

ANALYSE DE L'ORGANISATION SPATIALE DES FAISCEAUX DE TIGES DE GRAMINEES

David Legland¹ & Marie-Françoise Devaux² & Fabienne Guillon³

¹ *URI268 Biopolymères Interactions et assemblages, INRA, Nantes, France.*

UMR782 Food Process Engineering and Microbiology, INRA, AgroParisTech, Thiverval-Grignon, France

UMR 1318 Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, Versailles, France

[*david.legland@nantes.inra.fr*](mailto:david.legland@nantes.inra.fr)

² *URI268 Biopolymères Interactions et assemblages, INRA, Nantes, France.*

[*marie-francoise.devaux@nantes.inra.fr*](mailto:marie-francoise.devaux@nantes.inra.fr)

³ *URI268 Biopolymères Interactions et assemblages, INRA, Nantes, France.*

[*fabienne.guillon@nantes.inra.fr*](mailto:fabienne.guillon@nantes.inra.fr)

Résumé. Les espèces de cultures telles que le maïs présentent un intérêt croissant pour l'alimentation du bétail ou pour la production de biocarburants. Leur valorisation dépend principalement de la composition chimique et de l'organisation spatiale des différents tissus au sein des organes, notamment les tiges. Bien que des outils d'analyse d'image et de statistiques spatiales existent pour quantifier la morphologie cellulaire et l'organisation des tissus, la comparaison des observations faites sur les différents individus est rendue difficile du fait de leurs différences de tailles et de formes. Nous présentons une méthodologie générique de quantification de l'organisation spatiale de structures biologiques observée dans une collection d'images, appliquées aux faisceaux observés dans des entre-nœuds de maïs. La démarche comprend le calcul d'un espace de référence en utilisant des outils d'analyse statistique des formes, l'identification de la position des structures dans les images individuelle par analyse d'images, la projection des positions dans l'espace de référence, le calcul de cartes de densités sur les données normalisées, et la concaténation des cartes de densité obtenues. Le résultat est une cartographie statistique de la densité des points observés. L'application aux données de maïs permet de représenter la densité numérique des faisceaux dans des entre-nœuds modèles dépendant du génotype et de la position dans l'entre-nœud, révélant les différences d'organisation spatiale.

Mots-clés. Statistiques spatiales, analyse d'images, normalisation spatiale, processus ponctuel, analyse statistique de formes, estimation de densité

Abstract. Crops species such as maize are of growing interest for cattle feeding or biofuel production. Their valorization depends mainly on the chemical composition and the spatial organization of different tissues within organs, including the stems. Although image analysis and spatial statistics tools exist to quantify cell morphology and tissue organization, comparison of observations on different individuals is made difficult because of their different sizes and shapes. We present a generic methodology for quantifying the spatial organization of biological structures observed in a collection of images, applied to the vascular bundles observed in maize internodes. The methodology includes the computation of a reference space using tools from statistical shape analysis, the identification of the position of the structures in each individual image by image analysis, the projection of positions into the reference space, the computation of density maps from the normalized data, and the concatenation of the resulting density maps. The result is a statistical mapping of the density of observed points patterns. The application to the maize data results in a representation in model internodes of the number density of the vascular bundles. Results reveal differences in spatial organization depending on the genotype and the position in the inter-node.

Keywords. Spatial statistics, image analysis, spatial normalization, point process, statistical shape analysis, density estimation.

1 Introduction

Les espèces de cultures telles que le maïs (*Zea mays* L.) sont d'un intérêt croissant pour l'alimentation du bétail ou pour la production de biocarburants. De nombreuses études ont été consacrées à l'élucidation des relations entre la composition chimique et la dégradabilité des parois cellulaires. En plus de la variabilité de composition du type cellulaire, la morphologie cellulaire (taille, forme) et la répartition spatiale des tissus au sein des organes de plantes doit être pris en compte afin de mieux comprendre la dégradation des semis ou des propriétés mécaniques. En raison des facteurs expérimentaux et de la variabilité biologique, les tiges présentent une forte hétérogénéité de taille et de forme, ce qui rend difficile la comparaison et la mise en correspondance des observations individuelles. L'objectif de ce travail est de présenter une méthodologie générique de quantification de l'organisation spatiale des structures biologiques à l'intérieur d'un organe de référence, en tenant compte de la répétition des observations [1,2,3]. Cette méthodologie est ensuite appliquée à la caractérisation de cartes de densité des faisceaux vasculaires de tiges de maïs. La stratégie globale a été (1) de calculer un espace de référence en appliquant des outils d'analyse statistique des formes sur les contours des tiges [4], (2) d'identifier les positions des faisceaux vasculaires sur les tiges individuelles en utilisant des outils d'analyse d'images, (3) de projeter les observations individuelles dans l'espace de référence, et (4) de concaténer les résultats obtenus sur les images normalisées. Le résultat est une cartographie statistique de la densité des points observés.

2 Calcul de l'espace de référence par analyse statistique des formes

Les entre-noeuds sous épis de tiges de maïs provenant de deux génotypes ont été considérés. Chaque entre-noeud a été découpé en plusieurs blocs, et la section de chaque bloc imagée à l'aide d'un scanner à plat. L'image de chaque bloc a été segmentée en utilisant les informations colorimétriques, et le contour extrait sous la forme d'un polygone représenté par une liste de coordonnées. Afin de calculer les modèles statistiques de la forme de tige, chaque polygone a dû être recentré, mis à l'échelle, aligné par rapport à son axe de symétrie, et ré-échantillonné pour avoir un nombre constant de sommets. Une analyse en composantes principales a été appliquée sur le tableau de données correspondant aux coordonnées des sommets afin d'identifier les facteurs expérimentaux pertinents pour la modélisation. Dans un deuxième temps, chaque coordonnée a été modélisée à l'aide d'un modèle linéaire général intégrant les effets fixes du génotype et de la position, et un effet aléatoire de la tige. Le résultat est le polygone moyen utilisé comme espace de référence global, ainsi que les polygones correspondants aux coupes macroscopiques.

3 Extraction de la position des faisceaux par analyse d'images

Les coupes de tiges de 150 μm d'épaisseur ont été observées en utilisant l'imagerie macroscopique, qui produit des images en niveaux de gris de quelques mm^2 . En reconstruisant une image mosaïque, il est possible d'imager la totalité de la section avec une résolution de quelques microns. Les faisceaux vasculaires ont été segmentés à partir des images en niveaux de gris en appliquant une série de filtres morphologiques. Le centre de gravité de chaque faisceau et le contour de tranche ont été extraits par analyse automatique d'image. Il en résulte un motif de points délimité par le contour de la coupe, sur lequel il est possible d'appliquer les outils de statistiques spatiales.

4 Projection des faisceaux dans l'espace de référence

Afin de comparer l'organisation spatiale des faisceaux vasculaires obtenus à partir de différents individus, il est nécessaire de projeter chaque coupe individuelle dans le même référentiel spatial. Comme le contour de la tige n'était pas visible sur les images de microscopie, une transformation rigide a d'abord été appliquée de manière à replacer le contour de la section ainsi que les positions des faisceaux à l'intérieur du contour de la tige individuelle obtenu à partir du modèle statistique. Une transformation non-rigide basée sur une mise à l'échelle locale des coordonnées polaires a ensuite été appliquée de telle sorte que le contour associé à la tige individuelle soit mis en correspondance avec le contour de la tige de référence.

5 Analyse globale de l'organisation spatiale des faisceaux

Une fois projetée dans le même espace de référence, l'analyse de groupe de la collection de motifs de points devient possible. La carte d'intensité de chaque motif individuel a été estimée en utilisant la méthode de lissage à noyaux [5]. Les cartes d'intensité ont ensuite été superposées, afin d'obtenir une cartographie statistique moyenne de l'intensité des faisceaux dans la tige de référence. Un modèle linéaire général a ensuite été appliqué pour calculer les effets du génotype et de la position de la coupe, résultant en un modèle statistique de l'intensité des faisceaux en fonction du génotype, de la position dans l'entre-noeud, et de la position dans la coupe.

D'autres travaux sont en cours pour considérer la fusion des données avec d'autres modalités d'imagerie, tester d'autres estimateurs de densité pour les processus ponctuels [6], et modéliser l'organisation spatiale des faisceaux en tenant compte des interactions entre faisceaux.

Bibliographie

- [1] Legland D, Devaux MF & Guillon F, 2014. Statistical mapping of maize bundle intensity at the stem scale, *PLoS ONE*, 9(3): e90673. doi: 10.1371/journal.pone.0090673
- [2] Legland D, Devaux MF, Bouchet B, Guillon F, Lahaye M, 2012. Cartography of cell morphology in tomato pericarp at the fruit scale, *J. Microsc.*, 247, 78-93
- [3] Burguet J, Maurin Y, Andrey P, 2011. A method for modeling and visualizing the three-dimensional organization of neuron populations from replicated data, *Pattern Recognition Lett.*, 32, 18941901
- [4] Dryden, I. & Mardia, K., 1998. *Statistical Shape Analysis*. John Wiley & Sons (Eds).
- [5] Diggle, P. J. A kernel method for smoothing point process data *App. Stat.*, 1985, 34, 138-147
- [6] Burguet J, & Andrey P, 2014. Statistical Comparison of Spatial Point Patterns in Biological Imaging, *PLoS ONE* 9(2): e87759. doi: 10.1371/journal.pone.0087759