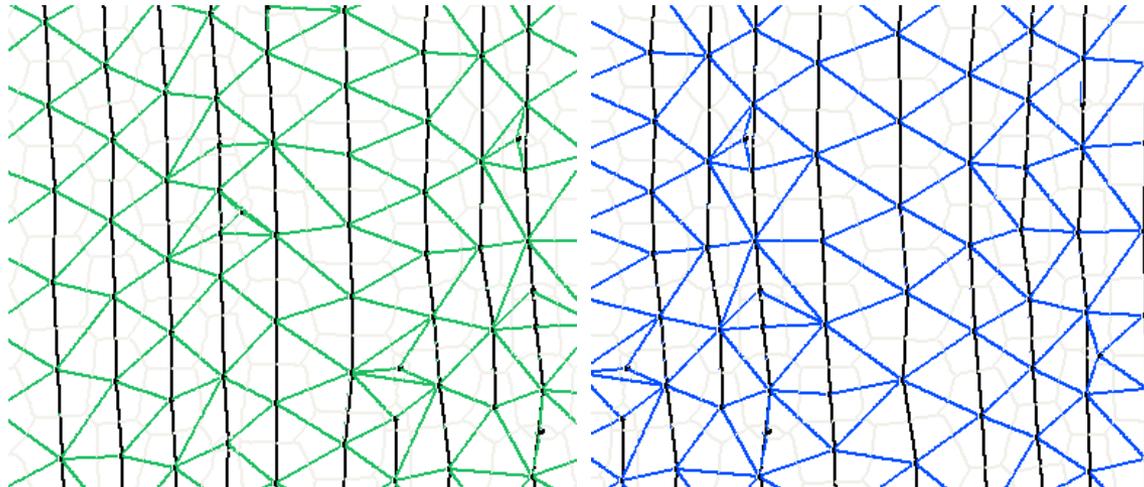




## Rappel : Images modélisées par des graphes

- Noeuds = cellules
- Arêtes = relation de voisinage
- Ensemble de noeuds et arêtes = **arrangements cellulaires**

⇒ Fusionner les graphes

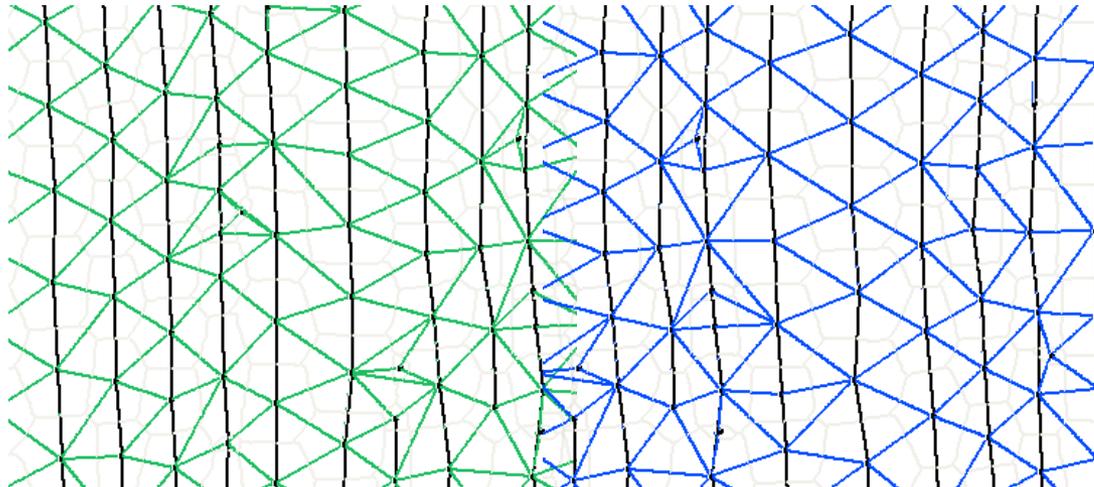


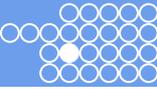


## Rappel : Images modélisées par des graphes

- Noeuds = cellules
- Arêtes = relation de voisinage
- Ensemble de noeuds et arêtes = **arrangements cellulaires**

⇒ Fusionner les graphes

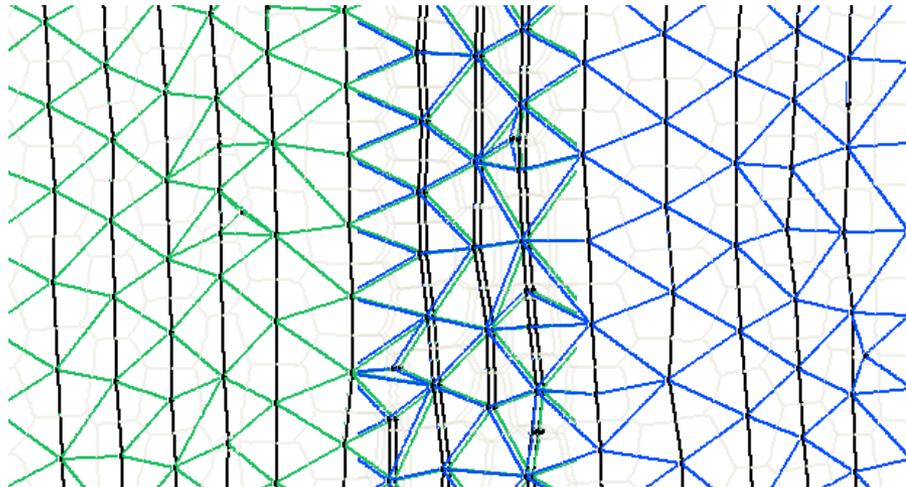


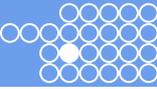


## Rappel : Images modélisées par des graphes

- Noeuds = cellules
- Arêtes = relation de voisinage
- Ensemble de noeuds et arêtes = **arrangements cellulaires**

⇒ Fusionner les graphes

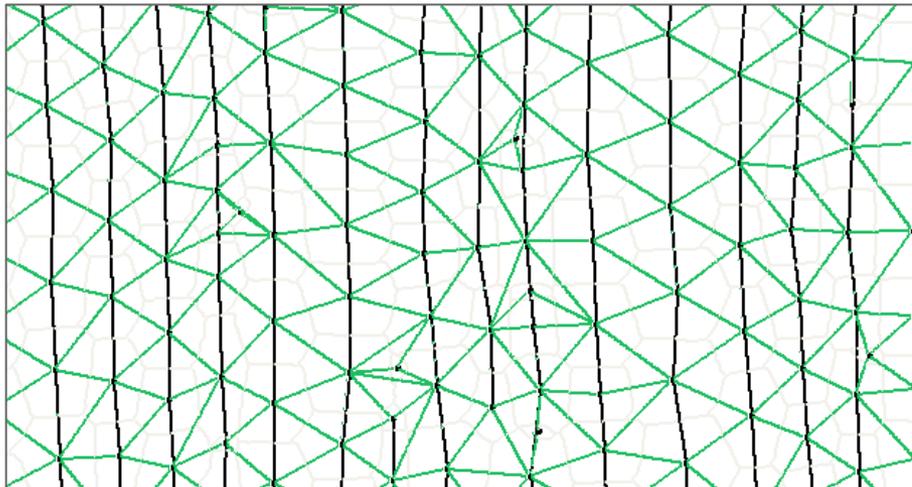




## Rappel : Images modélisées par des graphes

- Noeuds = cellules
- Arêtes = relation de voisinage
- Ensemble de noeuds et arêtes = **arrangements cellulaires**

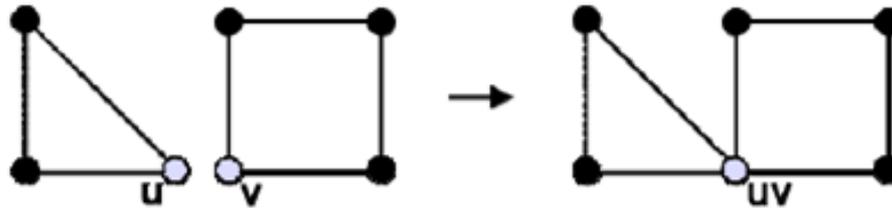
⇒ Fusionner les graphes





## ➔ Fusion de graphe simple *(Trudeau et al. 1993)*

- Fusion des sommets



- Fusion des arêtes

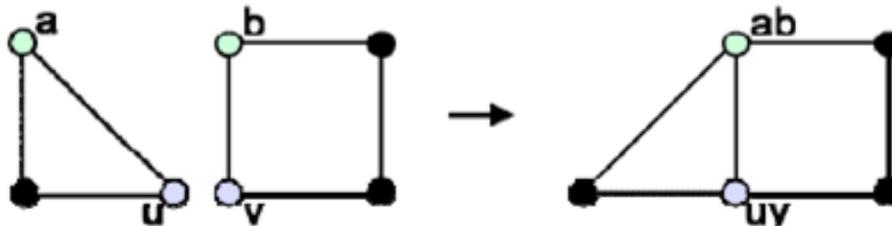


Schéma de fusion de deux graphes



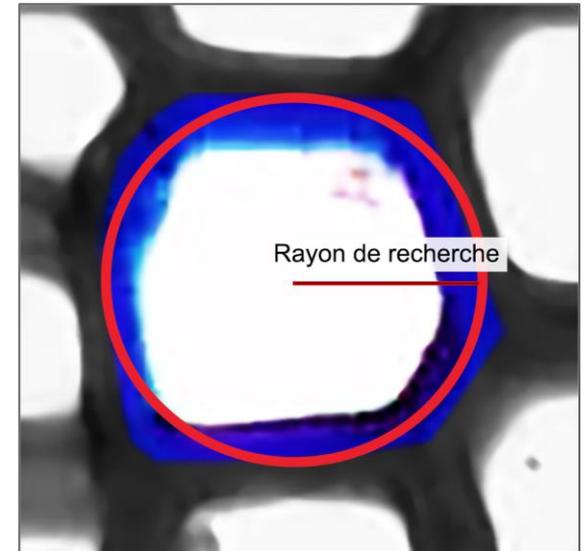
➔ Comment choisir le couple de sommets à fusionner ?

Par maximisation d'une fonction de similarité  $sim_{u,v}$

- Similarité des centroïdes des bassins
- Similarité des surfaces des cellules

$$Sim_{u,v} \begin{cases} 0 \text{ si } |u, v| > \min(r_u, r_v) \\ \text{sinon } \left(1 - \frac{|x_u - x_v|}{x_u + x_v}\right) \left(1 - \frac{|y_u - y_v|}{y_u + y_v}\right) \left(1 - \frac{|S_u - S_v|}{S_u + S_v}\right) \end{cases}$$

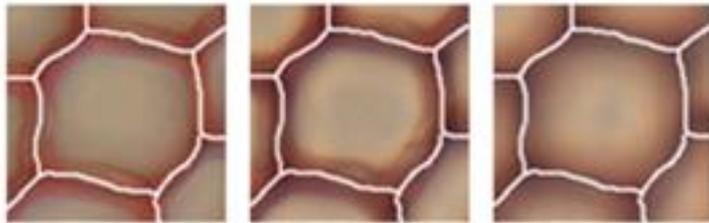
Position des centroïdes                      Surface





## ➔ La fusion est robuste au flou

- La topologie du graphe est robuste
- Les paramètres portés par le graphe sont robustes



Détection des lignes de crêtes sur différents  
niveau de flou

- L'algorithme du watershed est **stable au flou optique**

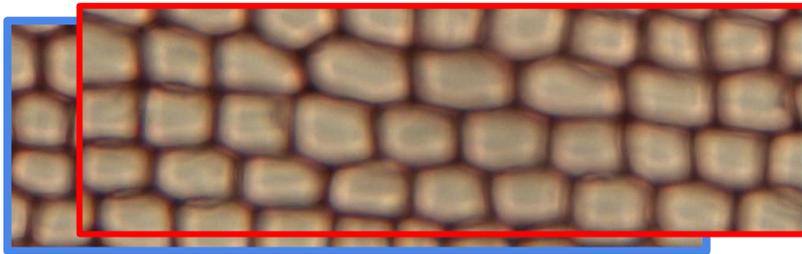
## ➔ Choix du sommet à conserver lors de la fusion

- Indice de quantification de flou local (*Ladjal et al. 2006*)

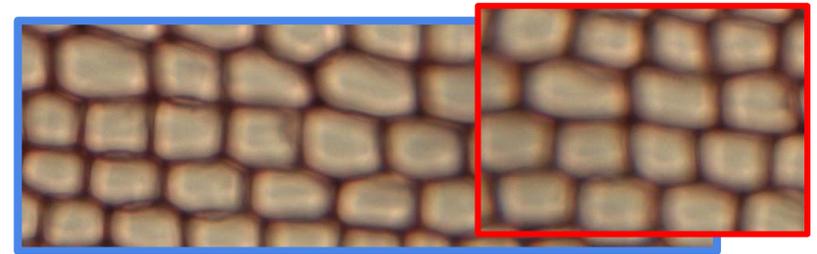
$$\mathfrak{S}(p) = \frac{\max_{x \in \mathbb{R}} p(x) - \min_{x \in \mathbb{R}} p(x)}{\max_{x \in \mathbb{R}} |p'(x)|} = \frac{\text{amplitude}(I)}{\max(|\nabla I|)}$$



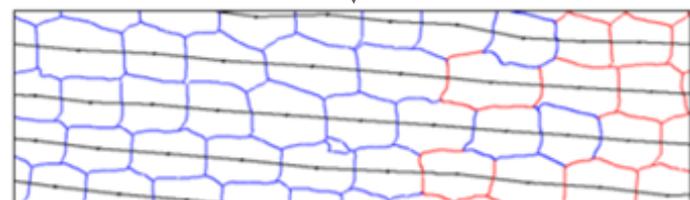
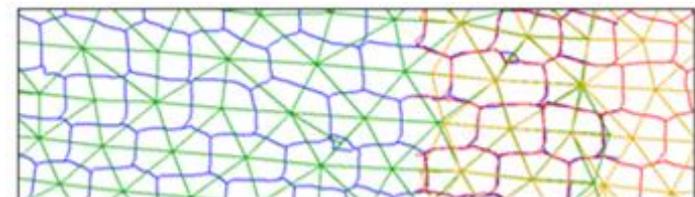
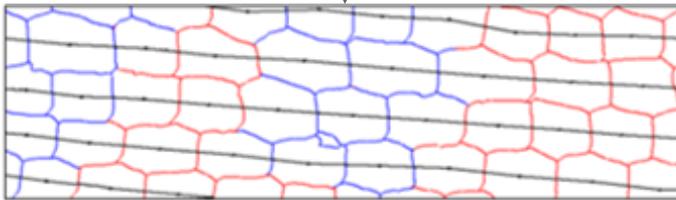
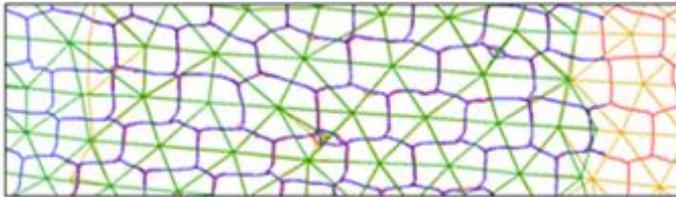
## ➔ Gestion du chevauchement des images



*Chevauchement fort*



*Chevauchement faible*



➔ **Topologie des files identique** mais choix des cellules différents



## a. **Segmentation des cellules**

- Prétraitement de l'image
- Individualisation des cellules

## b. **Modélisation des organisations cellulaires**

- Modélisation topologique
- Détection de l'orientation
- Création des files cellulaires

## c. **Fusion des données**

- Mosaïque des données

## d. **Fiabilité et mesures**

- Fiabilité des méthodes
- Mesures biologiques



**Objectif** : Qualifier les processus de construction et les outils de mesure

**Objectif** : Produire des mesures exploitables

1. Globale : file cellulaire (longueur)
2. Élément : cellule (surface, circularité...)
3. Composant : surface lumen, épaisseur paroi

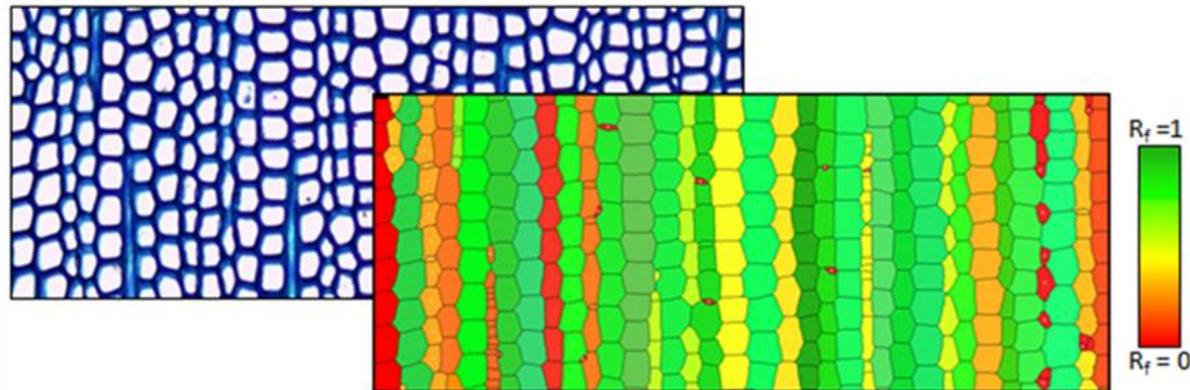
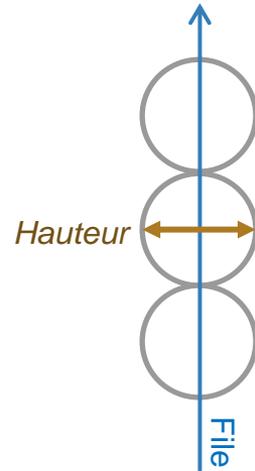


## ➔ Qualifier les files cellulaires

- Longueur de la file
- Continuité de la hauteur des cellules

$$R_f = \underbrace{\left(1 - \max\left(\frac{L - L_f}{L}, 0\right)\right)}_{\text{Longueur}} \underbrace{\prod_{j=0}^{n-1} \left(1 - \frac{|H_j - H_{j+1}|}{H_j + H_{j+1}}\right)}_{\text{Continuité hauteur}} \quad (2)$$

*Fiabilité file*

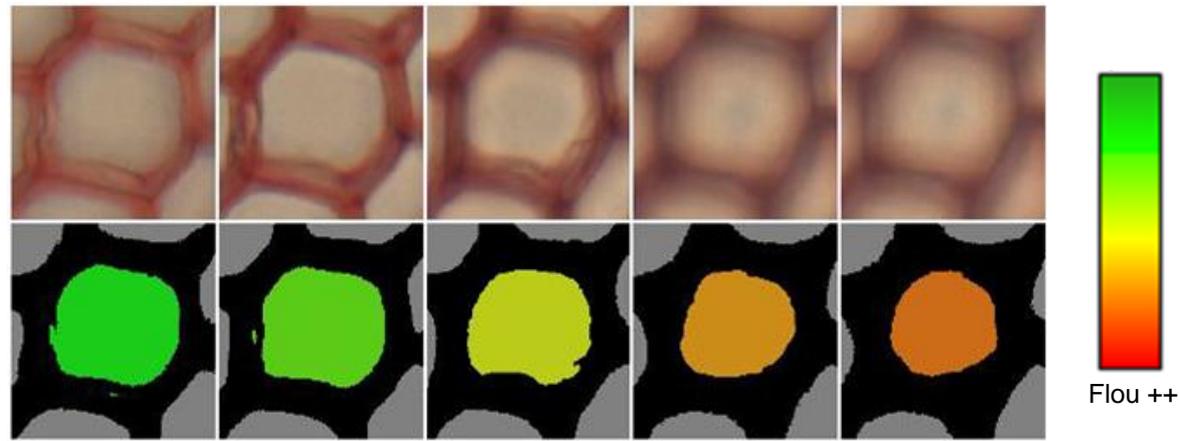


Classification automatique des files selon leur indice de fiabilité ( $R_f$ )



### ➔ Effet du flou sur les mesures

- Classification Lumen/Paroi par l'algorithme du k-means (*Forgy 1965*)



Segmentation automatique du lumen et qualification du flou du bassin

La classification est sensible au **flou local** de l'image

⇒ Utilisation de l'indice de Ladjal (*Ladjal et al. 2006*) pour qualifier la mesure sur les surfaces des composants de la cellule.

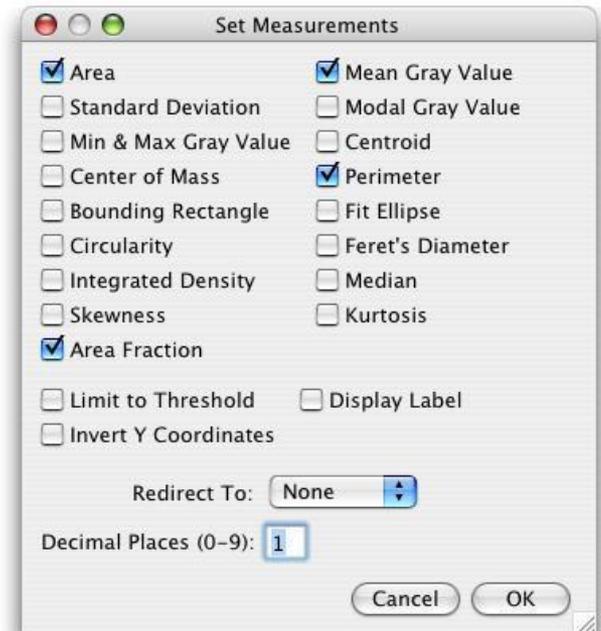


## ➔ Les mesures des cellules

**La surface des bassins** : comptage des pixels du bassin

**La circularité des bassins** : rapport pondéré entre l'aire et le périmètre (*Zunic 2008*)

*Possibilité de rajouter des outils de mesure dans le traitement*

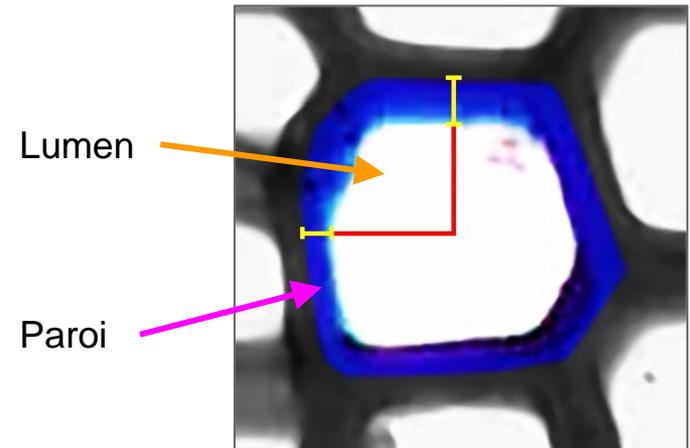




## ➔ L'épaisseur des parois des cellules

**Méthode** : Pas de consensus de la communauté scientifique

- Mesurer selon l'axe de la file (*Olana et al. 2014*)
- Mesurer au niveau des jonctions (*Clair 2014*)
- Mesurer la distribution de l'épaisseur (*Jones et al. 1999*)
- ...



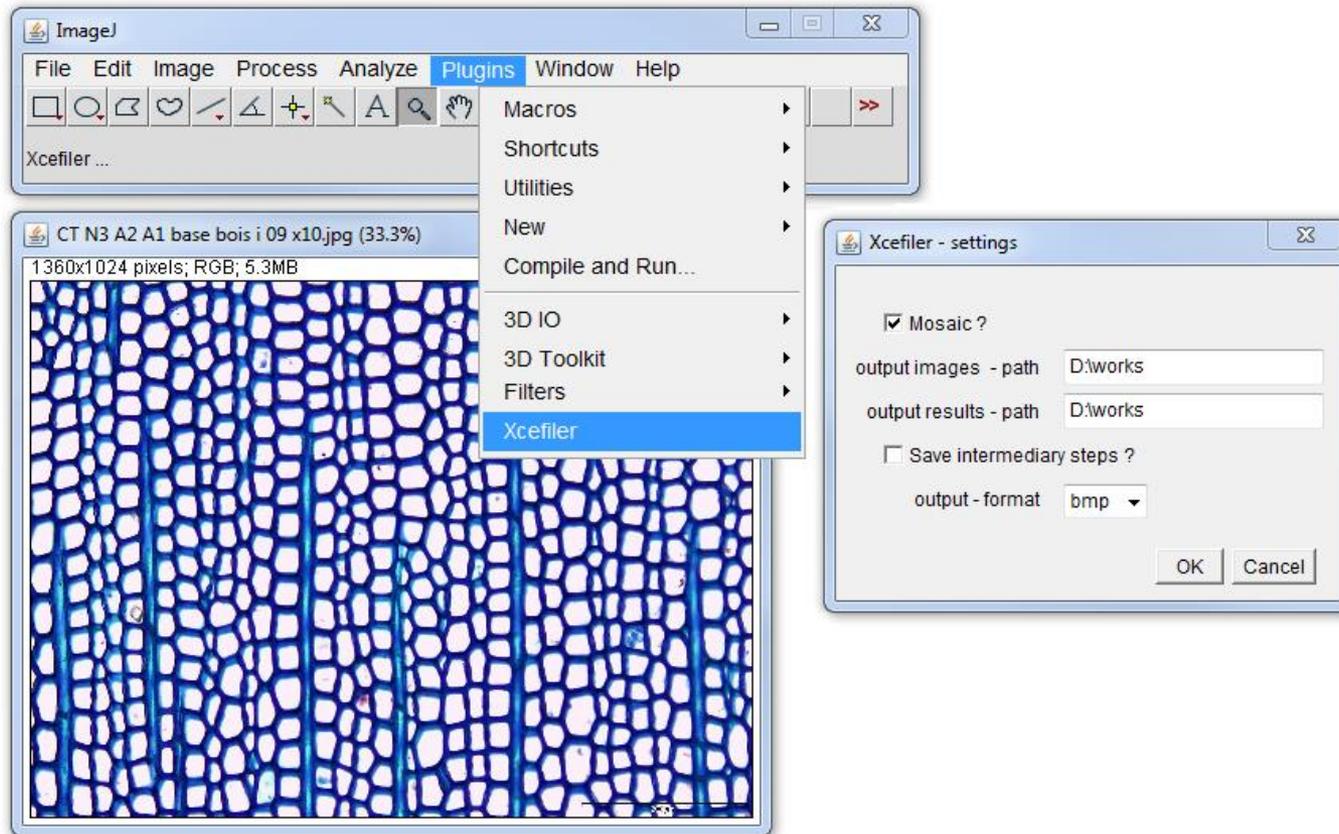
⇒ Donner l'intégralité de la distribution à l'utilisateur

➔ Possibilité de proposer d'autre type de mesure

# 4.a. Résultats généraux

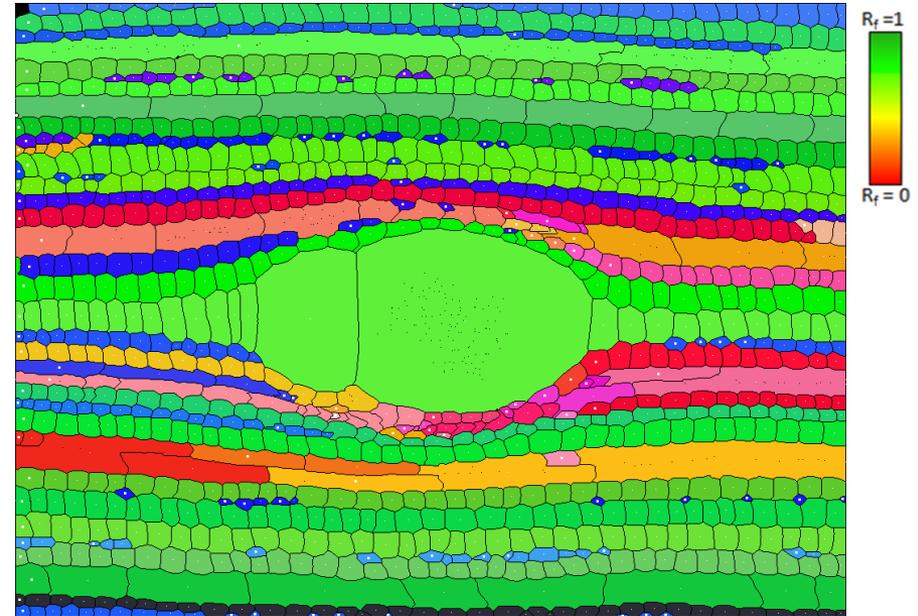
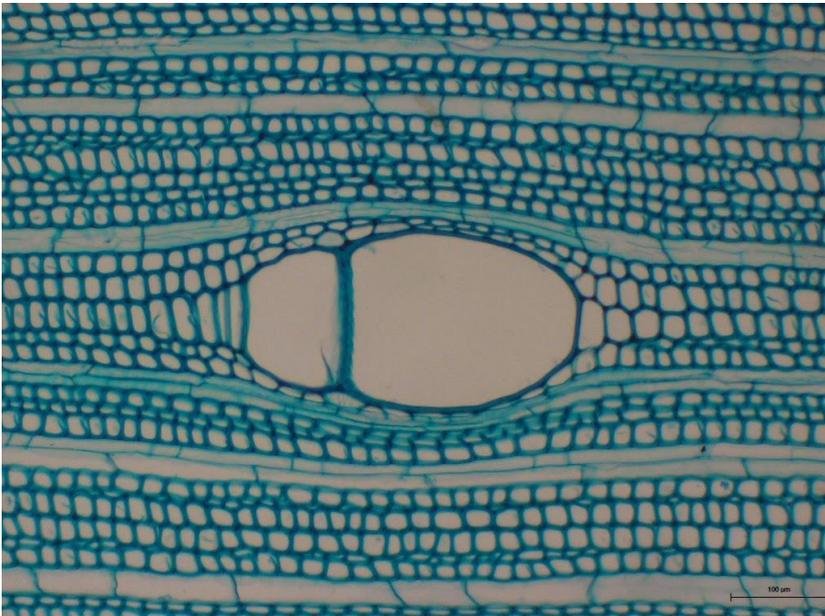


Implémentation : Java pour la plateforme libre ImageJ  
➔ Sous forme de plugin



## Coloration des files en fonction de leur **fiabilité**

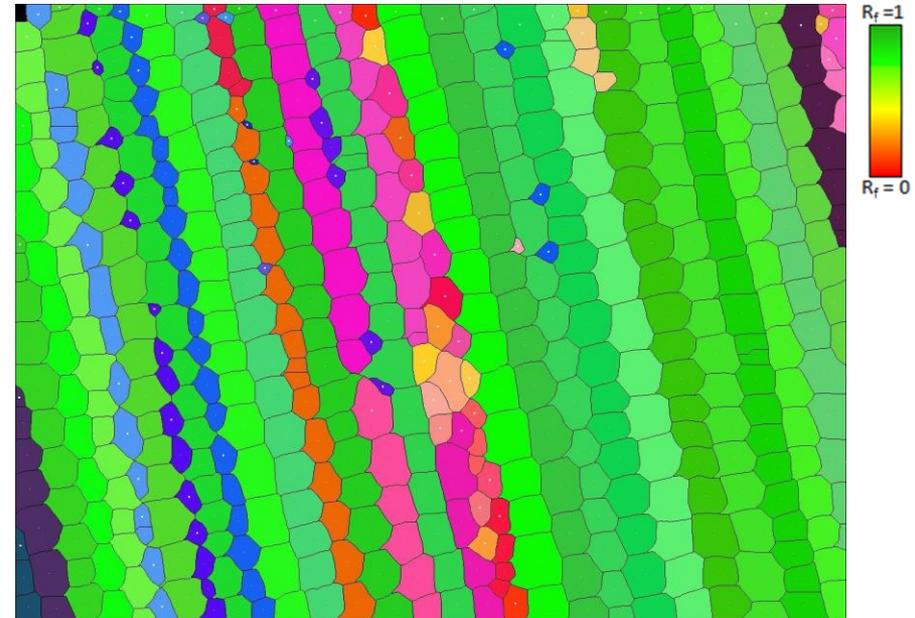
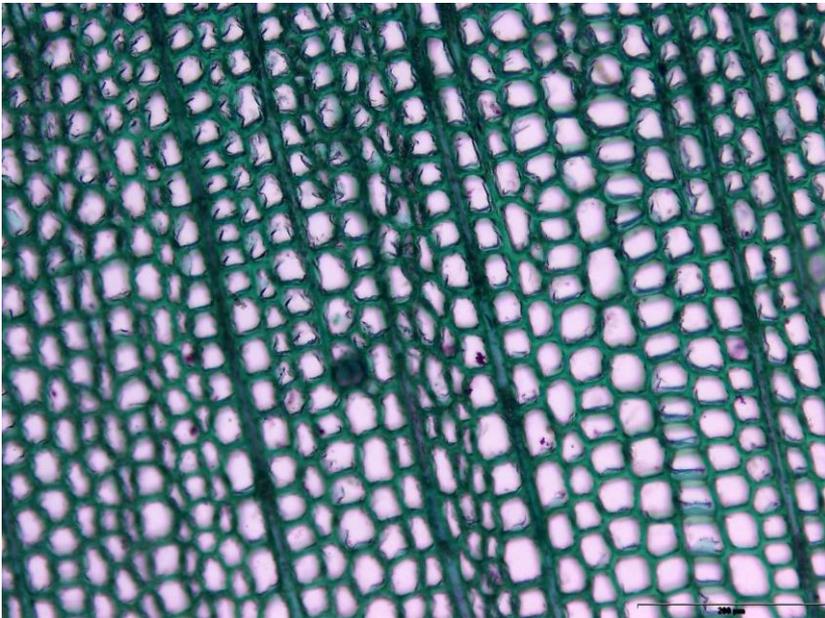
- Vert (optimale) ; rouge (à valider)



*Coupe histologique d'acajou. Détection et classification automatique des files selon leur indice de fiabilité*

## Coloration des files en fonction de leur **fiabilité**

- Vert (optimale) ; rouge (à valider)



*Coupe histologique de sapin. Détection et classification automatique des files selon leur indice de fiabilité*

# 4.a. Application aux files cellulaires

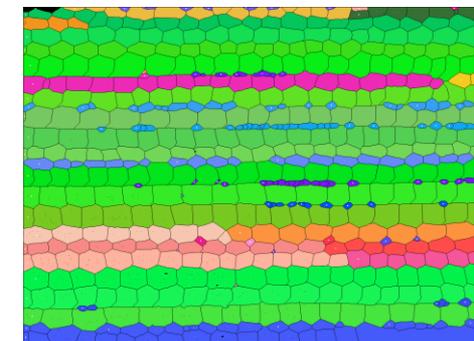
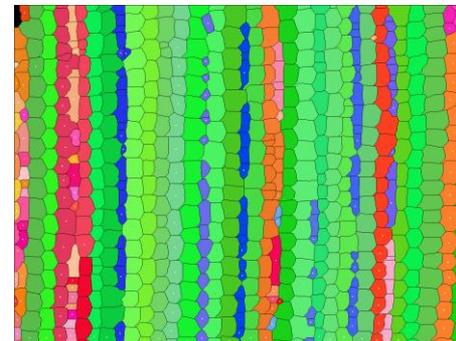
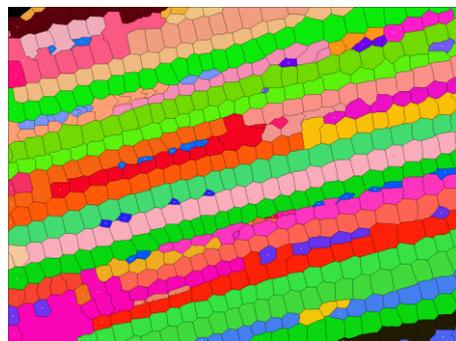
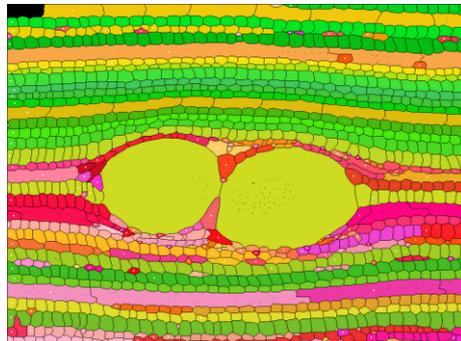
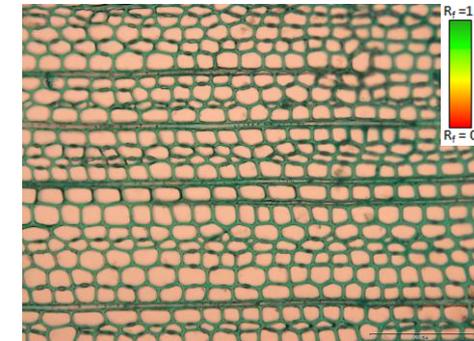
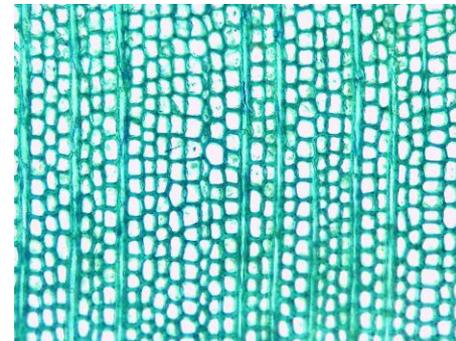
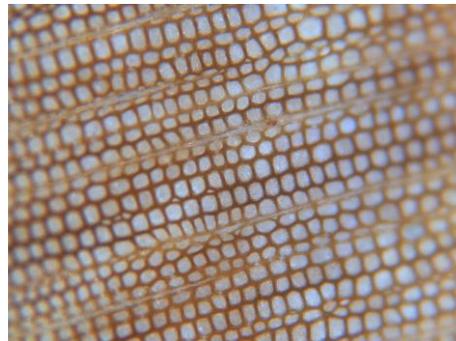
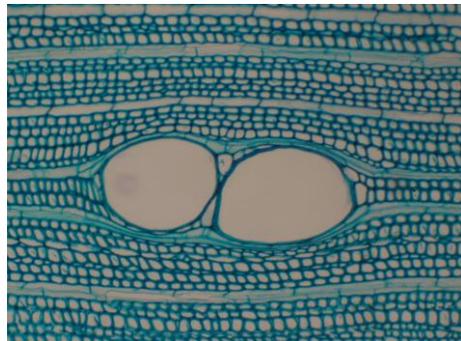


## Coloration des files en fonction de leur **fiabilité**

- Vert (optimale) ; rouge (à valider)

*Angiosperme*

*Gymnospermes*

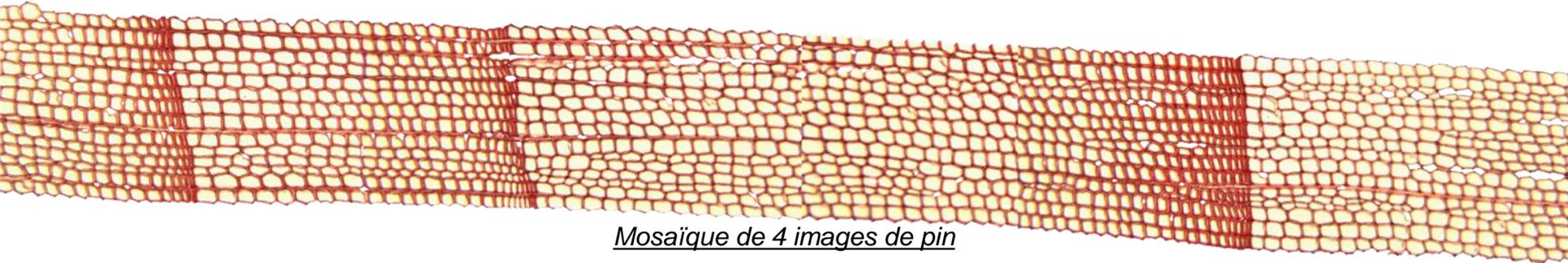


*Détection et classification automatique des files selon leur indice de fiabilité sur un panel d'image*

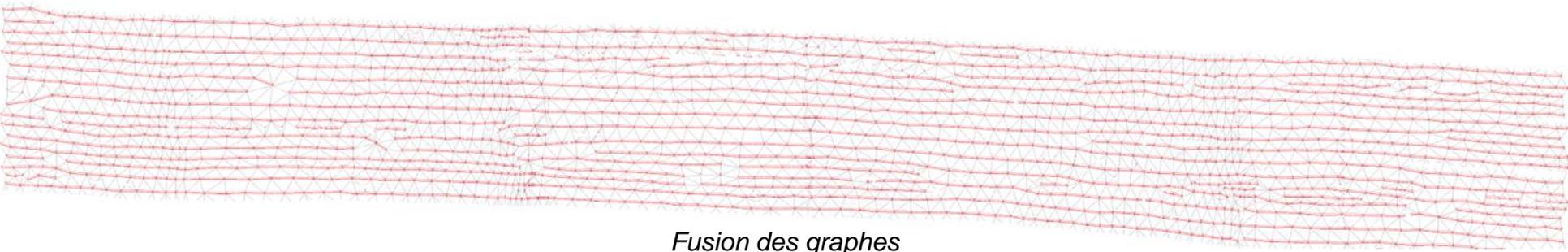
# 4.a. Suivi sur des mosaïques



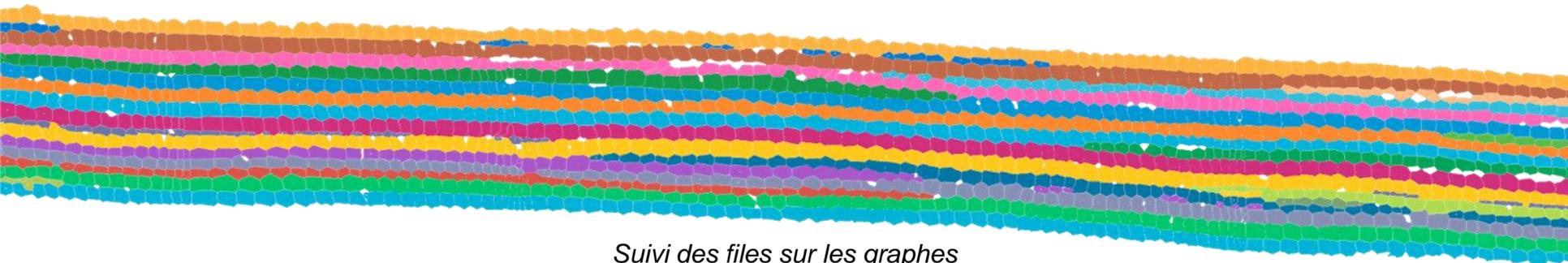
➔ Suivi des files cellulaires sur plusieurs images



Mosaïque de 4 images de pin

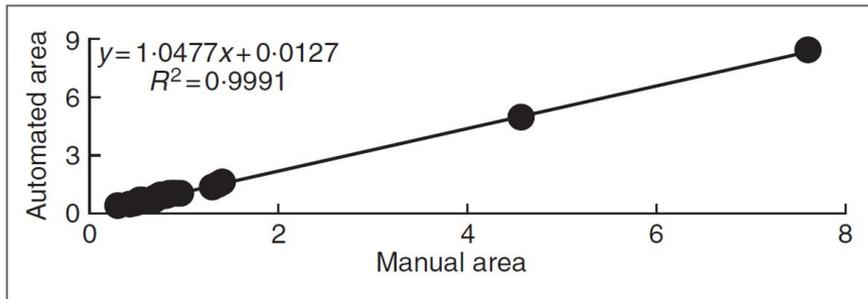


Fusion des graphes



Suivi des files sur les graphes

## Comparaison expert / méthode automatique

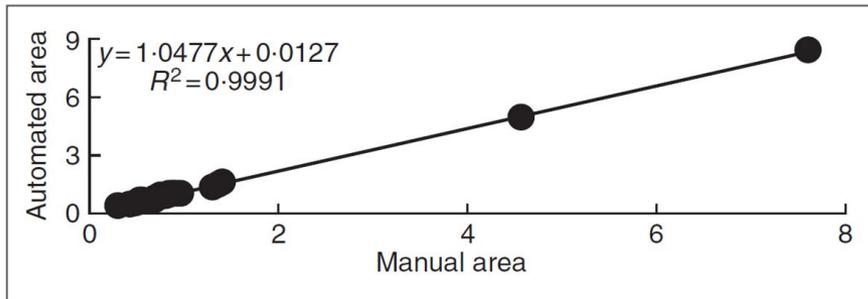


*Comparaison des surfaces des bassins (Expert/méthode)*

Au niveau segmentation :

- Très forte corrélation sur la surface des cellules

## Comparaison expert / méthode automatique



Comparaison des surfaces des bassins (Expert/méthode)

Au niveau segmentation :

- Très forte corrélation sur la surface des cellules
- Nombre cellule équivalent

Au niveau de l'identification :

- En moyenne 85% des files bien identifiées

➔ **Gain de temps de traitement**

Species	Size (pixels)	Expert		Plugin		% of files detected
		Cell numbers	Times (s)	Cells numbers	Times (s)	
Mahogany	1024 × 768	1302	2520	1359	14.3	86
Fir	1360 × 1024	787	1300	800	12.4	88
Black Pine 1	1600 × 1200	1794	2750	1873	23.2	92
Caribbean Pine	1360 × 1024	819	1500	828	11.5	91
Black Pine 2	1600 × 1200	1411	2450	1458	16.1	83

# 4.b. Utilisation dans un cadre biologique



“Réactivation cambiale et dynamique chez *Pinus brutia*”

⇒ Comptage manuel des cellules le long des files

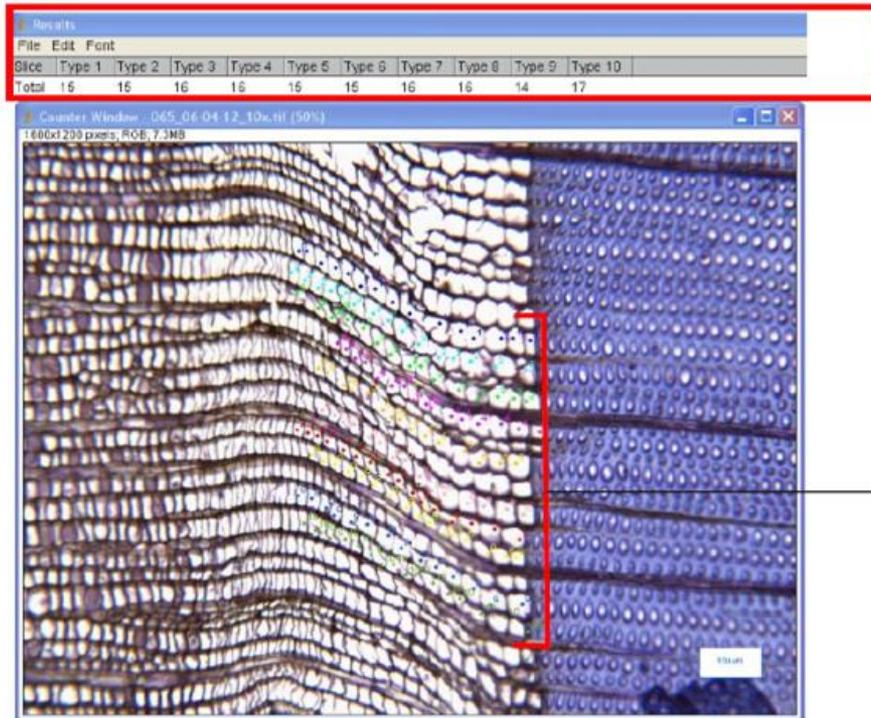
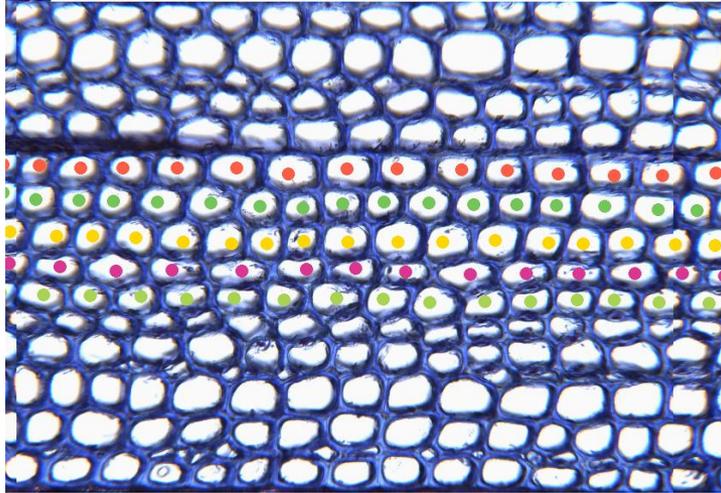


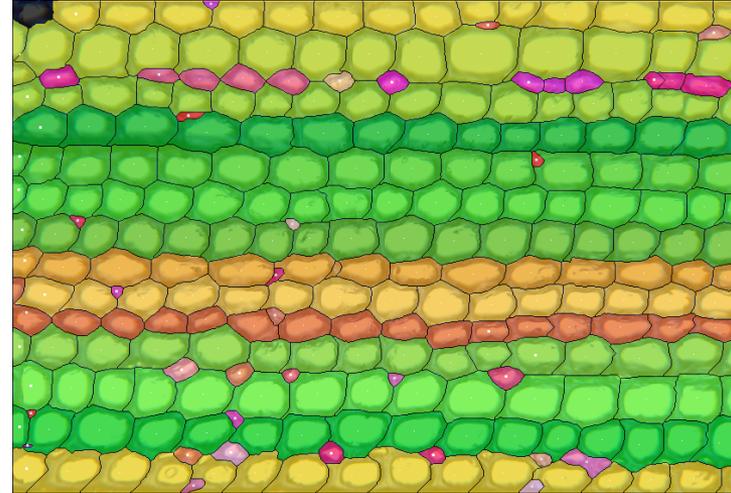
Tableau de résultats avec le nombre de cellules par files

Files radiales sélectionnées

Un premier résultat (Septembre 2014)



*Comptage manuel*



*Détection et caractérisation automatique*

Qui devrait permettre :

⇒ D'accéder à d'autres **types de données**

➔ D'autres types de **questionnements**

*“Dynamique de la différenciation et de la maturation cambiale chez Pinus brutia. Quelles contraintes endogènes ?”*

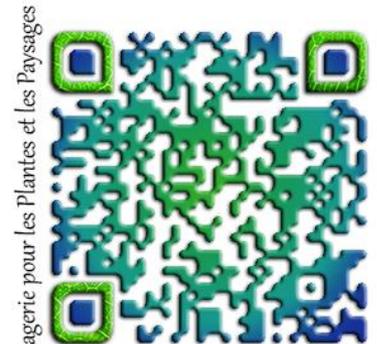
Quelle préparation et numérisation pour les échantillons ?

- Un **protocole de préparation** adapté aux grandes zones d'étude
- Protocole automatisé **ponçage** de rondelles de bois

Comment d'identifier les arrangements cellulaires sur de grandes zones d'observation ?

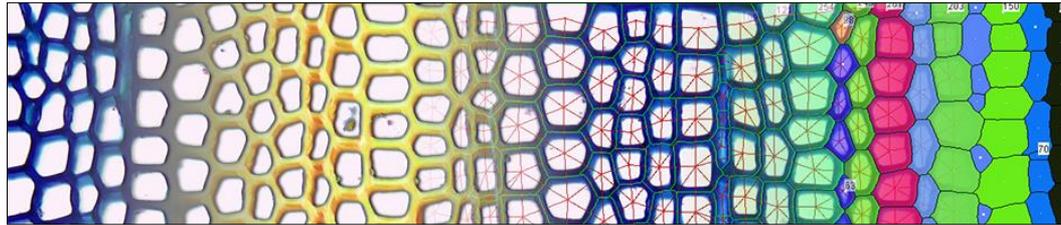
- Une méthode **générique** de détection d'arrangement
  - Une chaîne **autocalibrée** du pré-traitement de l'image
  - Parcours du graphe sous contrainte **spatio-morphologique**
- Une méthode de **fusion des arrangements** (graphes)

⇒ La détection automatique des files sur les deux protocoles de préparations



Comment qualifier la fiabilité des méthodes et des résultats ?

- Nous avons proposé des **indices de fiabilité** qualifiant :
  - Les processus de construction des files cellulaires
  - Les outils de mesures des éléments biologiques



*De l'image native aux files cellulaires*

Quelles mesures pour les cellules et les organisations ?

- Nous avons mis à disposition un **ensemble d'outils** permettant de mesurer :
  - Les **arrangements** (longueur, continuité)
  - Les **éléments biologiques** (surface, circularité...)
  - Les **composants des éléments** (épaisseur paroi, surface lumen)
- La possibilité d'intégrer d'autres outils de mesures

## **Article de journal** (Biologie)

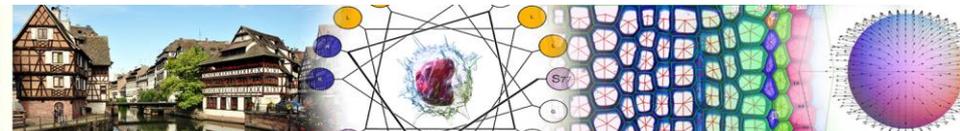
- Annals of Botany 2014

## **Conférences internationales avec actes** (Informatique)

- Scandinavian Conferences on Image Analysis (SCIA) - Finlande 2013
- Functional Structural Plant Models (FSPM) - Finlande 2013
- Plant Growth Modeling and Applications (PMA) - Chine 2012

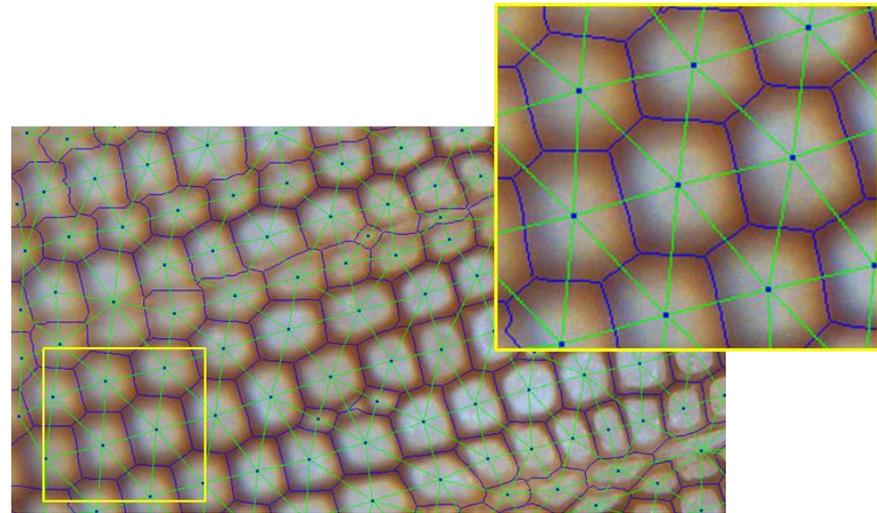
## **Posters**

- Labex NUMEV - France 2012 ; 2013; 2014
- FSPM - Finlande 2013
- SCIA - Finlande 2013



## Améliorer le protocole de préparation

- calibrer le protocole en fonction des essences
- Analyser les défauts de planéités
- introduire la coloration

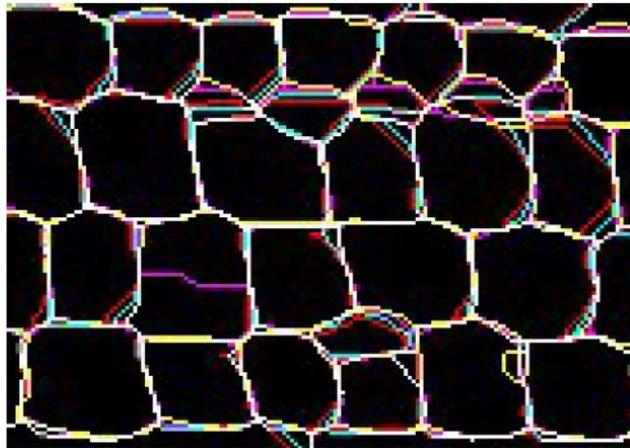


## Obtenir plus d'images expertes

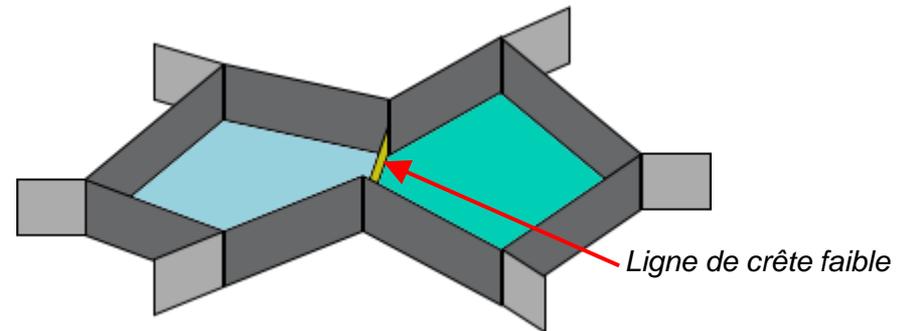
- validation des processus et des mesures
- constitution d'une base de données d'images annotées

## Comment limiter la sur-segmentation du Watershed ?

- Filtrer les minima locaux (*Olsen et al. 2005*)
- Fusionner méthodologiquement (*Beucher et al. 1994*) (*Hanbury et al. 2006*)

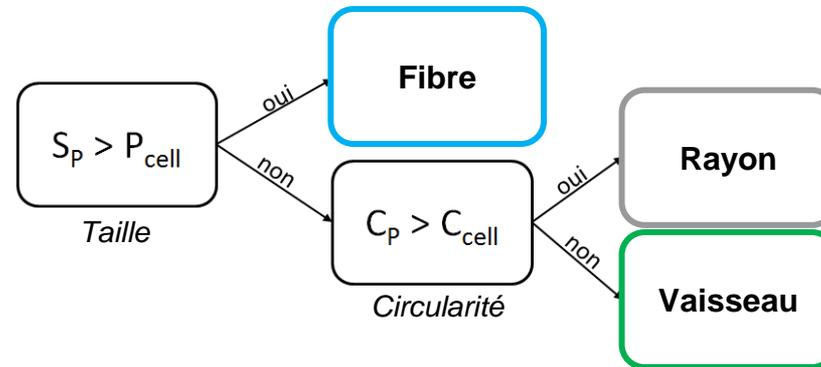


*Utilisation multi-échelle pour filtrer les germes*

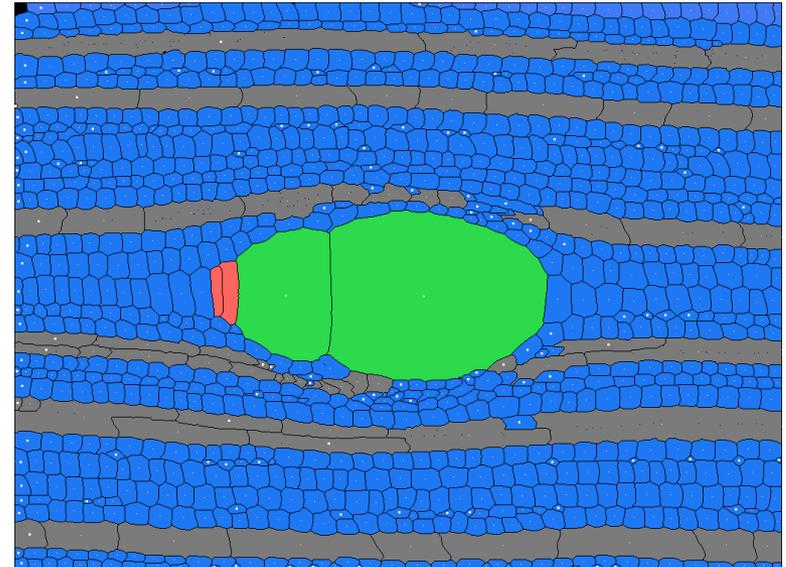
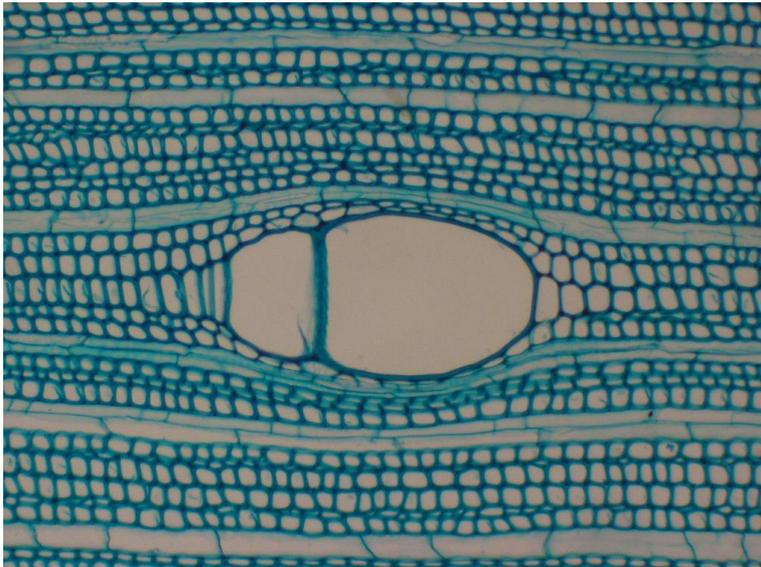


*Fusionner les bassins selon des critères*

## Proposer des méthodes pour le typage des cellules



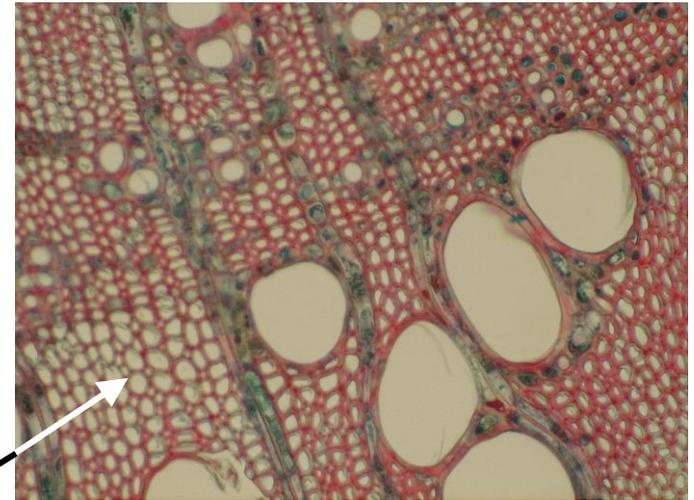
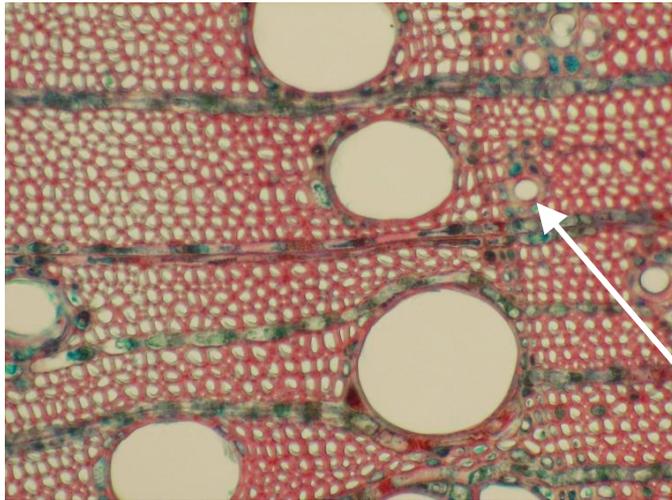
*Arbre de décision expert pour le typage des files*



*Coupe histologique d'acajou - Typage automatique des cellules*

## Proposer des méthodes pour le typage des cellules

- définir de nouveaux attributs
- tenir compte du contexte local (*pas de l'organisation*)
- gérer la grande variabilité au niveau biologique
- méthode (semi-) supervisée (*Kennel et al. 2010*)



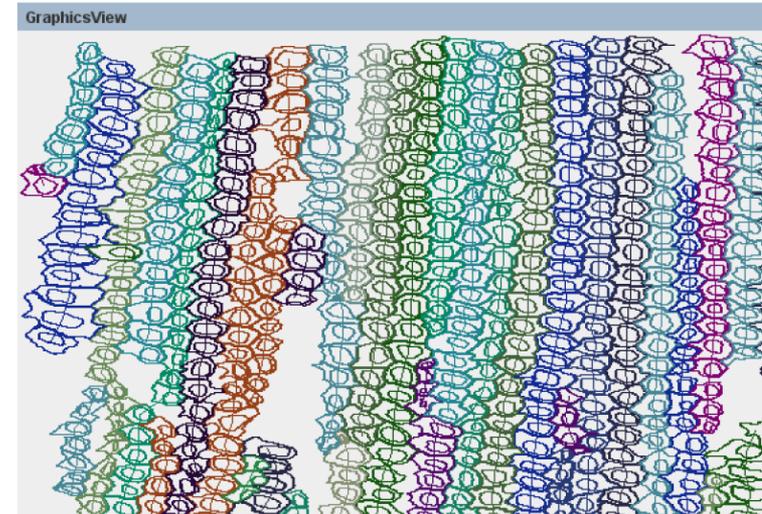
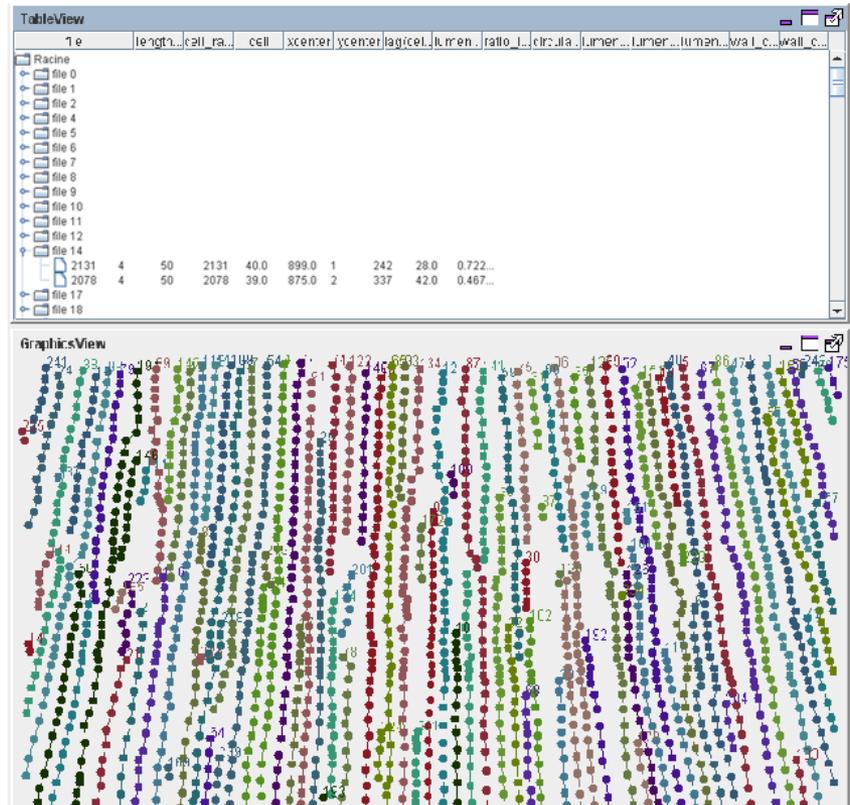
Même taille  $\Leftrightarrow$  Fonctionnalité différente

# 5. Perspectives



La création d'un **explorateur** de files pour :

- navigation sur de grandes zones
- apporter des corrections directement sur les résultats
- impacter dynamiquement les modifications



# Remerciements