



**HAL**  
open science

# Développement de méthodes de phénotypage haut débit basées sur l'analyse d'images pour le suivi de traits d'intérêts sur une collection d'ignames (*D. alata*) en Guadeloupe

Pauline Mell

## ► To cite this version:

Pauline Mell. Développement de méthodes de phénotypage haut débit basées sur l'analyse d'images pour le suivi de traits d'intérêts sur une collection d'ignames (*D. alata*) en Guadeloupe. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. dumas-02138698

**HAL Id: dumas-02138698**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02138698>**

Submitted on 4 Jun 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année universitaire : 2017-2018

Master Biologie, Agrosiences

Parcours Amélioration, Production,  
Valorisation du végétal

Option : Fonctionnement et Gestion des  
Agrosystèmes

## Rapport de stage

- d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

# Développement de méthodes de phénotypage haut débit basées sur l'analyse d'images pour le suivi de traits d'intérêts sur une collection d'ignames (*D. alata*) en Guadeloupe

Par : Pauline Mell



*Soutenu à Rennes le 28 juin 2018*

*Devant le jury composé de :*

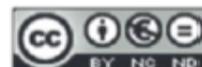
Président : Matthieu Carof

Enseignant référent : Christine Bissuel

Rapporteur : Béatrice Teulat

*Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celles d'AGROCAMPUS OUEST et l'université de Rennes 1*

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation  
« Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France »  
disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>





## Remerciements

Mes remerciements s'adressent en premier lieu à mes encadrants, Denis Cornet, Fabien Cormier et Régis Tournebize.

Régis, je te remercie de m'avoir accueillie à mon arrivée et pour les cocos-surprises que tu m'as offert à la fin du stage.

Fabien, merci pour ton sourire, ta bonne humeur et pour les pauses cigarettes réconfortantes partagées dans la dernière ligne droite.

Denis, l'écriture de ces quelques lignes ne suffira pas pour te témoigner toute la reconnaissance et l'admiration que j'ai pour toi aujourd'hui, mais je tiens tout de même à te remercier de tout mon coeur, pour ces mois passés en ta compagnie en Guadeloupe. Tu m'as toujours beaucoup soutenue, même dans les moments critiques, et je te remercie pour tout ce que tu m'as apporté, professionnellement et humainement. Merci pour toute l'énergie et le temps que tu m'as consacré, pour ton optimisme, ta personnalité et tes paroles attentionnées : « N'oublie pas de dormir quand même, Pliss Foss ! ». J'espère qu'un jour je parviendrai à devenir un peu comme toi, avec toutes ces qualités humaines et ces compétences professionnelles qui font de toi un homme exceptionnel et admirable. Je tiens aussi à féliciter pour m'avoir supportée pendant plusieurs mois, dans les bons comme dans les mauvais jours.

Je remercie ma tutrice de stage, Christine Bissuel, pour ses précieuses remarques et pour la compréhension dont elle a fait preuve lorsque j'ai rencontré des difficultés. Je la remercie sincèrement pour le temps consacré à la correction de mon rapport et pour la richesse de ses critiques.

Je remercie également Lucienne Desfontaine, pour la confiance et les responsabilités qu'elle m'a données au cours de ce stage mais aussi pour sa compagnie lors des séances interminables de découpage d'igname que nous avons partagées.

Je remercie Jocelyne et Janine Laniester, ce duo mère fille rayonnant qui m'a accompagné pendant ces six mois de stage. Je leur suis reconnaissante pour leur aide au laboratoire pour leur bonne humeur quotidienne. Jocelyne, tu es pour moi un modèle de force et de courage et je te remercie pour ta joie de vivre.

J'adresse mes sincères remerciements à David Lange, pour m'avoir appris à récolter ma première igname et rédiger mon premier article technique. Malgré des échanges parfois difficiles, tu as été un très bon pédagogue et je suis très heureuse d'avoir participé aux activités de terrains avec toi.

Je remercie Wilfried Beauce, pour sa bonne humeur, son aide précieuse sur les parcelles et pour ses encouragements quotidiens lors de la rédaction de mon rapport.



J'adresse enfin un grand merci à tous les stagiaires des Bambous, avec qui j'ai partagés des moments inoubliables. Je tiens à remercier particulièrement mes amies Agathe Solvati et Célia Poulayer, pour leurs incroyables personnalités et pour tous ces moments passés ensembles. Je vous remercie pour de ce trio improbable que nous avons formé, pour ce bel équilibre que vous m'avez donné et pour tous les autres moments qu'il nous reste encore à partager. Je remercie également Jean-Antoine Vassal pour son aide sur l'analyse d'image et pour son soutien à chaque étape de mon stage.

Je remercie mes amis, Claire O'Connor, Laetitia Canevet, Alexandra Bianconi, Aldwin Agnoux, Thibaut Marquet, Romane Nedelec, Laurène Larvol, Mégane Crosset et Evan Scieller pour les skypes dynamisants du dimanche matin.

Je remercie mon père de m'avoir encouragée dans cette voix et de m'avoir apporté le soutien dont j'avais besoin pour suivre mes convictions personnelles.



## Table des matières

Introduction .....	1
I. La culture d'igname.....	1
A. Cycle de développement de l'igname ( <i>D. alata</i> ).....	1
B. Une culture traditionnelle hautement nutritive .....	3
II. Les verrous de la culture d'ignames .....	3
A. Sensibilité de l'igname à la compétition .....	3
B. Le brunissement des tubercules.....	3
III. Phénotypage adapté au contexte tropical.....	2
A. Phénotypage au champ basé sur l'analyse d'images .....	4
B. Imagerie multispectrale .....	5
C. Phénotypage pas imagerie numérique .....	6
IV. Objectifs du stage .....	6
A. Le suivi du couvert végétal au champ .....	6
B. Le suivi de la dynamique de brunissement des tubercules par analyse d'images .....	7
C. Phénotypage des paramètres physiques des grains d'amidon par analyse d'images.....	8
Matériel et méthodes .....	8
I. Expérimentation .....	8
A. Sites .....	8
B. Matériel végétal.....	9
C. Conduite culturale .....	9
D. Dispositif expérimental .....	9
E. Opérations post-récolte.....	9
II. Acquisition des images numériques .....	11
A. Acquisition des images numériques du couvert végétal.....	11
B. Acquisition des images numériques de la chair des tubercules d'igname.....	11
C. Acquisition des images numériques microscopiques des grains d'amidon.....	11
III. Traitements des données-images.....	12
A. Traitement des images du couvert végétal .....	12
B. Traitement des images de la chair des tubercules.....	13
C. Traitement des images des grains d'amidon.....	14
Résultats et discussion.....	15
I. Phénotypage du couvert végétal.....	15
A. Performance du traitement d'images .....	15
B. Application à la collection de travail : modélisation de l'évolution du LAI .....	15



II.	Phénotypage de la couleur de la chair des tubercules au cours du temps.....	118
A.	Performance du traitement d'images .....	17
B.	Application à la collection de travail : suivi du brunissement et correction des couleurs .....	17
III.	Phénotypage des grains d'amidon .....	19
A.	Performance du traitement d'images .....	19
B.	Application à la collection de travail : mesures des paramètres physiques de l'amidon.....	19
IV.	Bilan sur la performance des méthodes .....	19
	Conclusions et perspectives.....	21
	Références bibliographiques .....	23



## Introduction

### I. La culture d'igname

L'igname est une plante tropicale lianescente appartenant au genre *Dioscorea* (Boxe 1 ; Figure 1). Elle est représentée par 602 espèces dont seule une dizaine est cultivée à des fins alimentaires, en particuliers *D. alata*, *D. bulbifera*, *D. cayenensis*, *D. rotundata*, *D. dumetorum*, *D. esculenta*, *D. polystachia*, *D. schimperiana* et *D. trifida* [17]. En effet, l'igname est une plante géophyte capable de produire des tubercules riches en amidon. Ces derniers sont généralement souterrains mais chez certaines espèces, les tubercules se développent à l'aisselle des feuilles (Figure 2). Bien qu'ubiquiste, la culture d'igname est particulièrement adaptée aux climats intertropicaux rencontrés en Afrique de l'Ouest, en Asie et dans la Caraïbe (Figure 3). L'igname d'eau, *Dioscorea alata*, est l'espèce la plus cultivée aux Antilles tandis que l'igname de Guinée, *Dioscorea rotundata*, domine largement en Afrique de l'Ouest.

#### A. Cycle de développement de l'igname (*D. alata*)

Les dates de plantations sont relativement flexibles et dépendent de la durée de dormance et de la photosensibilité de l'espèce et de la variété. Ainsi, la plantation est habituellement réalisée soit quelques jours avant le début de la saison sèche, soit au commencement de la saison des pluies [15][1]. Le cycle biologique de l'igname dure entre 6 et 9 mois suivant le géotype et les facteurs environnementaux. La période de dormance du tubercule prend fin une fois la germination initiée. L'émergence d'un bourgeon, à la suite de la prolifération puis de la différenciation de cellules méristématiques du pérycycle en un amas cellulaire appelé complexe nodal primaire, marque l'entrée en phase de croissance [16]. Les racines, les tiges puis les tubercules se développent à partir de cette structure. En effet, les plantes à racines et tubercules présentent la particularité d'initier des racines adventives à partir de la tige tandis que la racine primaire des cultures à reproduction sexuée est issue du tissu embryonnaire [13]. Une fois le bourgeon initié, la croissance de l'igname se poursuit par une phase dite hétérotrophe durant laquelle le tubercule semence fournit les ressources nécessaires à la formation des différents organes [17]. L'abondance des réserves hydriques et minérales présentes dans le tubercule confère à l'igname une certaine autonomie vis-à-vis des ressources présentes dans le sol. Le tubercule apporte alors l'ensemble des éléments nécessaires à la germination et à l'allongement de l'axe aérien. En fonction de la taille et de la qualité du tubercule semence, l'igname peut ainsi subsister plus ou moins longtemps sans puiser de ressources dans l'environnement [17][22]. Ensuite, interviennent l'allongement rapide de l'axe aérien puis la formation de la couronne foliaire dont les produits photosynthétiques permettront l'initiation lente d'un nouveau tubercule. Celui-ci remplacera l'ancien dont les réserves nutritives ne suffisent plus à soutenir le développement de la plante. La tubérisation proprement dite est rapide et débute lorsque l'appareil aérien n'est plus suffisamment compétitif pour assurer sa propre croissance. A cet instant, la majorité des produits photosynthétiques est allouée à la fonction de remplissage des tubercules [15]. Les déterminants génétiques et biochimiques responsables de la tubérisation chez l'igname ne sont pas clairement identifiés mais il semblerait que la formation du méristème à l'origine de pré-tubercule apparaisse bien avant l'initiation [34]. A la fin de la saison des pluies, le tubercule atteint la maturité et l'appareil

Les ignames sauvages sont originaires des régions périforestières humides et présentent des adaptations morphologiques caractéristiques des environnements denses rencontrés dans ces milieux. En effet, elles sont pourvues d'un port lianescent grimpant qui leur confère un caractère héliophile indispensable à l'ascension des bas-étages forestiers. Elles profitent ainsi des conditions lumineuses rencontrées au niveau de la canopée. Cette singularité anatomique résulte de l'absence de cambium vasculaire propre aux monocotylédones, incompatible avec la formation d'un tronc, habituellement réalisée lors de la croissance secondaire chez les plantes vasculaires. Un simple épaissement primaire des axes aériens, lors de la phase d'établissement assure alors la consolidation de l'appareil végétatif et la mise en place d'un système vasculaire extensif performant. Cependant, l'appareil aérien reste vulnérable aux blessures mécaniques ou pathogènes et persiste rarement plus d'une année. Ces contraintes morphologiques sont compensées par le développement concomitant d'un ou plusieurs organes de réserve qui assurent la survie de la plante l'année suivante. En effet, l'igname est une plante géophyte capable de développer des structures particulières qui, après accumulation des réserves amidonnées, constituent des organes de stockage appelés tubercules. Ces derniers sont généralement souterrains mais, pour certaines espèces (*D. bulbifera*, *D. alata*), le développement de tubercules peut se produire à l'aisselle des feuilles. De ce fait, les Dioscoracées sont acclimatées à des environnements écologiques très contrastés et se développent aussi bien en altitude que dans les régions sèches, les forêts denses, voire sous les climats plus froids.

Boîte 1 : Ecologie et physiologie de l'igname



Figure 1 : Plante lianescente d'origine périforestière



Figure 2 : Plante géophyte capable de produire des tubercules souterrains (à gauche) ou aérien (à droite)

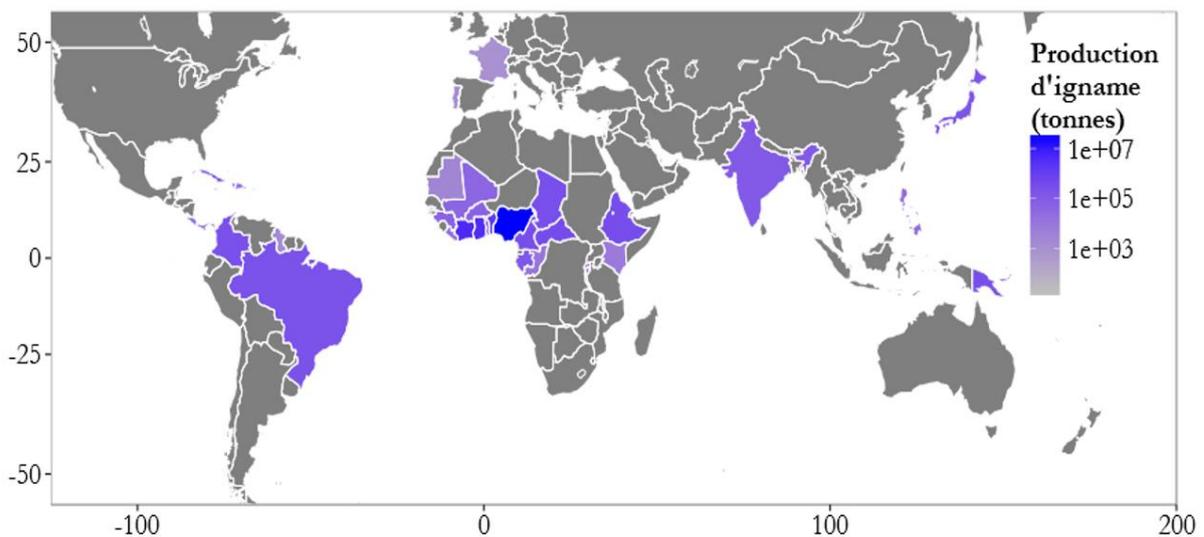


Figure 3 : Production d'igname dans le monde (Cornet et al, 2015). Les pays producteurs d'ignames sont situés dans les régions tropicales et intertropicales.

aérien présente les premiers signes de sénescence. A sénescence totale, l'appareil aérien n'est plus fonctionnel et l'élaboration des assimilés photosynthétiques est terminée. La translocation des sucres et la polymérisation des monomères de glucose en amidon dans les tubercules est intense lors des trois derniers mois du cycle de développement de l'igname. La répartition des réserves est établie selon un gradient physico-chimique longitudinal, la portion proximale contenant plus d'amidon que la région distale [7]. A cet instant, les tubercules entrent en dormance : ce processus inhibe la germination précoce tout en préservant le pouvoir germinatif. La dormance des tubercules persiste de 4 à 10 mois et n'est levée que lorsque qu'un seuil de degré-jours est atteint, ce dernier étant propre à chaque espèce et variété. Cet état de vie ralentie est marqué par une respiration lente et une transpiration augmentée à l'origine d'importantes pertes hydriques lors du stockage, induisant l'altération des qualités nutritionnelles des tubercules [7][34].

### **B. Une culture traditionnelle hautement nutritive**

L'amidon est le sucre le plus consommé au monde. Ce glucide complexe est très diversifié et abondant chez les plantes cultivées, en particulier dans les céréales. Ces dernières ont donc reçu une attention particulière de la recherche ces dernières décennies. Par ailleurs, les racines et les tubercules tropicaux contiennent eux aussi d'importantes quantités d'amidon et constituent la base de l'alimentation de millions de personnes. En effet, ils couvrent la majorité des apports glucidiques en Afrique [33]. Néanmoins, ces cultures orphelines sont peu représentées à l'échelle mondiale alors qu'elles présentent un meilleur rendement à l'hectare que les céréales, qui, de surcroît, ont atteint leur plafond de production. Par exemple, chez l'igname, l'amidon représente entre 60% et 90% de la matière sèche totale. Par ailleurs, la qualité des amidons contenus dans les plantes à racines et tubercules serait supérieure à celle des amidons rencontrés chez les céréales, encourageant ainsi les organismes de recherche à entreprendre des travaux d'amélioration variétale des plantes tropicales [3] (Boxe 2).

La qualité de l'amidon est régie par un certain nombre de paramètres physiques, tels que la taille et la forme des grains. Ces derniers déterminent les propriétés de gélatinisation et de digestibilité de l'amidon [19]. Ils influencent donc grandement la qualité nutritionnelle et l'aptitude à la transformation des produits à base d'igname. Le phénotype des grains est génétiquement établi et influencé par les interactions génotype-environnements. Ceci explique les variations de taille, de forme et de distribution granulométrique observées entre différents taxons botaniques [19]. L'étude des paramètres physiques des grains d'amidon (taille, forme, abondance) est donc primordiale pour garantir la qualité des produits à base d'igname et augmenter la sécurité alimentaire des régions tropicales, marquées par une très forte dépendance aux importations et confrontées à des enjeux de santé publique liés à une consommation insuffisante de produits frais. Bien que l'accroissement de la production d'igname soit prometteur pour augmenter la sécurité alimentaire de ces régions, les rendements restent à l'heure actuelle insuffisants pour répondre à la demande [16][24].

## **II. Les verrous de la culture d'ignames**

La culture d'igname est une filière exigeante caractérisée par des variations de production difficiles à prévoir et à maîtriser. L'instabilité des rendements est multifactorielle et en grande partie expliquée par l'hétérogénéité des semences (Boxe 3) et par la forte sensibilité

Bien qu'ils contiennent plus d'eau que les céréales, pour un poids humide équivalent (30%), les tubercules présentent un rendement énergétique par hectare bien supérieur. De surcroît, les tubercules d'ignames sont bien plus riches en azote, en sels minéraux et vitamines que le manioc et la patate douce. De plus, les quantités de protéines sont proches de celles mesurées chez le riz et le maïs et nettement supérieures aux teneurs rencontrées chez les autres plantes à racines et tubercules. Cependant, le potentiel nutritionnel décroît avec la durée et les conditions de stockage, mais également à cause de certains événements intervenant lors du cycle de développement, susceptibles de perturber les étapes d'initiation et de remplissage des tubercules et donc, de modifier considérablement la valeur nutritionnelle initiale. Même si les cultures de plantes à racines et tubercules sont moins représentées que les céréales à l'échelle mondiale, des études antérieures ont montré que l'amidon contenu dans ces produits est plus intéressant, en termes de qualité et de diversité, et présente donc un fort intérêt dans les divers procédés de transformation industrielle. En effet, les propriétés physicochimiques des amidons de six espèces de plantes à racines et tubercules ont montré des différences significatives entre elles et une supériorité par rapport à l'amidon recueilli dans les farines de céréales [19].

*Boxe 2 : Qualités des amidons des tubercules tropicaux*

L'igname est une plante à multiplication végétative. Une partie des tubercules récoltés constitue le matériel semencier utilisé pour la saison de culture suivante. L'absence de passage par la graine favorise une augmentation de la charge parasitaire et peut conduire à des chutes de rendements progressives. La taille et la qualité des tubercules semence sont des variables clés dans la performance car elles influencent à la fois la taille de l'appareil aérien, l'initiation de la tubérisation et la durée du remplissage des tubercules au cours d'une saison de culture. L'approvisionnement en semences est une contrainte au système de culture d'igname. Actuellement cet approvisionnement, ne répond pas aux besoins d'homogénéité nécessaire pour réduire la variabilité d'émergence et améliorer les performances du système. En effet les semences traditionnelles constituées de petits tubercules entiers ou de fragment de tubercules, présentent des tailles variables, mais également des inégalités constitutives puisqu'il existe un gradient physico-chimique longitudinal et des différences entre tubercules qui entraîne une forte hétérogénéité des ressources disponibles d'un semencier à l'autre. L'existence d'un gradient de précocité de germination entre les portions distale et proximale d'un même tubercule d'igname est responsable d'une partie de la variabilité inter-plants exprimée dès les premiers stades de culture, ce qui n'est pas le cas pour la pomme de terre ou la patate douce pour lesquelles un tubercule entier ou un fragment de tige est utilisé lors des plantations. Par ailleurs, les conditions de stockage et la durée de conservation des tubercules sont susceptibles de réduire fortement la qualité semences [15].

*Boxe 3 : Plante à multiplication végétative et gestion de l'hétérogénéité du matériel de plantation*

de l'igname à la compétition.

### **A. Sensibilité de l'igname à la compétition**

La vulnérabilité de l'igname à la compétition est en grande partie justifiée par la présence d'un système racinaire très superficiel et d'un port lianescent difficilement compatible avec l'établissement d'une architecture foliaire hiérarchisée et performante en termes d'interception de l'énergie lumineuse. Cela explique en grande partie la forte variabilité de production [15]. En Afrique, la compétition entre plusieurs ignames est rare car la construction de billons, combinée à une densité de semis adaptée, minimise les interactions inter-plants (0.4 à 0.8 plantes par m<sup>2</sup>). En revanche, la compétition inter-plants est féroce en Guadeloupe où la densité de semis est beaucoup plus importante (2.2 plantes par m<sup>2</sup>). Le type de conduite culturale mis en place par les producteurs est décisif pour garantir la production [16]. La compétition adventice est majoritaire et accentuée par l'impossibilité de recourir aux herbicides. Les dispositifs de culture tuteurés constituent une alternative intéressante pour limiter la compétition lumineuse mais en contre-parti, favorise le développement des adventices en libérant l'espace au sol. L'installation de ces supports verticaux s'accompagne donc nécessairement de sarclage fréquent et nécessite du temps, de la main d'œuvre et un coût supplémentaire que les agriculteurs ne peuvent additionner aux contraintes déjà supportées pendant la récolte non mécanisée. Par ailleurs, l'utilisation de paillage, organique ou non, associée au choix de variétés adaptées à la croissance à plat, constitue une alternative intéressante pour l'agriculteur qui parvient à mieux gérer l'enherbement sans augmenter le temps consacré à la culture. Les dispositifs de culture à plat étant largement préférés, le développement de méthodes de phénotypage adaptées aux plantes rampantes est nécessaire pour caractériser la variabilité morphologique et déterminer les traits à sélectionner pour améliorer la tolérance des plantes à la compétition adventice. Ainsi, les variétés capables de recouvrir rapidement le sol sont compétitives pour l'interception de la lumière [31].

### **B. Le brunissement des tubercules**

La couleur de la chair et son maintien au cours du temps sont des critères d'acceptation majeurs des tubercules d'igname. Pourtant, les produits proposés sur le marché ne sont pas à la hauteur des attentes des consommateurs. La couleur peut également être corrélée à d'autres paramètres physiques, indicateurs chimiques et sensoriels qui complètent l'évaluation qualitative des tubercules. Le brunissement est l'une des principales réactions qui affectent les aliments à la suite d'une blessure ou lors de l'épluchage (Boxe 4). L'oxydation induit leur assombrissement et les ignames sont alors moins attrayantes pour les consommateurs [2]. En Afrique de l'ouest, les produits de couleur brune sont très appréciés tandis que l'intérêt de la population asiatique se porte davantage sur les variétés à chair violacée. Dans les Antilles, les exigences sont portées sur la blancheur de la chair. Bien que des procédures de blanchiment et autres procédés de transformation améliorent l'acceptabilité des produits à base d'igname, la préférence des consommateurs pour les tubercules frais encourage la recherche de variétés tolérantes au brunissement, d'autant plus que les prétraitements (séchage, blanchiment) affectent la qualité nutritionnelle des produits [35].

Ce phénomène résulte essentiellement de l'oxydation enzymatique des composés phénoliques par la polyphénol-oxydase (PPO) et la peroxydase (POD). La PPO catalyse l'oxydation des composés phénoliques en quinones et polymères de mélanoïdine dont le rôle est de protéger la chair des infections. Parmi les composés phénoliques identifiés chez l'igname, figurent la caténine, la catécholamine, les anthocyanes et les composés cinnamiques. Le principal composé phénolique rencontré chez *D.alata* est une catécholamine. L'intensité du brunissement est proportionnelle à la concentration en phénols du produit. L'assombrissement des tissus dans l'igname fraîche est plus fort et précoce dans les portions distale et médiane, supposant que la cinétique du brunissement est contrôlée par la présence du gradient physico-chimique longitudinal. La concentration en composés phénoliques, la teneur en matière sèche et l'activité de la POD sont également plus importants dans ces mêmes régions. En revanche, la PPO ne présente pas de régionalisation spécifique à l'échelle du tubercule et semble être moins impliquée dans le processus de brunissement que la POD. De plus, l'induction du brunissement peut être multifactoriel, d'origine enzymatique ou non ; les différentes réactions peuvent être synergiques et affecter les produits de façon concomitante, limitant notre compréhension et l'identification des facteurs déterminants ce phénomène. En effet, dans une moindre mesure, des réactions non-enzymatiques telles que la polymérisation et la complexation des polysaccharides avec des protéines ou des métaux entraînent le brunissement des tubercules. La coloration des aliments peut apparaître à la suite de la complexation d'un sucre et d'un acide aminé, respectivement par leurs groupements carbonyle et amine, au cours de la réaction de Maillard. Outre les acides aminés et les sucres réducteurs, la réaction de Maillard peut prendre en charge d'autres composés tels que les lipides, les aminophospholipides et l'acide ascorbique. Enfin, la simple dégradation des sucres peut provoquer des variations de coloration des produits appelée réaction de caramélisation. Une corrélation positive entre la couleur et les propriétés antioxydante est établie lors de la réaction de Maillard, probablement grâce à la formation de mélanoïdine brune [2].

Boxe 4 : Le brunissement chez l'igname

### III. Phénotypage adapté au contexte tropical

La sélection génomique, très efficace, rapide et peu coûteuse permet de proposer une vaste gamme de variétés. Néanmoins, elle repose toujours sur la validation par des études phénotypiques, bien trop lentes pour atteindre les objectifs actuels. Le principal problème lié à la connaissance de la ressource génétique est l'incertitude avec laquelle les traits génétiques vont s'exprimer phénotypiquement. Cette limite est d'autant plus marquée chez les espèces clonales, pour lesquelles l'hétérozygotie élevée augmente considérablement les effets génétiques additifs, dominants et épistatiques [13]. Le manque de méthodes de phénotypage adaptées aux plantes tropicales explique l'insuffisance des connaissances acquises ces dernières années sur la physiologie de l'igname pour déterminer les traits intéressants à phénotyper et exploiter la variabilité génétique. Les avancées sont d'autant plus limitées que les outils de phénotypage développés sur les plantes modèles ne sont pas transposables aux cultures tropicales [15]. Celles-ci sont souvent biologiquement éloignées des plantes modèles (i.e port lianescent, produits de récoltes souterrains) et les systèmes nationaux de recherches disposent de moins de moyens techniques et financiers pour les étudier.

Actuellement, les travaux de recherches sur l'igname se sont davantage concentrés sur *D. alata*, pour son caractère hautement productif, son aptitude à la culture non-tuteurée et pour la durée de conservation des tubercules qu'elle produit. Les croisements génétiques réalisés entre différents cultivars ont dans un premier temps visé à accroître le rendement et à obtenir des tubercules de forme plus homogène en proposant des variétés précoces pour compenser les disparités observées lors de l'émergence. Pourtant, la compétitivité vis-à-vis des adventices et les traits de qualité restent à l'heure actuelle un enjeu majeur pour atteindre des rendements stables et satisfaire les consommateurs. Le développement de méthodes de phénotypage haut débit adaptées aux systèmes de cultures tropicaux présentant une forte plasticité phénotypique, amélioreraient la capacité des programmes de sélection à caractériser ces traits agronomiques pour l'élaboration de variétés performantes. L'amélioration des techniques de phénotypage doit nécessairement intégrer l'étude des organes souterrains [13][22]. En effet, les plantes géophytes peuvent être identiques sur la base de l'analyse morphologique des parties aériennes mais présenter d'importantes différences anatomiques au niveau des tubercules. Actuellement, l'étude du système racinaire est souvent destructive, invasive, laborieuse et basée sur l'excavation de l'appareil souterrain [30] ; Boxe 5).

#### A. Phénotypage au champ basé sur l'analyse d'images

Les plates-formes de phénotypage sur le terrain répondent aux exigences actuelles en termes de rapidité et de précision puisqu'elles permettent l'évaluation des plantes cultivées à grande échelle sans modifier l'expression des traits en réponse aux interactions génotype-environnements. Elles s'appuient sur l'utilisation de dispositifs mobiles, aériens ou terrestres. Les outils de phénotypage au sol, appelés phénomobiles, sont des véhicules équipés de capteurs [36]. Le débit du phénotypage au sol est inférieur à celui obtenu par les dispositifs aériens compte tenu de l'aspect « roulant » des phénomobiles. Les mesures simultanées de toutes les parcelles d'un essai ne sont donc pas réalisables depuis ce type de véhicule. Cependant, les véhicules terrestres présentent souvent une meilleure résolution.

Le phénotypage haut débit des cultures au champ fait intervenir différentes méthodes d'imagerie basées sur les interactions entre les objets et la lumière dans différentes longueurs

Le manque de méthodes de phénotypage adaptées aux plantes dont les produits sont souterrains empêche l'estimation précoce de la production. L'utilisation du temps thermique et quelques tentatives de modélisation [24] cumulé représente une approche non destructive appropriée à l'estimation des stades d'enracinement ou de tubérisation, comme cela a été démontré chez la patate douce et la pomme de terre mais ne répondent pas aux objectifs de débits fixés pour permettre une amélioration rapide des variétés d'igname. De même, si les facteurs déterminants la productivité des céréales sont clairement établis, les études portées sur la croissance et le développement de l'appareil souterrain des plantes à racines et tubercules, sont quasi-inexistantes alors qu'elles participent très largement à la sécurité alimentaire mondiale [22][27]. Des études antérieures supposent l'influence de l'architecture du système racinaire sur le potentiel de production des plantes à racines et tubercules et encouragent le développement de méthode de phénotypage racinaire. La physiologie, la morphologie et la distribution des racines de pomme de terre sont corrélées à la croissance des tubercules. Chez la patate douce, le développement des racines latérales est un facteur déterminant de l'initiation et du remplissage des racines de stockage car elles fournissent des éléments de croissance directement profitables aux racines adventives. De même, le développement de racines latérales inhibe la lignification des stèles accordant une certaine plasticité anatomique aux racines adventives favorable à la formation des organes de stockage. Les plantes dont les racines latérales n'ont pas émergé développent des stèles lignifiées qui inhibent le gonflement localisé dans les structures racinaires. Ces observations permettent d'établir une bonne corrélation entre croissance du système racinaire et rendement pour la pomme de terre et la patate douce où le rhizome gonfle pour former le tubercule mais pas dans le cas de l'igname où la croissance de l'appareil souterrain est réalisée par l'allongement continu de l'apex racinaire.

*Boxe 5 : Les avancées du phénotypage racinaires des plantes à racines et tubercules*

d'ondes puisque, chaque type de tissu végétal présente des propriétés d'absorbance, de réflectance et de transmittance spécifiques de certains spectres lumineux. Ces méthodes de phénotypage rapides et non destructives présentent une forte répétabilité et permettent de mesurer une grande diversité de paramètres agronomiques telles que la teneur en azote des feuilles, l'émergence, la phénologie et la biomasse des cultures [36]. Le phénotypage haut débit en plein champ permet de modéliser dans le temps et dans l'espace le développement et la performance de plantes en interaction mutuelle dans un environnement hétérogène, exerçant une pression adaptative continue à l'origine de la diversité phénotypique des cultures. Les plates-formes de phénotypage sur le terrain répondent donc aux exigences actuelles en termes de rapidité et de précision puisqu'elles permettent l'évaluation des plantes cultivées à grande échelle sans modifier l'expression des traits en réponse aux interactions génotype-environnement [30]. Par ailleurs, l'étude des cultures présentant une très forte variabilité, telle que l'igname, doit nécessairement être menée dans un environnement naturel pour caractériser la performance des cultures et définir les meilleurs écotypes.

### **B. Imagerie multispectrale**

L'utilisation de caméras multi ou hyperspectrales permet de mesurer la proportion de rayonnements émis par les plantes dans différentes longueurs d'ondes. Il s'agit d'une méthode non invasive et non destructrice qui permet l'acquisition d'une centaine d'images en une seule mesure pour couvrir l'ensemble du spectre électromagnétique entre le visible et le proche infrarouge en mode continu [32][4]. Dans le spectre visible, la réflectance des feuilles est faible puisque la chlorophylle présente un pic de réflectance caractéristique de cette région spectrale. En revanche, les mesures effectuées dans le proche infrarouge s'accompagnent d'une nette augmentation d'émissions lumineuses : dans le proche infrarouge, le rayonnement n'est pas absorbé par les feuilles mais transmis puis réfléchi par l'ensemble de l'appareil aérien. La spectroscopie infrarouge fournit alors d'importantes informations sur la phénologie et le phénotype de la canopée [10] et est particulièrement adaptée à la conception de modèle de croissance et de prédiction des rendements. En effet, les mesures de réflectance permettent de quantifier les indices de végétation nécessaires à l'évaluation rapide des différents paramètres tels que la biomasse verte, la surface foliaire, la teneur en chlorophylle et en azote, la sénescence des feuilles et de la canopée ainsi que le rendement [12]. Par exemple, l'indice de bord rouge normalisé NDRE et l'indice de végétation par différence normalisée NDVI donnent accès à la teneur en chlorophylle [32] et fournissent des estimations précises de la concentration en azote à l'échelle de la feuille. Le couplage de spectres de réflectance des feuilles et de la canopée permet d'estimer indirectement la teneur en azote des feuilles à l'échelle de la parcelle puisqu'il existe une corrélation positive entre la concentration en azote foliaire et les profils spectraux. En effet, la transformation de l'azote génère une variation des propriétés optiques des feuilles [14]. Le NDRE constitue l'outil le plus adapté à l'établissement de profil de sénescence et fournit des renseignements sur les rendements attendus en fonction de contraintes environnementales données, tout au long du cycle de culture. Les images multispectrales permettent l'évaluation chronologique de la sénescence en mesurant la dégradation des pigments lors de la photosynthèse. Une étude sur la pomme de terre suppose que l'augmentation du taux de chlorophylle observée pendant la sénescence n'est pas corrélée à une augmentation de l'assimilation du carbone mais à un stress oxydatif, réduisant ainsi le rendement. Le LAI



(Leaf Area Index) est également utile pour évaluer la fraction du rayonnement photosynthétiquement actif directement profitable au remplissage des tubercules en fin de cycle. L'utilisation des indices de végétation permet de soustraire l'effet induit par une émergence asynchrone entre les plantes d'une même parcelle, ce qui est particulièrement intéressant dans l'étude de l'igname dont les dates d'émergence peuvent être très échelonnées [32]. La combinaison de l'imagerie spectrale avec des plates-formes aériennes de télédétection constitue la meilleure option pour le phénotypage sur le terrain en permettant de saisir la variabilité phénotypique des cultures qui interagissent continuellement avec leur environnement. Les résultats obtenus à partir des plateformes de phénotypage haut débit ayant adopté la télédétection corroborent avec ceux obtenus par les méthodes de phénotypage traditionnelles, confirmant la robustesse de ces approches dans les programmes de sélection. Cependant, la quantité de données générées à partir d'images spectrales, les difficultés d'interprétations et les investissements financiers requis pour l'obtention de caméras multi ou hyperspectrales freinent l'adoption de ces dispositifs dans les pays en développement [4].

### **C. Phénotypage pas imagerie numérique**

L'émergence de nouveaux outils d'imagerie permet de mesurer plusieurs traits quantitatifs simultanément et dans plusieurs dimensions avec une haute résolution. La photographie génère des images dans le visible (espace RGB) qui correspondent à une reproduction numérique de la perception humaine dans deux dimensions. Il s'agit d'une méthode simple, rapide et abordable qui donne accès à des matrices de pixels qu'il est possible de corriger et de convertir dans différents espaces couleurs en fonction des objectifs expérimentaux [23]. Son application dans le phénotypage végétal est souvent combinée aux mesures effectuées dans la région spectrale infrarouge pour l'estimation de la biomasse verte. Cependant, cette méthode est limitée par les mesures en deux dimensions et la sensibilité des capteurs passifs aux variations d'éclairement (réflectance, chrominance, luminance) et par conséquent, nécessite l'implémentation d'algorithmes robustes capables de corriger les supports numériques dans des conditions expérimentales très variables. La normalisation du phénotypage numérique, associée au développement d'algorithmes de segmentation d'images, constitue une alternative intéressante pour le phénotypage en milieu tropical.

## **IV. Objectifs du stage**

Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet de recherche intitulé « Caractérisation et valorisation de la biodiversité végétale tropicale d'intérêt agronomique » (Cavalbio). L'objectif principal du projet Cavalbio est de contribuer au développement de filières ignames durables en Guadeloupe, et plus largement dans les Antilles Françaises, en appuyant par des recherches cognitives et méthodologiques l'émergence de solutions variétales adaptées aux enjeux régionaux. L'objectif de ce stage est donc de proposer des méthodes de phénotypage adaptées au contexte socio-économique des régions tropicales pour l'étude de l'évolution du couvert végétal, de l'oxydation de la chair de tubercules et des paramètres physico-chimiques de l'amidon sur une collection d'ignames en Guadeloupe.

### **A. Le suivi du couvert végétal au champ**

Dans les régions tropicales, le suivi de l'indice de surface foliaire est traditionnellement basé sur une simple évaluation visuelle du couvert par un ou plusieurs expérimentateurs lors de



passages répétés au champ. Cette procédure n'étant pas normalisée, les résultats obtenus par les différents partenaires scientifiques ne permettent pas la mise en commun des données expérimentales et donc, d'envisager un travail collaboratif d'amélioration variétale à grande échelle. Comptes-tenus des faibles ressources financières des instituts de recherches tropicaux, l'utilisation d'un capteur multispectral bon marché a été intégré pour réaliser des études de phénotypage basées sur l'analyse d'images dans le domaine du visible pour le suivi des traits agronomiques pertinents. Le traitement de données multispectrales est souhaité dans un futur proche mais n'est pas présenté dans ce travail. Cette initiative vise à harmoniser les procédures techniques pour l'acquisition puis le traitement des données. Le développement d'une méthode précise et robuste pour suivi du LAI sous des conditions lumineuses non contraintes est donc proposé dans le cadre de ce stage. Ce développement méthodologique intègre un modèle de classification des motifs statistiques préalablement développé par Denis Cornet, permettant de distinguer les feuilles de l'environnement. Dans la partie visible du spectre, le sol réfléchit moins la lumière incidente que le couvert. Ce modèle s'appuie sur la création de deux classes, l'une correspondant à la plante, l'autre à l'environnement. L'échantillonnage de pixels typiques du couvert végétal d'une part, et de pixels n'en faisant pas partie d'autre part, a permis la construction d'un modèle probabiliste de classification des motifs statistiques appliqué à tous les pixels de l'image. Le nombre d'itérations est fixé arbitrairement à 20 répétitions pour chacune des classes. Concrètement, il s'agit d'entraîner un modèle linéaire discriminant en sélectionnant manuellement 20 pixels de feuilles et 20 pixels de sol. On cherche ensuite la meilleure combinaison des variables prédictives (i.e. les valeurs R, G, B, h, s, v et leurs combinaisons) permettant de déterminer l'appartenance des pixels à l'une des deux classes définies, feuille ou sol. Il s'agit donc ici d'intégrer ce modèle dans une méthode tenant compte de la surface délimitée au champ et de l'orientation de l'appareil photographique lors des captures d'images pour mesurer l'indice de surface foliaire (LAI). Les objectifs du stage sont donc de (i) détecter le couvert végétal sur la zone d'intérêt par analyse d'image (intérieur du quadra), (ii) de proposer un dispositif technique normalisé simplifiant le traitement des images et (iii) de quantifier la performance de 12 variétés d'igname à recouvrir le sol (*D. alata*).

### **B. Le suivi de la dynamique de brunissement des tubercules par analyse d'images**

Dans les régions tropicales, l'évaluation de la couleur de la chair des tubercules est réalisée visuellement, indépendamment des conditions extérieures (heure de la journée, exposition à la lumière du jour ou non). Cette procédure n'est donc ni adaptée à la caractérisation objective de la couleur de la chair, ni aux objectifs de haut débit. L'utilisation d'un chromamètre a été testée dans le cadre de stage mais les résultats ont rapidement montré que ce dernier est inadapté au phénotypage des surfaces visqueuses, telles que la chair fraîche des tubercules d'igname, et limitée à une surface d'étude de quelques centimètres carrés. L'utilisation du chromamètre s'avère donc intrinsèquement inappropriée pour évaluer la cinétique d'oxydation des tissus à l'échelle d'un ou plusieurs tubercules sur de longues expérimentations. La méthode proposée ici s'appuie sur l'utilisation d'un appareil photographique permettant de saisir la variabilité de couleur de plusieurs tubercules simultanément et qui offre la possibilité d'automatiser la capture d'images à intervalles de temps réguliers afin dresser un portrait dynamique du processus de brunissement. En revanche



les propriétés intrinsèques des caméras et les variations lumineuses constituent une limite majeure. Lors de la numérisation, l'instabilité de l'éclairage et la sensibilité des capteurs numériques modifient le rendu perceptuel des couleurs et ne permet pas l'harmonisation des données expérimentales. L'analyse des images nécessite donc une correction préalable des déviations induites par ces deux facteurs en appliquant des modèles mathématiques adaptés. Les objectifs ici sont donc (i) de développer un dispositif technique normalisé pour l'acquisition des données numériques, (ii) d'extraire et de corriger l'information de couleur des échantillons en développant des algorithmes robustes de traitements des images et (iii) de caractériser l'évolution de la couleur de la chair sur un large éventail de variétés.

### **C. Phénotypage des paramètres physiques de l'amidon par analyse d'images**

Traditionnellement, le phénotypage des grains d'amidon chez l'igname associe une colorisation non normalisée des granulats à l'iode et la capture des images au microscope, suivies d'une interprétation subjective des résultats [18]. L'iode présente en effet une forte affinité pour les résidus ramifiés de l'amidon et permet donc leur mise en évidence sur les lames et le phénotypage des paramètres de taille (surface) et de forme des grains (coefficient d'aplatissement, correspondant au rapport du plus petit diamètre sur le plus grand). Pour permettre un traitement automatisé des données par analyse d'image, les proportions relatives optimales en eau et en iode de la solution de travail doivent être fixées pour garantir un fort contraste entre les grains d'amidon et l'arrière-plan de l'image. Ce point est déterminant pour la détection des objets et donc, pour la mesure précise de paramètres physiques des grains (surface, périmètre, petit et grand diamètres, nombre de grains). L'excès ou la dilution excessive des farines induit la formation d'amas indissociables ou une faible quantité de grains détectables sur l'image. Les travaux d'un stage mené en parallèle de celui-ci, par Maritza Couchy, ont permis de déterminer les concentrations en iode (5%) et en farine des échantillons (20mg/mL). Sur la base de ce protocole expérimental, les objectifs de ce stage sont donc de proposer des algorithmes robustes pour normaliser et accélérer l'analyse des données d'imagerie microscopiques selon plusieurs modalités d'observations (grossissements 100 et 400) pour caractériser les grains d'amidon.

## **Matériel et méthodes**

### **I. Expérimentation**

#### **A. Sites**

Les données recueillies et analysées pour développer les méthodes de phénotypage proviennent exclusivement de l'essai mis en place en 2017 en Guadeloupe sur les stations expérimentales de Duclos, Petit-Bourg (16°120' N, 61°39' O, 125 m a.s.l.) et de Godet, Petit-Canal (16°20' N, 61°30' O, 10 m a.s.l.). Les deux sites présentent des caractéristiques pédologiques contrastées (Tableau 1). Le site de Duclos présente des Oxisols alluviaux profonds faiblement acides avec une capacité d'échange cationique relativement élevée. Celui de Godet présente des Vertisols légèrement basiques avec un contenu en azote faible mais une capacité d'échange cationique et une concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  très élevée. Les caractéristiques climatiques de la Grande Terre (station de Godet) et de la Basse Terre (Petit-Bourg) sont elles aussi contrastées. Les conditions climatiques en Basse-Terre sont plutôt humides et les

Site	pH de l'eau	Matière organique g kg <sup>-1</sup>	Azote total g kg <sup>-1</sup>	CEC mol(+) kg <sup>-1</sup>	Calcium g kg <sup>-1</sup>	Taille des agrégats [µm]		
						< 2	2-50	> 50
Oxisol	6.1	33.4	2.3	0.175	0.111	0.49	0.45	0.06
Vertisol	8.1	41.3	1.8	0.522	0.499	0.78	0.15	0.07

Tableau 2 : Caractéristiques chimiques et distribution granulométrique des agrégats du sol Oxisols à Duclos et vertisol à Godet

températures relativement fraîches par rapport à celles mesurées en Grande-Terre où le climat est chaud et sec. Les précipitations annuelles sont d'environ 2500 mm répartis régulièrement tout au long de l'année à Duclos, contre 1200 mm à Godet où l'évapotranspiration potentielle dépasse généralement les précipitations de Janvier à Juin. Les températures mensuelles maximales et minimales sont comprises entre 29 et 21°C à Duclos et 30 et 23°C à Godet.

### **B. Matériel végétal**

Le matériel végétal comprend 12 variétés de *D. alata*, issues des récoltes de l'essai implantés à Duclos et à Godet l'année précédente. Ces variétés ont été rassemblées en 2016 au sein d'une mini collection appelée Colziyanm dont le but est de regrouper les variétés d'intérêt pour la recherche aux Antilles tout en conservant un maximum de diversité génétique [6]. En effet, l'igname est une culture de diversification importante. Sa conduite reste extensive et les agriculteurs possèdent un panel variétal plus large que pour les cultures de rente. Cependant, face aux changements globaux cette diversité variétale ne permet pas une adaptation suffisamment rapide. C'est pourquoi il est important de créer et sélectionner des variétés adaptées aux contraintes de production et aux besoins des acteurs de la filière.

### **C. Conduite culturale**

Après deux labours croisés réalisés fin mars à Duclos et à Godet, un fumier bovin composté a été apporté à hauteur de 40t/ha deux semaines plus tard, soit mi-mars. Enfin un billonnage est venu compléter le travail du sol en réalisant des billons espacés de 150 cm. L'irrigation au goutte-à-goutte a été installée et déclenchée en fonction des besoins. Après le paillage des parcelles (Figure 5), les semenceaux d'igname (fragments de tubercules d'environ 100 grammes) ont été plantés tous les 30 cm sur le billon, le 14 mai à Duclos et le 5 juin à Godet.

### **D. Dispositif expérimental**

La répartition des génotypes sur la parcelle suit une randomisation complète (Annexe 1). Chaque unité expérimentale, comprenant chacune un génotype, est répartie sur deux billons accolés comprenant chacun 10 plants (Boxe 6). Les plants sont espacés de 30 cm chacun au moment de la plantation. Les billons sont séparés les uns des autres par un espace de 1 m. Les unités expérimentales partageant le même billon sont séparées les unes des autres par un espace de 2 m. Afin d'éviter les effets de bordure entre les parcelles expérimentales, un billon vide est installé en bordure de champ.

### **E. Opérations post-récolte**

La récolte des tubercules s'est déroulée de décembre à mars 2018, en fonction de l'atteinte de maturité des 12 variétés d'igname (état de sénescence complète). Les tubercules ont été conservés dans un local sous des conditions de température, luminosité, ventilation et humidité non contraintes. Une semaine après la récolte, des échantillons de farine ont été préparés à partir des tubercules. Pour chaque combinaison site-variété, trois tubercules ont été utilisés pour le phénotypage de la couleur de la chair et des grains d'amidon ; une fois photographiés, les trois tubercules ont été épluchés, lavés puis détaillés grossièrement en dés de 2 cm de côté. Le matériel frais a été placé à l'étuve maintenue à 70°C pour une durée de sept

La culture d'igname requière des sols aérés et drainants car les contraintes mécaniques et la stagnation de l'eau entraînent des malformations du tubercule. En effet, la croissance des organes souterrains est médiée par un allongement continu de l'apex racinaire, et diffère des mécanismes d'épaississement de structures préexistantes observées chez d'autres plantes à racines et tubercules telles que le manioc, la patate douce et le taro. Cette particularité complexifie la mise en place de la culture dans les sols peu poreux, impropices la croissance gravitropique positive des tubercules. En réponse à cette contrainte, la construction de billons permet d'une part de faciliter la récolte et d'autre part, d'éviter la stagnation de l'eau responsable du pourrissement des tubercules. A l'inverse, même si l'engorgement hydrique des sols contrarie la croissance des organes souterrains, l'igname est une culture exigeante en eau dont les rendements sont corrélés positivement à la pluviométrie [13][15][16].

*Boîte 6 : Intérêts de la culture d'igname sur billon*



*Figure 5 : Dispositif de paillage papier sur le site de Duclos (à droite de l'image) et en résidus de canne à sucre sur le site de Godet (à gauche de l'image). Les photographies ont été capturées lors de la saison culturale 2017 (à droite) ou 2018 (à gauche)*

à dix jours, avant d'être utilisé pour la préparation des farines. Le matériel sec a été broyé à 0,25 mm par l'intermédiaire d'un broyeur à couteau puis tamisé à 0.2 mm pour garantir la finesse des farines.

## **II. Acquisition des images numériques**

### **A. Acquisition des images numériques du couvert végétal**

Les photographies du couvert végétal ont été acquises sur une période de 12 mois à raison d'une séance par semaine de l'émergence à la récolte, soient 52 séances permettant l'acquisition de 2496 photographies dans le domaine spectral visible sous l'illuminant standard D65 (CIE Illuminant ; ISO 3668). Parmi les images récoltées, seules celles contenant du couvert végétal ont été soumises au traitement informatique des données. En absence d'igname sur les images, un LAI égal à zéro a été attribué, correspondant soit à une absence de développement de l'appareil aérien (pas d'émergence), soit à dégradation complète de celui-ci. Ainsi, l'analyse informatique a été portée sur 1515 images.

Les images ont été collectées au champ sous des conditions d'éclairage naturel à l'aide du capteur multispectral Parrot Sequoia + dans le domaine du visible (espace RGB), sur les sites de Duclos et de Godet. L'installation de quadras a été nécessaire pour garantir la répétabilité spatio-temporelle des mesures (Figure 6). Le quadra correspond à la surface de sol étudiée pour le suivi du LAI et est matérialisé par un cadre en PVC de 1.5 m \* 1 m. Ce dernier est disposé aux mêmes endroits lors de chaque passage au champ par l'intermédiaire de piquets de repère. Pour chaque variété, 2 quadras sont positionnés sur les parcelles, soient 24 quadras par site. Les images ont été prises « à bout de bras » à la verticale, expliquant les déviations de perspectives directement liées à la taille et à la position de l'expérimentateur. Ainsi, la distance, l'orientation et la perspective de la caméra par rapport au couvert sont inconstantes et constituent une limite importante du dispositif. Dans l'idéal, l'utilisation d'un support pour fixer et maintenir la position de l'appareil aurait pu être incluse mais cette condition n'étant pas adoptée par de nombreux partenaires, son application n'a pas été réalisée dans le but de créer une base de données homogènes pour développer une méthode de phénotypage commune.

### **B. Acquisition des images numériques de la chair des tubercules d'igname**

#### **• Capture des images pour la calibration de la méthode**

Pour chaque combinaison variété-site, trois tubercules de tailles variables mais représentatifs du génotype en termes de formes (ronde, conique, allongée ou plate) ont été photographiés. Ils sont ensuite pesés entiers puis sectionnés longitudinalement. Cette étape est exécutée le plus rapidement possible et constitue le T0 du suivi de la dynamique de brunissement. Les héli-tubercules sont disposés chacun dans 3 territoires équisurfaciques préalablement délimités sur le fond noir, le quart inférieur droit accueillant systématiquement le vérificateur de couleurs (Figure 7). L'introduction d'un vérificateur de couleur commercial ColorChecker® Classic X-Rite dans la scène de capture a permis d'inclure des références colorimétriques pour la calibration des modèles de transformations. Ce vérificateur est composé de 24 carrés de couleurs différentes dont les valeurs sont connues dans plusieurs espaces couleurs [23](Boîte 7). Les images ont été collectées dans un local maintenu en conditions d'éclairage artificiel. Deux lampes halogènes (500W) combinées à des réflecteurs ont été placées



Figure 6 : Quadra de mesure pour le suivi du LAI au champ

Les appareils numériques classiques génèrent des images dans l'espace colorimétrique RGB (RGB CIE 1931 Color Space). La distribution des couleurs dans cet espace n'est pas linéaire. L'analyse des images générées après numérisation nécessite donc l'application d'une transformation non linéaire afin de s'abstraire des contraintes de capture de l'information et de corriger la sensibilité inégale des différents capteurs (luminance, contraste, couleurs). Cette procédure assure la conversion des couleurs dans un espace indépendant du périphérique de capture tels que sRGB, XYZ ou L\*a\*b (XYZ CIE 1931 Colorspace ; L\*a\*b CIE 1931 Color Space) à partir desquelles l'application de transformation linéaire des couleurs est possible. Le choix de l'un ou l'autre de ces espaces colorimétriques est conditionné par leur propriétés individuelles et par les arguments des fonctions utilisées sous R.

Boxe 7 : Les espaces de couleurs

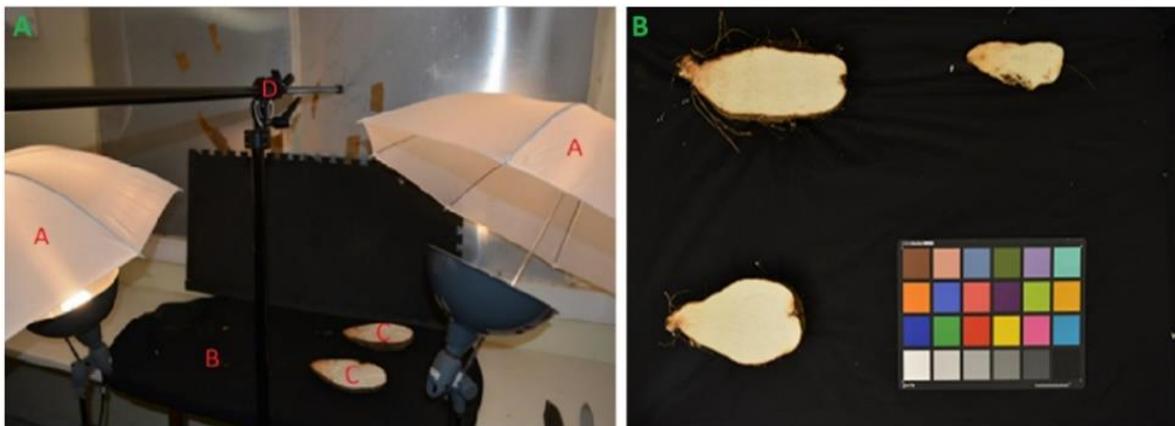


Figure 7 : A gauche, dispositif de capture des images des tubercules pour le phénotypage du brunissement l'igname. L'équipement comprend deux lampes halogènes munies de réflecteurs blancs (A), un arrière-plan noir matte en tissu (B) en support des tubercules (C) et un pied de fixation pour l'appareil numérique (D). A droite, photographie type utilisée pour le phénotypage de la dynamique d'oxydation des tubercules, présentant 3 tubercules et le vérificateur commerciale de référence.

placées de part et d'autre de la scène de capture pour assurer l'illumination diffuse et homogène des échantillons. De plus, l'orientation des réflecteurs a été fixée à 45° et maintenue pour l'ensemble des prises photographiques car l'angle d'incidence de la lumière influence la quantité de rayonnement reçue par les tubercules et la qualité des images numérisées. La température est maintenue à 24°C par un climatiseur split mural avec diffusion indirecte de l'air frais. Les photographies ont été réalisées à l'aide d'un capteur Digital Camera Nikon D5200. Le matériel a été paramétré comme suit : mode automatique, intervallo-mètre actif (une image numérisée toutes les 30 secondes pendant 15 minutes, soient 30 images par accession et par site), zoom désactivé, absence de flash. La distance entre l'objectif et les échantillons est constante (50cm), de même que l'emplacement de la perche à trépied sur laquelle est fixé l'appareil (Figure 7A). La position de l'appareil est établie et conservée sur l'intégralité de l'expérimentation pour garantir l'invariabilité de position des tubercules d'une image à l'autre afin de suivre l'évolution de la couleur de chacun des pixels constitutifs de la chair.

- **Construction d'un vérificateur personnalisé de référence pour la validation des modèles**

Un vérificateur personnalisé a été construit à partir de couleurs typiques de la chair de tubercules extraites sur les photos originales à partir du logiciel Gimp (Figure 8). La cible personnalisée intègre donc 4 gradients représentatifs des quatre couleurs de chair d'igname. La dimension des carrés a été respectée et est identique à celle des carrés figurant sur la cible de calibration pour permettre l'utilisation des mêmes algorithmes de reconnaissance utilisés pour l'extraction des références sur vérificateur commercial. Des mesures au chromamètre (Minolta CR300, Processer DP 301) ont permis de référencer l'ensemble des carrés colorés sous l'illuminant standard D65 dans les espaces de couleurs XYZ et L\*a\*b. La cible personnalisée a été imprimée sur une feuille de papier A4 classique et placée dans la scène de capture pour valider la performance des modèles (Figure 8).

- **Evaluation de l'effet du capteur et de l'environnement sur la qualité des images**

Les photographies ont été réalisées dans trois environnements lumineux contrastés : i) lumière naturel directe par temps nuageux, ii) lumière provenant d'un néon ou iii) lumière diffusée par deux lampes halogènes munies de réflecteurs. Trois appareils numériques, munis de capteurs différents, ont été utilisés : i) appareil Nikon Digital Camera D5200, ii) appareil numérique Panasonic Lumix et iii) téléphone portable SonyXperia, Lumia. Les vérificateurs commercial et/ou personnalisé ont été placés dans la scène de capture puis photographiés selon les couples de modalités possibles capteur-éclairage. Les écarts des distances perceptuelles des couleurs après numérisation par rapport aux valeurs de références des deux vérificateurs ont ensuite été mesurés à l'aide du DeltaE 2000 (Section matériel et méthodes, p14).

### **C. Acquisition des images numériques microscopiques des grains d'amidon**

Une solution de bétadine commerciale (à 5% de diiode) a été utilisée pour préparer une solution de travail et permettre la révélation colorimétrique de l'amidon, en raison de son accessibilité et du gain de temps apporté (Figure 9). Les farines utilisées proviennent des trois tubercules photographiés pour le suivi du brunissement de la chair, soit trois tubercules pour



Figure 8 : Cible colorimétrique commercial de calibration à droite de l'image et cible personnalisée de validation à gauche de l'image

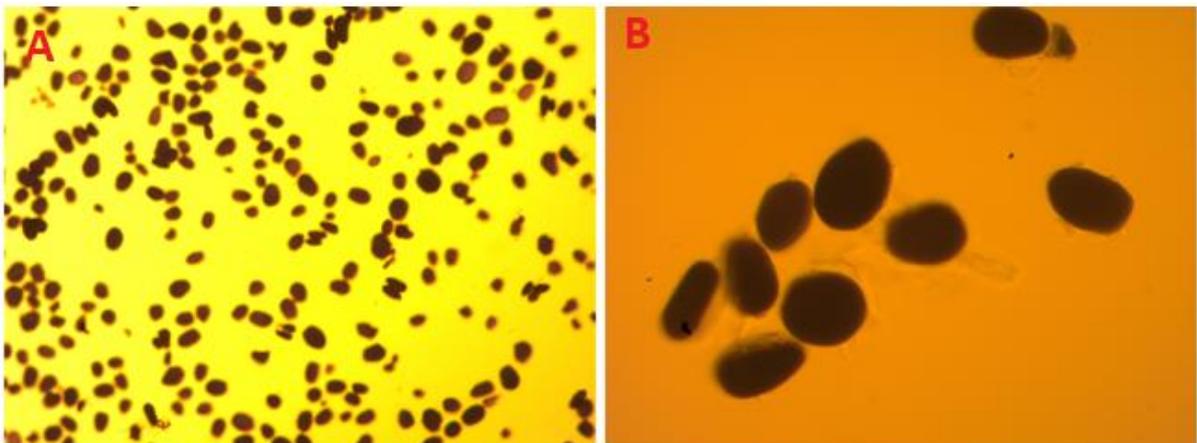


Figure 9 : Photographies des grains d'amidon de farine d'igname aux grossissement 100 (A) et 400 (B)

chaque combinaison site-variété. Au total, 72 échantillons de farine ont été répartis dans des microtubes (Eppendorf, 2mL), à raison de 30 mg de farine par microtubes. Un volume de 1.5mL de bétadine a ensuite été ajouté dans chacun d'entre eux pour obtenir une solution d'amidon concentrée à 20g/L, comme établie par les travaux d'une autre stagiaire de l'équipe (voir introduction p8). Après une heure d'incubation à température ambiante, les lames sont montées et analysées au microscope optique (Carl Zeiss Microscopy, Axio Scope A1) selon deux modalités d'observations : grossissement 100 et 400. Le microscope est muni d'une caméra (AxioCam ERc5s). L'exploitation des données en sortie du périphérique numérique requiert l'utilisation du logiciel Zen (Carl Zeiss Microscopy GmbH, version 2.3 blue edition, 2011).

### III. Traitements des données-images

Toutes les étapes de traitement et d'analyse d'images ont été réalisées à partir du logiciel OpenSource R (R version 3.4.1) afin de maintenir l'accessibilité et la durabilité des trois méthodes proposées. L'utilisation de fonctions préexistantes disponibles dans certaines bibliothèques et l'implémentation d'algorithmes supplémentaires ont été nécessaires pour le traitement des données numériques. Le traitement des images a nécessité des étapes de segmentation d'images d'une part, et de détection des objets d'autre part. Ces dernières peuvent être conduites par l'intermédiaire de différents algorithmes en fonction des objectifs à atteindre. Des explications approfondies des principales étapes de l'analyse d'images et des algorithmes mathématiques utilisés sont proposées en annexe 2.

#### A. Traitement des images du couvert végétal

Le traitement des images du couvert végétal a nécessité une étape de pré-traitements des images pour permettre l'extraction de l'information de surface (quadras). De ce fait, l'analyse des images n'est donc que partiellement automatisée. L'ajout manuel de quatre points de couleur bleue dans chacun des coins des quadras a été réalisé à l'aide du logiciel Paint (Figure 10). La couleur des points est fixée pour l'intégralité du processus. Pour diminuer le temps de pré-traitement, un outil spécifique a été développé sur R pour ajouter rapidement les quatre points dans les coins du cadre. Cet outil assure le déroulement automatique des images dès que l'apposition des quatre marques est réalisée.

##### *Segmentation des images et détection des objets*

A partir des images prétraitées sur Paint, l'application d'une fonction de seuillage a permis de conserver uniquement les pixels dont les valeurs RGB sont identiques à ce seuil. Les valeurs RGB du seuil sont égales aux valeurs RGB de la couleur bleue utilisée pour le marquage des coins des quadras. L'opération de segmentation est illustrée en figure 10B. L'algorithme de recherche des enveloppes convexes a été utilisé pour détecter la surface délimitée par le quadra à partir des régions segmentées sur l'image initiale (Annexe 2, Figure 11C et D). L'utilisation d'un modèle de classification des motifs statistiques, préalablement construit par Denis Cornet, a permis d'extraire les pixels constitutifs du couvert végétal sur la base de l'inégalité des propriétés de réflexion de la lumière des différents matériaux (Section introduction, page 7). A l'issue de ce premier traitement, les images sont converties en noir et blanc par binarisation de l'ensemble des pixels (Figure 11E).



Figure 10 : Capture d'image du couvert végétal à bras levé. La position de l'expérimentateur entraîne la distorsion du quadra après numérisation de l'image (A) et nécessite un pré-traitement sur Paint pour fixer des points de repères

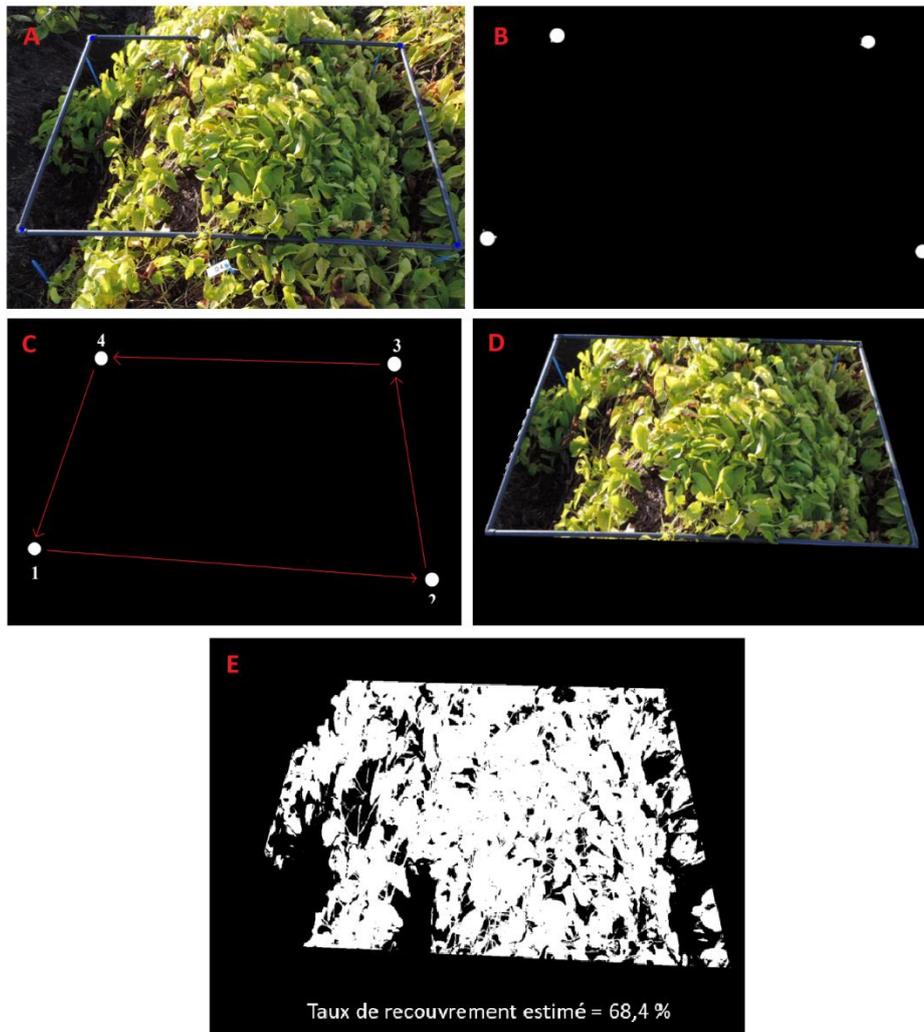


Figure 11 : Extraction de la surface d'étude (quadra) par création d'une enveloppe convexe (C et D), construite à partir de la position des quatre repères de l'image binaire (B). Extraction des pixels du couvert végétal de l'intérieur du quadra par application du modèle de classification des motifs statistiques (E)

### *Choix du modèle de suivi de l'évolution du LAI*

Pour modéliser l'évolution du LAI au cours du cycle biologique de l'igname, plusieurs modèles mixtes ont été construits à partir de fonctions retenues au cours d'une recherche bibliographique menée en amont et pendant le stage. Le choix des fonctions testées repose sur leurs caractères non-linéaires, leur capacité à décrire des phénomènes biologiques et sur le nombre raisonnable de paramètres qu'elles intègrent pour s'ajuster à la courbe à la distribution de données de LAI (Annexes 3). Toutes ces fonctions candidates ont été testées mais seule celle capable de modéliser le plus fidèlement l'évolution du LAI chez l'igname a été retenue pour la comparaison des variétés. Dans cette étude la librairie *medrc* a été utilisée pour étendre, sous R, le cadre d'analyse de la librairie *drc* et *nlme* et ainsi automatiser les modèles de régressions non-linéaires avec des effets mixtes. Ainsi les différences entre quadras et entre sites non expliquées par les observations réalisées, sont incorporées en tant qu'effets aléatoires, alors que la variété est considérée comme un effet fixe.

### *Mesure des performances des méthodes proposées*

Le calcul des AIC, BIC et AICc, correspondant à trois critères utilisés pour la sélection des modèles, a été utilisé pour vérifier la performance des modèles proposés (Annexe 3). La meilleure fonction a été choisie sur la base de ces trois critères qui permettent de tester les performances d'un modèle en incluant une pénalisation proportionnelle au nombre de paramètres du modèle afin d'éviter la sur-paramétrisation. Les valeurs des paramètres d'ajustement des différents modèles sont comparées aux valeurs réelles, c'est-à-dire mesurées, de ces paramètres sur la collection d'igname. Les écarts à la moyenne ont ensuite été calculés. Le modèle présentant le plus petit écart est retenu pour la modélisation prédictive du LAI.

## **B. Traitement des images de la chair des tubercules**

### *Segmentation des images et détection des objets*

Une fonction de seuillage regroupant des valeurs RGB proches de la couleur noire a été utilisée lors de la première étape de segmentation. Le fond noir a ainsi été supprimé et les régions correspondant aux tubercules et aux carrés du vérificateur (commercial et/ou personnalisé suivant la nature des images) ont été conservées (Figure 12). Des opérations morphologiques d'érosion/dilatation ont été appliquées pour supprimer les éléments polluants (présence de tâches ou de débris de tubercules sur le fond noir au moment des photographies). Dans certains cas, la segmentation a entraîné la suppression non désirée du carré noir présent sur le vérificateur dont la couleur n'est pas suffisamment éloignée du seuil pour permettre la distinction entre le carré et le fond noir. Un algorithme de relocalisation des carrés manquants, basé sur les propriétés géométriques des objets, a donc été nécessaire pour réintégrer cette l'information perdue à partir des coordonnées x et y. Les trois tubercules, ainsi que les 24 carrés des cibles ont pu être localisés et extraits du fond sur l'ensemble des 781 images capturées (Figures 12 et 13).

La détection des tubercules d'une part, et des carrés colorés d'autre part, a été réalisée par l'application d'un algorithme de recherche de connexité, disponible dans la librairie *Rvision*. Cette fonction permet de détecter les objets sur la base de leur forme et de mesurer plusieurs paramètres sur les objets détectés, telles que la position, la hauteur, la largeur, la surface et la couleur.

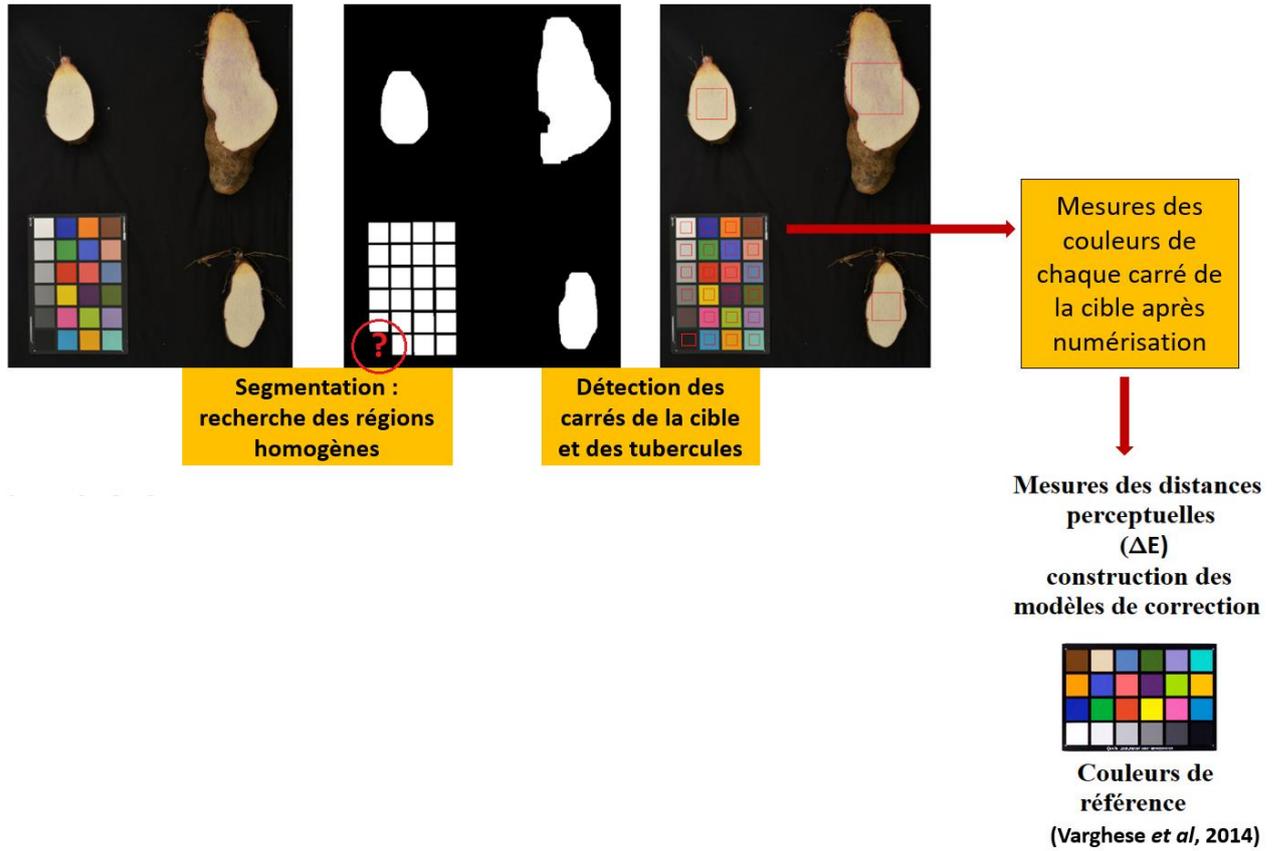


Figure 12 : traitement des images de brunissement et calibration des modèles de correction des couleurs par calcul des distances perceptuelles DeltaE2000



Figure 13 : Cible colorimétrique commercial de calibration à droite de l'image et cible personnalisée de validation à gauche de l'image

Par la suite, les valeurs RGB de chaque carré coloré du vérificateur (commerciale et/ou personnalisé) ont pu être extraites. La détection des tubercules a ensuite été opérée par utilisation de l'algorithme des k-moyennes. Cette méthode permet de détecter et de différencier des objets de formes variables et donc, les tubercules ovoïdes des carrés du vérificateur. Les valeurs RGB de la chair ont ensuite été calculées pour chaque tubercule au cours du temps, permettant d'obtenir une cinétique de l'évolution des indices de blancs.

#### *Choix des modèles de correction des couleurs*

Le choix des modèles a été réalisé à l'issue d'une recherche bibliographique, menée au cours du stage. Ainsi, trois modèles ont été testés pour corriger les couleurs des photographies de chair de tubercules : le modèle de transformation rigide, les régressions polynomiales d'ordre croissants (du degré 1 jusqu'au degré 4) et la correction du blanc (Annexe 2).

#### *Mesure des performances et choix de la méthode*

L'efficacité de la correction des couleurs a été mesurée pour la correction du blanc et les modèles de transformation rigide ou polynomiaux. Les modèles de corrections calibrés à partir de la cible commerciale (sur base des valeurs théoriques et mesurées) ont été appliqués aux photographies des cibles commerciales et la cibles personnalisées (Figure 13). L'efficacité de compensation des couleurs, c'est-à-dire la capacité des modèles à corriger une image, est quantifiée sur tous les carrés colorés des cibles après numérisation. La quantification des distances perceptuelles,  $\Delta E_{2000}$ , a été utilisée pour évaluer l'efficacité des transformations utilisées. Le calcul des  $\Delta E_{2000}$  sur les correctifs de la cible commerciale, ayant servi à la calibration des modèles, a permis de déterminer le modèle susceptible de fournir les meilleurs résultats lors de la validation. Le calcul des  $\Delta E_{2000}$  sur les carrés de la cible personnalisée après correction a été utilisé pour la procédure de validation.

### **A. Traitement des images des grains d'amidon**

#### *Segmentation des images et détection des objets*

Le traitement des images a été développé pour permettre la mesure de la surface et du coefficient d'aplatissement des grains d'amidon à partir des images capturées aux grossissements 100 et 400. Les images ont été converties en nuances de gris pour assurer la première segmentation (Figure 14.a). Deux opérations morphologiques successives ont ensuite été appliquées pour supprimer les débris d'organites et l'ensemble du bruit (Figure 14.b). La binarisation des images a ensuite permis de séparer l'arrière-plan des régions correspondant aux grains d'amidon, intégraux ou fragmentés (Figure 14.c). Néanmoins, la détection des objets sur une image est parfois être problématique lorsque la distance qui les sépare n'est pas suffisante pour que la rupture d'homogénéité soit établie lors de la segmentation (Figure 15). La binarisation conduit alors à la fusion de régions correspondant en réalité à des objets distincts. Pour séparer les grains fusionnés, l'algorithme des bassins versants a été appliqué. Ce dernier permet de rechercher les sommets des régions sur des images topographiques et de détecter autant d'objets que de sommets. A l'issue de cette étape, les grains d'amidon, initialement agglomérés sur l'image, sont séparés puis étiquetés par différentes couleurs (Figure 14.f). Enfin, les objets tronqués, positionnés en bordure de l'image, sont supprimés pour ne pas compromettre les

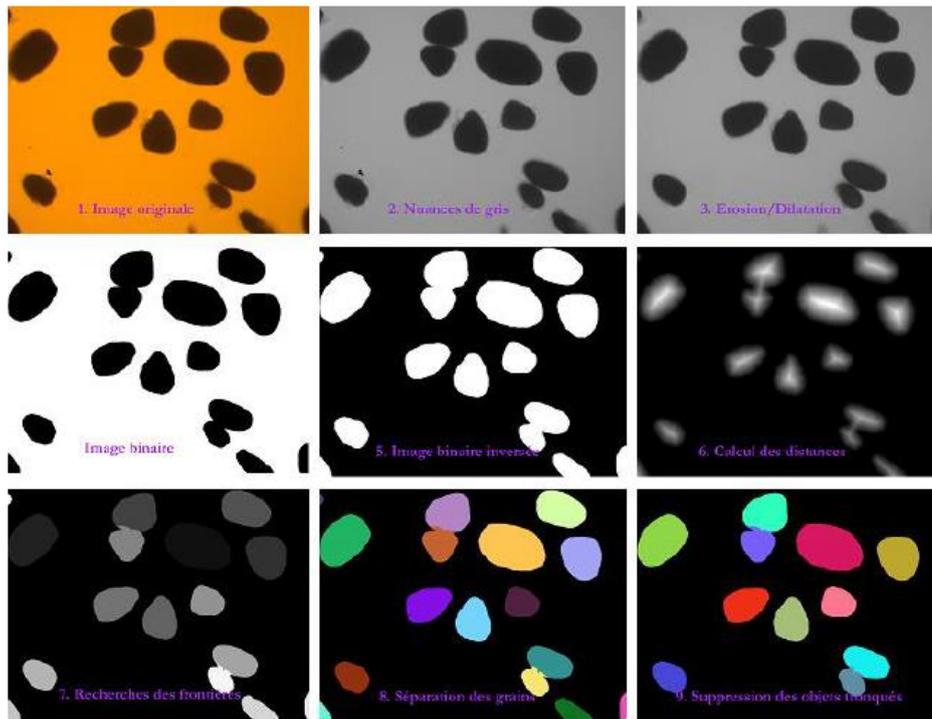


Figure 14 : Procédure de segmentation d'image microscopique réalisée au grossissement 400 pour la détection et l'isolement des grains d'amidon. (n= 55 000)

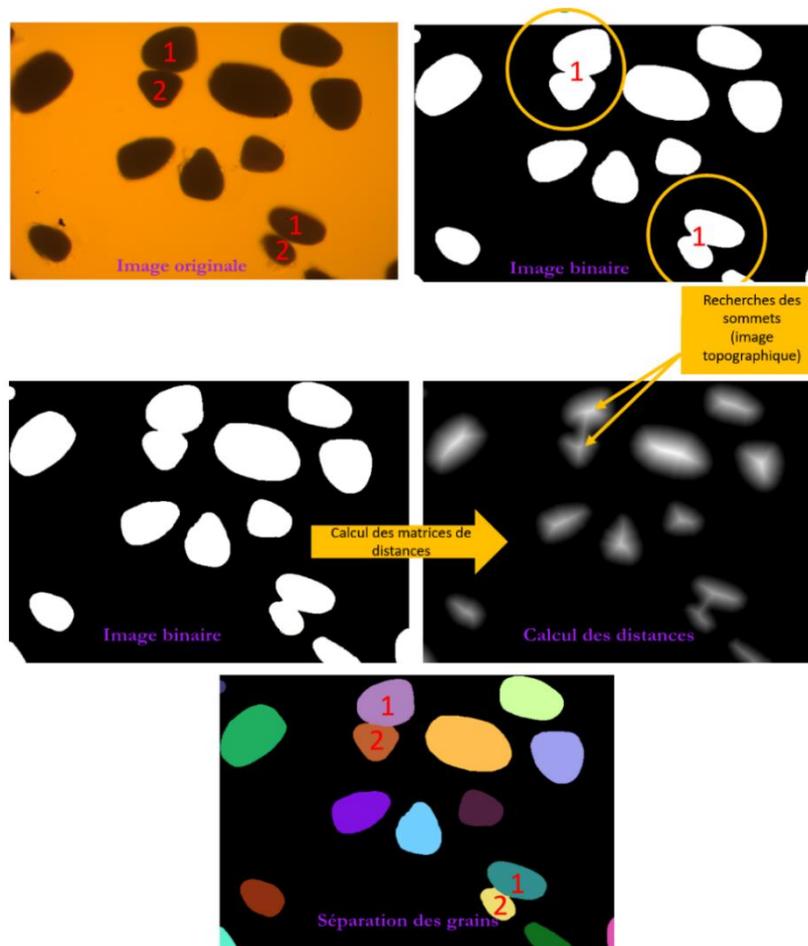


Figure 15 : Séparation des grains d'amidon par l'application de l'algorithme des bassins versants au grossissement 400

mesures de taille et de forme des grains d'amidon (Figure 14.g). L'ensemble des transformations a été opéré selon deux modalités d'observation (grossissements 100 et 400), sur l'ensemble des photographies.

#### *Mesure des performances de la méthode*

L'utilisation du logiciel ImageJ a permis de mesurer les surfaces des grains d'amidons aux grossissements 100 et 400 ainsi que le diamètre minimal et maximal. Les images ont été calibrées à l'échelle du pixel pour calculer les matrices de distance. A partir des valeurs de diamètre, les coefficients d'aplatissement ont été calculés par le rapport de la plus grande longueur sur la plus petite longueur.

## Résultats et discussion

### I. Phénotypage du couvert végétal

#### A. Performance du traitement d'images

Le LAI a été calculé par le rapport du nombre de pixels appartenant à la classe « végétation » sur le nombre total de pixels détectés par l'algorithme de recherche des enveloppes convexes, c'est-à-dire les pixels délimités par le quadra. L'évaluation visuelle des images après transformation montre que la méthode proposée pour quantifier le couvert végétal décrit bien la réalité physique projetée en deux dimensions, permettant ainsi de distinguer efficacement l'igname de l'environnement (Section « Matériel et méthodes, Figure 11). Cependant, même si la séparation des deux classes par le traitement des images est satisfaisante, l'estimation du LAI reste approximative et contrainte par la distorsion des perspectives provoqué par le dispositif de capture d'image. Ainsi, la méthode permet bien d'évaluer l'étalement de la plante sur une région de l'image donnée, mais cette région ne correspond pas à la surface délimitée au champ. Cependant, nous considérons que le biais est identique pour l'ensemble des images et que la comparaison des variétés sur la base du LAI estimé permet l'étude de différences inter-variétales.

#### B. Application à la collection de travail : modélisation de l'évolution du LAI

A partir des LAI estimés sur l'ensemble des images, la dynamique d'évolution de cet indice a été étudiée sur les 12 variétés durant l'entièreté du cycle cultural. Les résultats obtenus sont présentés en figure 16. L'allure des courbes montre des différences de dynamiques inter-variétales en fonction du site et de la position du quadra sur la parcelle. L'effet du quadra, bien que représenté graphiquement, ne peut pas être traité comme une répétition puisque la randomisation complète de la parcelle supprime l'information de position des blocs. Il n'y a donc pas de répétition spatiale au sens stricte, mais des pseudo-répétitions. La présence de deux sites introduit deux pseudo-répétitions supplémentaires. Afin de prendre en compte la variabilité expliquée par le quadra et le site sans pour autant leur donner un caractère prédictif, nous avons utilisés des modèles mixtes. Ainsi, les quadras et les sites ont été introduits comme facteurs aléatoires dans les modèles mixtes testés. Le calcul du BIC montre que le modèle le plus performant, présentant le plus petit écart avec les valeurs mesurées des cinq paramètres d'ajustement, est le modèle double logistique (Tableau 2).

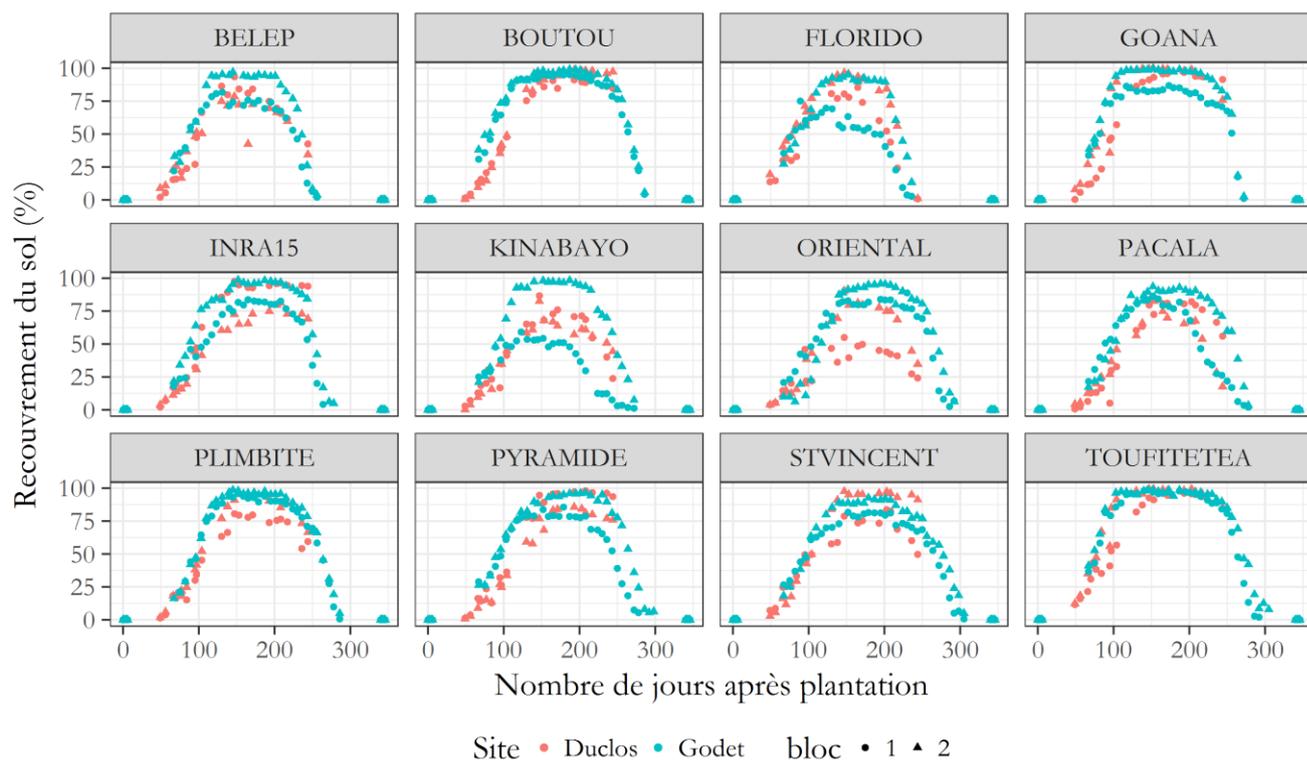


Figure 16 : Evolution du LAI de 12 variétés d'igname (*D. alata*) en fonction du site, du bloc et des jours après plantation sur l'année 2016 -2017. (n=1515)

Modèle	Nb param	ddl	AIC	BIC	AICc	Référence
Double logistique	5	76	8665	9064	8674	Beck et al 2006
Pseudo-Voigt modifié	4	55	9374	9663	9379	Archantoulis et Miguez 2015
Pseudo-Voigt	4	55	9729	10018	9734	Archantoulis et Miguez 2015
Log Normal	3	43	11370	11596	11372	Archantoulis et Miguez 2015
Beta Growth function	3	43	11816	12042	11819	Yin et al. 2008

Tableau 2 : Quantification des distances moyennes entre les valeurs prédites par les différents modèles mixtes et les valeurs réelles du LAI par l'intermédiaire des AIC, BIC et AICc. n=1515

Le modèle Pseudo-Voigt modifié est légèrement moins performant que le modèle double logistique, avec des BIC égales à 9663 et 9064 respectivement. La fonction double logistique retenue pour modéliser l'évolution du LAI peut s'écrire de la manière suivante [9] :

$$y = y_{max} \left( \frac{1}{1 + e^{-k_{up}(x-x_{up})}} + \frac{1}{1 + e^{-k_{down}(x-x_{down})}} - 1 \right)$$

Où  $y$  est le LAI,  $x$  le nombre de jours après plantation,  $y_{max}$  le LAI maximum,  $k_{up}$  et  $k_{down}$  les taux de croissance et décroissance de la courbe aux points d'inflexion  $x_{up}$  et  $x_{down}$  respectivement.

La figure 17 illustre l'ajustement du modèle double logistique à la dynamique d'évolution du LAI de chaque variété. L'influence du quadra et du site sur l'allure des courbes est prise en compte comme effet aléatoire dans le modèle. La modélisation des phases de croissance, de décroissance et de saturation de la production (plateau) illustre la réalité du phénomène biologique. En revanche, l'utilisation de modèle mixte ne permet pas la comparaison classique de moyennes deux à deux (e.g. Tukey HSD) et le calcul des probabilités de retrouver une différence fortuite (p-value) entre les paramètres de deux variétés. A titre indicatif, et afin de vérifier le caractère discriminant du modèle, les valeurs moyennes des cinq paramètres ont été estimées pour chaque variété ainsi que leur intervalle de confiance à 95% (Figure 18). En première approximation, nous estimerons que deux variétés présentent des paramètres significativement différents si leurs intervalles de confiance ne se chevauchent pas. La figure 18 montre une variabilité importante pour les paramètres liés à la phase de croissance et au LAI maximum ( $y_{max}$ ,  $k_{up}$  et  $x_{up}$ ). L'existence d'une variabilité intra-variétale pour ces paramètres, commune à l'ensemble des variétés (dispersion forte mais de même ordre de grandeur pour chaque variété), suppose un effet de l'environnement (i.e. le quadra et le site). A l'inverse les paramètres de la phase de décroissance varient peu pour un même génotype. Cette observation révèle que le site et le quadra influencent la dynamique de croissance des plantes mais n'ont que peu d'effet sur la phase de sénescence.

En somme, la méthode développée pour le traitement des images a été efficace sur l'ensemble des images capturées sur la saison de culture 2017, bien que le LAI estimé soit largement contraint par le dispositif de capture d'image au champ. L'outil proposé constitue néanmoins une avancée par rapport aux études traditionnellement mise en place dans les régions tropicales où l'estimation visuelle du LAI est fondée sur des estimations humaines. La méthode proposée n'a donc pas permis de quantifier précisément le LAI mais a permis la comparaison des génotypes entre eux sur la base de leur rapidité à couvrir le sol après plantation et donc, de renseigner sur les génotypes les plus compétitifs vis-à-vis de la compétition adventice. Le modèle permet de discriminer les génotypes sur la base de dynamique de sénescence et de durée d'indice foliaire vert, en relation avec la tubérisation et le remplissage des tubercules. Des études plus approfondies pourraient donc permettre à l'avenir de lier le rendement des tubercules à un état de l'appareil aérien (indice de végétation). Les objectifs d'efficacité et de robustesse du traitement des images sont donc atteints mais les contraintes techniques doivent nécessairement être établies lors de l'acquisition des données numériques pour permettre une quantification du couvert et la modélisation de la dynamique de recouvrement. Les pistes d'amélioration envisagées sont détaillées dans la section conclusions et perspectives.

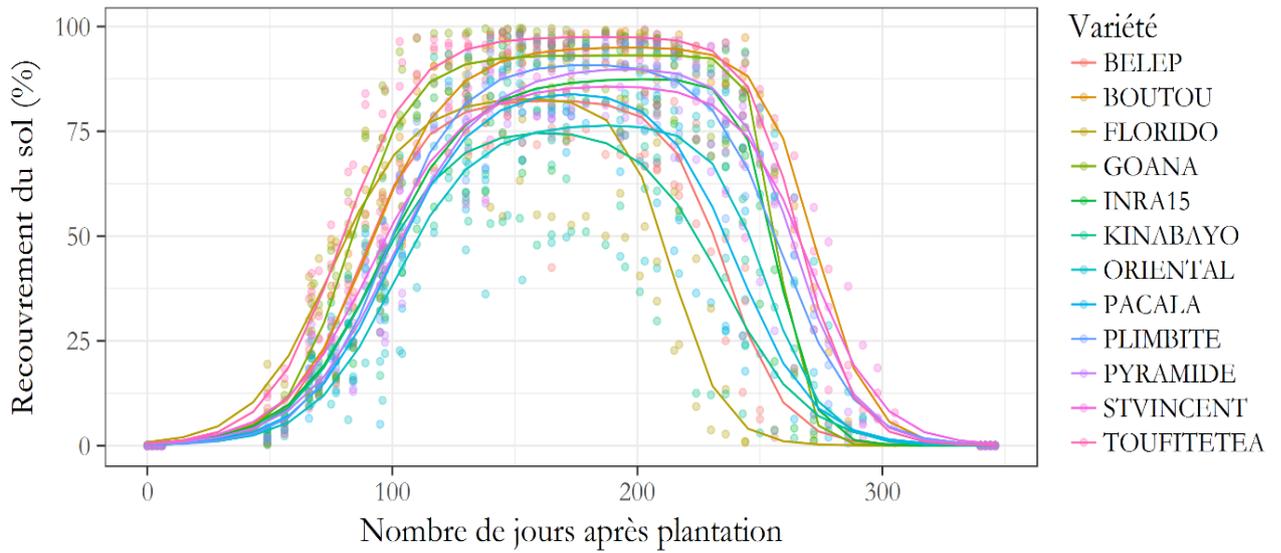


Figure 17 : Ajustement du modèle mixte non linéaire double logistique à la distribution du LAI, en fonction du nombre de jours après plantation et de la variété. (n=1515)

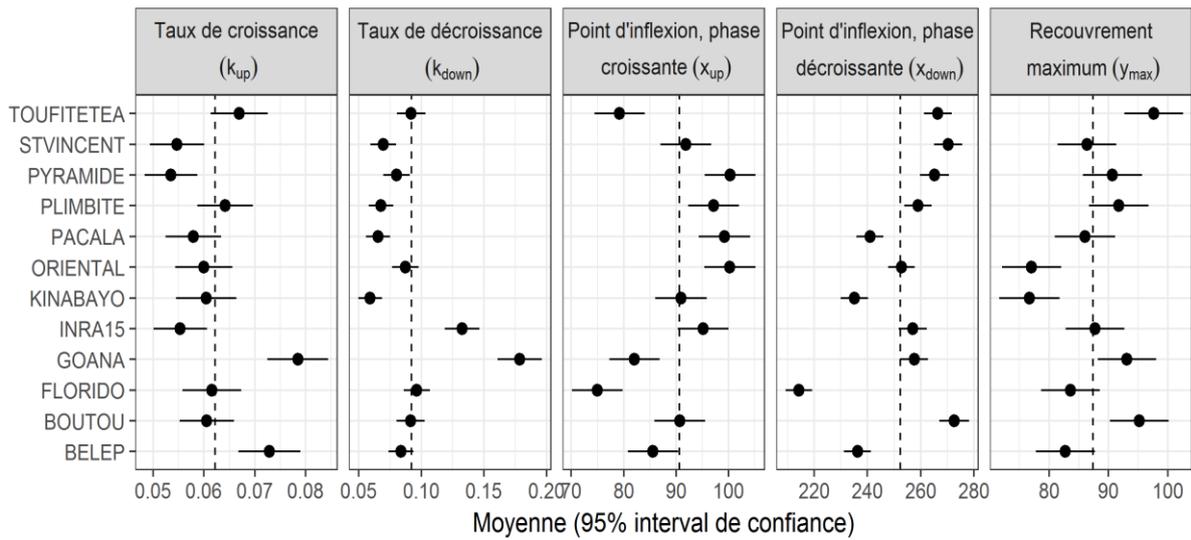


Figure 18 : Validation du modèle mixte prédictif de l'évolution du LAI de 12 variétés d'ignames. Calcul des distances moyennes des valeurs observées par rapport aux paramètres du modèle. L'intervalle de confiance est fixé à 95%. (n=1515)

## II. Phénotypage de la couleur de la chair des tubercules au cours du temps

### A. Performance du traitement d'images

La procédure de traitement des images a globalement bien fonctionné sur l'ensemble de la base de données mais l'application d'une fonction de seuillage globale appliquée lors de la première segmentation n'a pas permis d'extraire l'ensemble des régions d'intérêt en une seule étape. En effet, le carré coloré noir du vérificateur, inscrit dans une gamme de couleur trop proche de celle du fond utilisé, ne présentait pas un contraste suffisant et n'a pas été retenu après binarisation. L'extraction des carrés manquants à partir des coordonnées géométriques a certes permis de réintégrer l'information perdue mais l'ajout de cette étape supplémentaire a réduit la rapidité de la méthode et sa transposabilité. En effet, les coordonnées renseignées dans la fonction sont propres à l'objet manquant, ce dernier pouvant varier d'une image à l'autre. Les opérations suivantes, telle que l'extraction des pixels des carrés du vérificateur et de la chair des tubercules ont été correctement appliquées sur l'ensemble de la base de données et les modèles de correction ont ainsi pu être calibrés. Le calcul des indices des blancs a ainsi permis de comparer la couleur de la chair des 12 variétés dans le temps (Figure 19). La Figure 20 illustre la diversité des couleurs de tubercules mesurées dans l'espace  $L^*a^*b$ . La gamme de variation sur l'axe bleu-jaune est beaucoup plus étendue que sur l'axe vert-rouge.

### B. Application à la collection de travail : suivi du brunissement et correction des couleurs

La figure 18 montre que pour les variétés sensibles au brunissement, l'oxydation de la chair est initiée rapidement après coupure et particulièrement intense dans les deux premières minutes. Pour les variétés telles que Saint-Vincent et Oriental, l'indice de blanc décroît rapidement en début d'expérimentation. En revanche, la chair des ignames ne manifeste pas de variations chromatiques perceptuellement significatives au-delà des deux premières minutes à Duclos, contrairement aux tubercules de Godet qui continuent de brunir légèrement. De plus, le brunissement semble légèrement plus important en moyenne à Duclos. Dans la littérature, il est supposé que la fertilisation ait un impact sur la dynamique de brunissement chez l'igname [27]. Il semblerait que l'augmentation du brunissement en réponse à l'apport de fertilisant soit d'origine non-enzymatique et que cet effet soit d'autant plus important que l'apport est réalisé sous forme organique. L'application d'un paillage papier à Duclos et d'un paillage en résidus de canne à sucre à Godet, entraîne une différence d'apports de matières organiques à l'échelle de la saison culturale. L'apport de matière organique issue de la dégradation de la canne à sucre est supérieur à celui obtenu par la dégradation du papier (carton recyclé). Le maintien d'une décroissance légère de l'indice de blanc sur les tubercules récoltés à Godet suppose qu'il existe probablement un effet de la fertilisation sur la dynamique de brunissement chez l'igname.

D'autres géotypes sont à l'inverse plus résistants à l'oxydation, comme Florido, variété initialement très blanche qui ne montre aucune variation de l'indice de blanc au cours du temps, quel que soit le site expérimental. Par ailleurs, la variété Pacala, de visu la plus foncée des échantillons, présente à la fois le plus petit indice de blanc initial et une très faible variation de cet indice au cours du temps. Ces résultats montrent que les traits de couleurs et du maintien de cette stabilité dans le temps sont bien deux traits différents et que la couleur initiale du tubercule n'influence pas sa stabilité et son devenir au cours du temps.

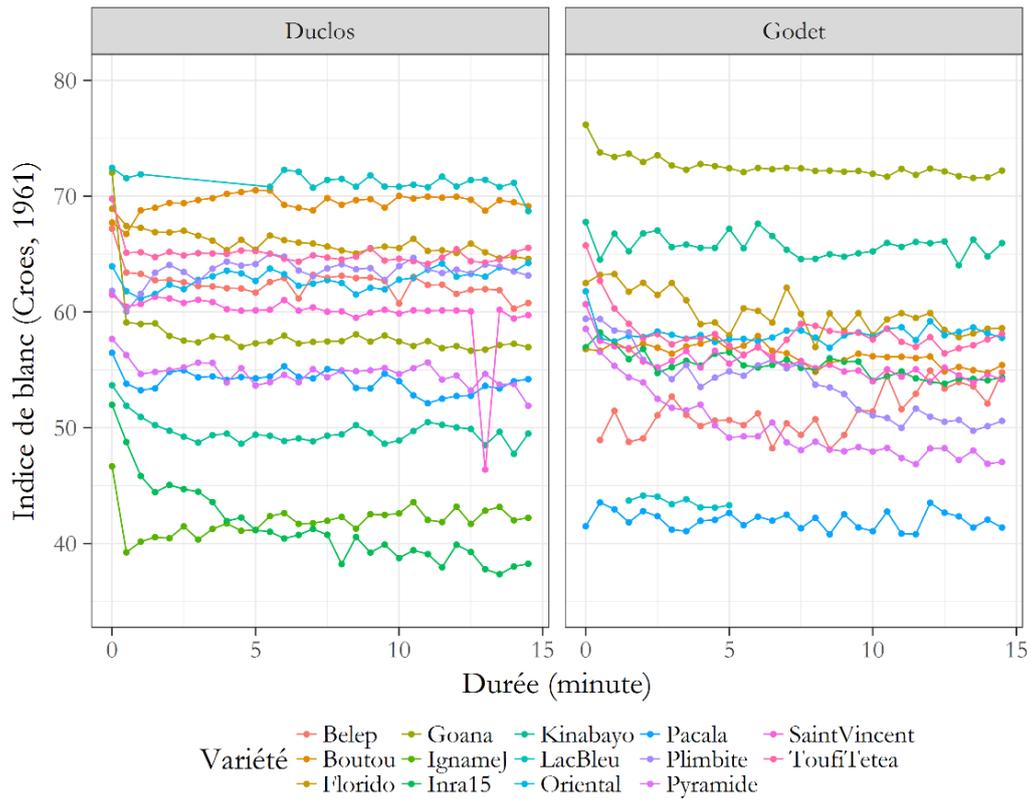


Figure 19 : Cinétique d'oxydation de la chair de 12 variétés d'igname (*D. alata*), cultivées dans deux environnements pédoclimatiques contrastés. (n=781)

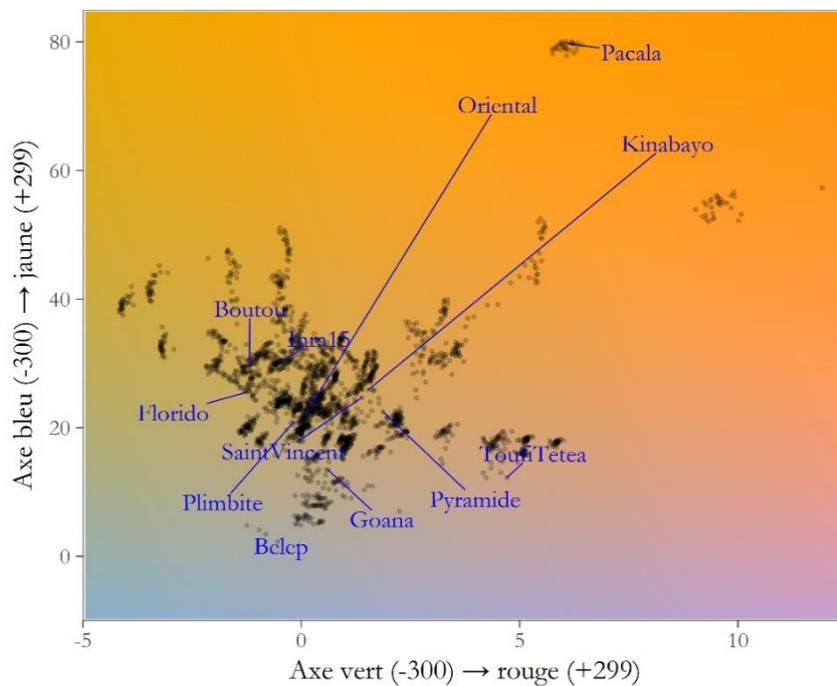


Figure 20 : Distribution spectrale de la chair de 12 variétés d'ignames dans l'espace colorimétrique  $L^*a^*b^*$ . (n=781)

L'allure brisée des courbes montre que la numérisation d'un signal lumineux n'est pas linéaire d'une photographie à l'autre compte-tenu du caractère oscillatoire de la lumière (Figure 19). En effet, l'environnement lumineux et le type de capteurs entraînent d'importantes déformations des couleurs au cours de la numérisation. L'amplitude de ces erreurs dépend de la source d'éclairage d'une part et de la sensibilité inégale des capteurs aux changements d'environnements lumineux. Les chutes brutales des indices de blanc, visibles à Duclos, ne témoignent pas d'un brunissement soudain mais d'une mauvaise interception du signal. L'influence du capteur et de l'éclairage ont été quantifiés par le DeltaE2000 selon trois modalités d'éclairage et 3 types de capteurs numériques. Les résultats sont présentés en figure 21. L'éclairage directe, naturel (lumière du jour) ou artificiel (néons), induit de fortes variations chromatiques, en particulier sur les images capturées avec le Sony et le Lumix. Bien que le capteur de la caméra Digital Nikon D5200 présente les meilleurs résultats en termes de stabilité de la couleur au cours du temps en fonction des variations lumineuses, l'existence de variations chromatiques entre les différentes images requière la correction de ces déviations pour quantifier avec exactitude l'évolution de la couleur de la chair au cours du temps.

La performance des quatre modèles de correction des déviations lumineuses développés est illustrée en figure 22. L'application des modèles de correction à l'ensemble des images permet de corriger les couleurs des carrés colorés présents sur la cible commerciale, à l'exception de la régression polynômiale d'ordre 4 (Figure 22A). En effet, la correction des blancs associée à une transformation polynômiale conduit à une nette réduction de la distance perceptuelle DeltaE2000 alors que la transformation rigide provoque une augmentation de cette distance, signifiant que le rendu des couleurs est davantage altéré. La comparaison des performances des modèles polynômiaux ne montre pas de différence significative sur la cible commerciale. La calibration du modèle est donc satisfaisante pour corriger des couleurs entrant dans une gamme proche de celles ayant été utilisées pour la calibration des modèles polynômiaux. A l'inverse, l'application des modèles ne permet pas de rétablir la constance des couleurs sur les carrés de la cible personnalisée (Figure 22B). En effet, seule la correction du blanc et la régression polynômiale d'ordre 2 parviennent à améliorer légèrement le rendu des couleurs alors que les autres modèles augmentent l'écart perceptuel. Ces résultats montrent que la régression polynômiale d'ordre 2 est plus robuste que les modèles polynômiaux d'ordres supérieurs, bien que l'efficacité de la correction soit très inférieure à celle obtenue sur les carrés de la cible commerciale. Nous pouvons donc en déduire que le choix des références utilisées au cours de la calibration des modèles est d'une importance majeure pour garantir l'efficacité de la correction. Même si la transformation polynômiale d'ordre 2 est très efficace pour corriger les couleurs proches de celles ayant servi à la calibration, la transposition de la correction à une gamme de couleur éloignée s'accompagne d'une forte diminution des performances. En effet, quand le nombre de paramètres de l'équation polynômiale est supérieur au nombre de références utilisées pour la calibration (nombre de couleurs présentes dans le vérificateur commercial), alors le modèle est sur-contraint, ce qui explique le sur-ajustement du modèle et l'augmentation des distances perceptuelles relevée pour la régression polynômiale d'ordre 4 [11]. Il est donc parfois préférable de restreindre le nombre de paramètres inclus dans un modèle pour obtenir une prédiction réaliste et un meilleur ajustement de la courbe aux valeurs observées. Pour l'instant, cette méthode n'est donc pas appropriée pour corriger les couleurs typiques de la chair des tubercules mais l'utilisation de la cible personnalisée comme cible de

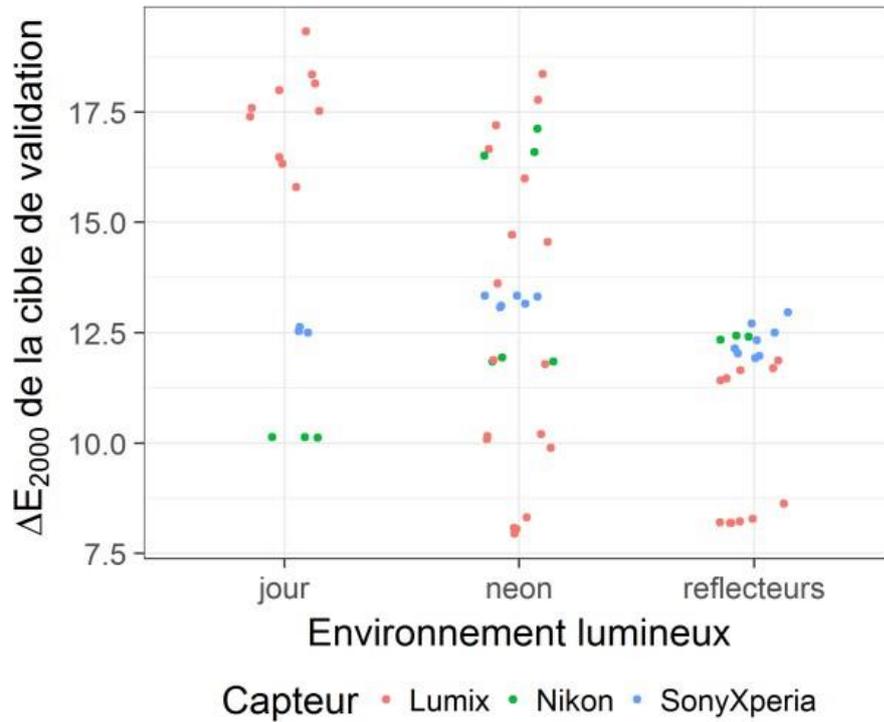


Figure 21 : Mesures de la distance perceptuelle initiale sur les carrés du vérificateur personnalisé exposé à la lumière du jour, à la lumière artificielle directe (néon) ou indirecte (réflecteurs), en fonction de trois capteurs. Chaque point représente une image (n=63)

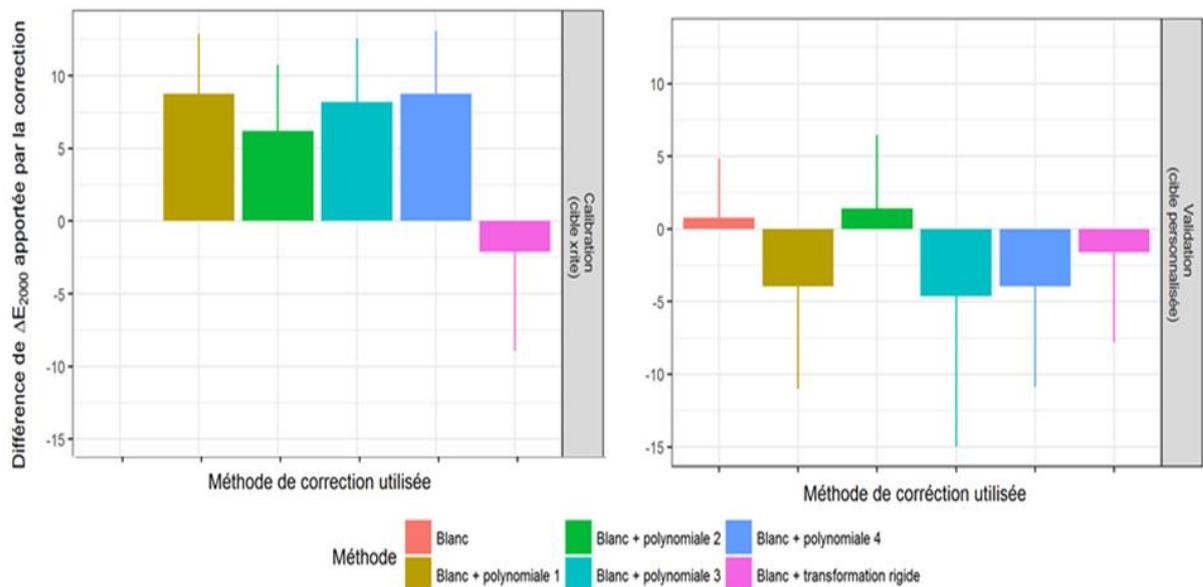


Figure 22 : Application des quatre modèles de correction des couleurs sur la cible commerciale de calibration (à gauche) et sur la cible personnalisée de validation (à droite). Evaluation de la performance des modèles par mesure des distances perceptuelles DeltaE2000 (n=63)

calibration est prometteuse pour atteindre cet objectif. En dépit du manque d'efficacité des modèles de correction proposés, la normalisation du dispositif de capture et le développement des méthodes de segmentation et de détection ont quand même participé à l'amélioration de la méthode de phénotypage traditionnellement utilisée pour le suivi du brunissement des tubercules en régions tropicales. La méthode de phénotypage développée permet de répondre aux objectifs de traitements d'images en termes de précision même si les étapes de segmentation et de détection des objets pourraient être perfectionnées. Elle permet en effet d'extraire les informations chromatiques de l'intégralité d'une base de données-images par l'intermédiaire d'une procédure automatisée. L'intégration de trois tubercules dans la scène de capture et l'exposition de la surface intégrale de la chair a permis l'augmentation du débit d'acquisition des données et l'introduction du gradient longitudinal à l'étude du brunissement des tubercules.

### III. Phénotypage des grains d'amidon

#### A. Performance du traitement d'images

Les mesures de taille et de forme des grains obtenus sur R ont été utilisées pour comparer les douze variétés d'ignames. La méthode de phénotypage développée pour mesurer la taille et la forme des grains d'amidon a fonctionné sur l'ensemble de la base de données, témoignant de la robustesse de la procédure de traitement d'images. La comparaison des résultats obtenues aux grossissements 100 et 400 avec la méthode manuelle sur ImageJ d'une part et la méthode automatique sur R d'autre part, ne montre pas de différence significative (Figure 23). En effet, quelle que soit la modalité d'observation testée, les valeurs de RMSE montre que les mesures effectuées sur R corroborent très bien avec celles obtenues à partir de la méthode de référence (ImageJ). La dispersion des valeurs mesurées autour de la droite montre qu'il existe une variabilité légèrement plus importante au faible grossissement. En revanche, le grossissement 100 permet de capturer un plus grand nombre de grains et donc de réduire l'incertitude des mesures en augmentant le nombre de répétitions. Par ailleurs, les observations au grossissement 100 offrent un gain de temps par rapport au grossissement 400.

#### B. Application à la collection de travail : mesures des paramètres physique des grains d'amidon

Les résultats obtenus à partir de la méthode développée sur R ont été utilisées pour comparer les variétés sur la base de la taille (surface) et la surface des grains d'amidon (coefficient d'aplatissement). La Figure 24 montre que la distribution des grains d'amidon est monomodale pour toutes les variétés, c'est-à-dire qu'il n'y a qu'une seule forme possible de grain d'amidon chez l'espèce *D. alata*. Les résultats des comparaisons de moyennes deux à deux, présentés en figure 25, montrent que la taille moyenne des grains d'amidon varie en fonction du génotype et donc, que l'outil est discriminant.

### IV. Bilan sur la performance des méthodes

L'ensemble des méthodes proposées ont été évaluées sur quatre critères utilisés dans le cadre des procédures de validation des nouveaux outils technologiques.

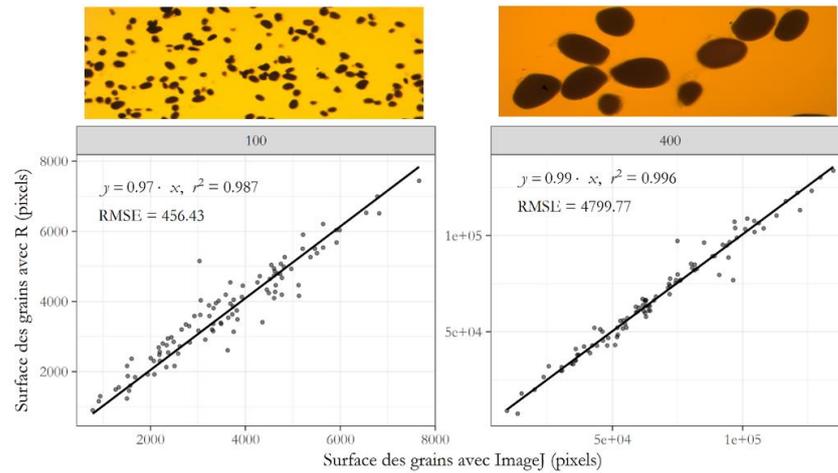


Figure 23 : Vérification de la conformité de la méthode de phénotypage automatisée des grains d'amidon. Comparaison des valeurs surfaciques estimées sur R et sur ImageJ au grossissement 100 (à gauche) et au grossissement 400 (à droite) (n=100)

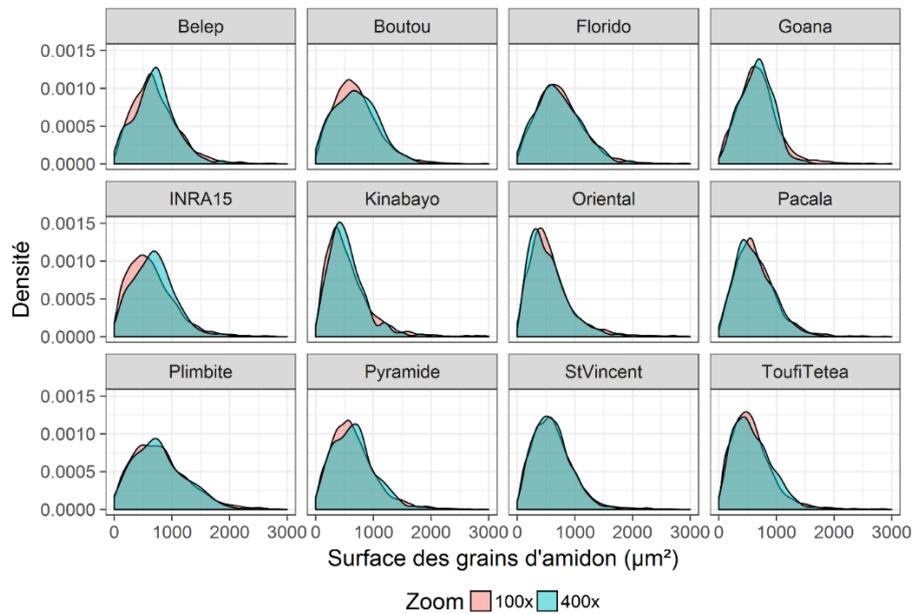


Figure 24 : Distribution des surfaces de grains d'amidon de 12 variétés d'ignames en fonction du grossissement des images microscopiques. (n=55000)

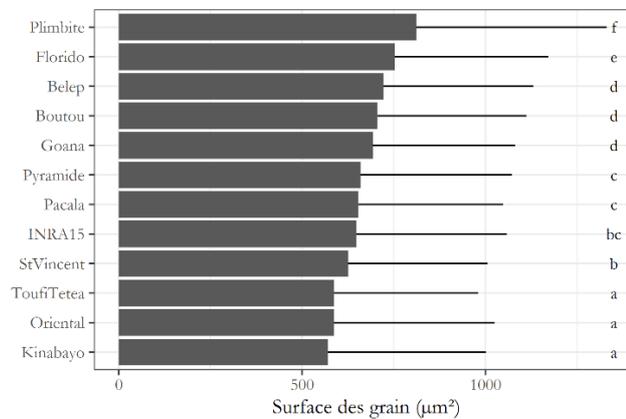


Figure 25 : Surface moyenne des grains d'amidons en fonction de la variété. Les mesures ont été effectuées sur 242 images, soit 55 000 grains d'amidon. La comparaison des génotypes a été réalisée avec un test HSD de Tukey. Les variétés présentant des lettres différentes montrent une différence significative ( $p < 0.05$ ) de la surface de leurs grains d'amidon.

- **Accessibilité**

Parmi les trois méthodes développées, seule l'acquisition du dispositif d'observation microscopique requière un investissement financier assez important, d'autant plus de la préparation des farines nécessite l'utilisation d'un broyeur à couteau. En revanche, l'achat d'un appareil photographique classique peut suffire pour l'application des outils proposés pour le phénotypage du couvert végétal et de la couleur des aliments, même si la mise en relation des images en deux dimensions avec des indices de végétations multispectraux est souhaitable pour le phénotypage de la dynamique de recouvrement. En effet, l'étude du LAI en plein champ est contrainte par les conditions d'éclairage naturel. Il est donc préférable de réaliser les mesures par l'intermédiaire de capteurs multispectraux, plus coûteux que les dispositifs numériques classiques, mais nettement plus précis. L'acquisition de ce type d'appareil est actuellement facilitée par la proposition de capteurs multispectraux bon marché, tel que le Sequoia Parrot + qui ne coûte que 1500 euros de plus que l'appareil numérique Nikon D5200. Concernant l'étude de la couleur, l'acquisition d'un vérificateur n'est pas indispensable et, aux vues des résultats de cette étude, il est même préférable de confectionner une palette de référence chromatique personnalisée de manière à calibrée efficacement les modèles de corrections aux objets étudiés.

- **Rapidité**

Les trois méthodes proposées ont largement permis d'atteindre les objectifs de débit souhaités pour le phénotypage des traits sélectionnés chez l'igname. Pour le suivi du LAI, Le temps estimé pour l'acquisition d'une image au champ est d'environ 44 secondes (déplacement au sein de la parcelle par les techniciens et capture numérique). Le temps estimé pour le traitement d'une image est d'environ 7.2 secondes, soit 3 heures pour les 1515 images capturées au cours de cette étude. A raison d'un minimum de 10 images par génotype, il faut compter 8 minutes pour l'acquisition des images et 72 secondes pour leur traitement. Le temps consacré au traitement des données est donc très satisfaisant mais le temps passé à récolter les images au diminue le débit global des analyses. Pour le suivi de la couleur, l'acquisition et le traitement de l'ensemble des 781 images, incluant les étapes de segmentation, détection, correction des couleurs et le calcul de l'indice des blancs, demande 70 secondes par image, soit un peu plus de 15 heures pour les 12 génotypes. La rapidité de la méthode est satisfaisante puisqu'à l'issue de ce délai, plus de 2300 tubercules ont pu être analysés. Enfin, pour le phénotypage de l'amidon, le temps de préparation des lames microscopiques est estimé 2 minutes par échantillon (soit environ 2h30 pour les 72 échantillons). Pour chaque échantillon, 6 images ont été capturées selon 2 grossissements, soit 432 images en 10h. Le temps nécessaire à l'acquisition des images est d'environ 15 minutes par génotype et la durée de traitement des 484 images est de 8 minutes. La vitesse de traitement des données est donc considérablement améliorée par rapport à la méthode traditionnelle puisque le temps estimé pour les mêmes échantillons sur ImageJ est de 28 heures pour 242 images capturées au grossissement 400 et 4 heures pour 242 images capturées au grossissement 100.

- **Robustesse et précision**

La procédure d'analyse d'images du couvert est très satisfaisante. En effet, les étapes de segmentation et de détection parviennent à extraire la zone d'intérêt de l'image (quadra). De même, l'extraction des pixels de feuilles contenus dans cette région à la suite de l'application du modèle de classification des motifs statistiques permet bien de calculer un pourcentage de feuilles par unité de surface (Résolution de 1 pixel équivalent à 0.1mm<sup>2</sup>). Ainsi, les limites



rencontrées au cours de ce stage pour estimer le LAI sont faiblement liées à la méthode informatique mais fortement induites par l'acquisition non normalisée des images au champ. En effet, la distorsion des perspectives incluse dans l'étude ne permet pas de quantifier le LAI mais seulement de donner une estimation de la capacité des plantes à recouvrir le sol. Par ailleurs, l'erreur étant présente sur l'ensemble des images, la comparaison des variétés sur la base de leur dynamique d'évolution du LAI estimée, montre que la méthode proposée est discriminante. Son utilisation dans les études de phénotypage est prometteuse à condition d'établir un protocole de capture d'images pour maîtriser l'orientation et la distance du capteur par rapport au couvert végétal.

Le traitement des images de tubercules pour le suivi du brunissement est robuste et précis (Résolution de 1 pixel équivalent  $0.02\text{mm}^2$ ) bien que la suppression concomitante du fond et du carré noir ait nécessité l'intégration d'une étape supplémentaire non automatique. Néanmoins, la composition du vérificateur inclus dans la scène de capture dépend de la gamme de couleur de l'objet étudié et ne nécessite pas forcément une référence noire. Ainsi, la méthode proposée peut convenir au phénotypage automatisé de la chair des aliments ne présentant pas de noir, comme l'igname par exemple.

L'outil développé pour mesurer les paramètres physiques des grains d'amidon répond aux attentes de précision (Résolution 1 pixel équivalent  $1,936.10^{-4} \mu\text{m}^2$ ) et de transposabilité, même si la diminution du grossissement s'accompagne d'une légère augmentation de l'incertitude des mesures. L'augmentation du nombre d'objets analysés à de faibles grossissements permet de rétablir les performances en termes de précision et de robustesse et apporte un gain de temps. L'ensemble des résultats est résumé dans le tableau 3.

### Conclusions et perspectives

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que les méthodes proposées pour suivre l'évolution du LAI et mesurer les paramètres physiques des grains d'amidon sont suffisamment précises, robustes et discriminantes pour être adopter dans les études de phénotypage haut débit menées sur un large éventail de variétés cultivées dans différentes conditions. En revanche, certains aspects techniques et méthodologiques restent limitants et méritent encore d'être améliorés pour étendre le champ d'application de ces modèles.

L'application du modèle mixte à effets aléatoires du type double logistique parvient à prédire la dynamique de croissance, de saturation de production et de sénescence sur l'ensemble des génotypes étudiés. Des différences significatives inter-variétales ont ainsi été mises en évidence. Bien que le nombre de répétitions spatiales et temporelles soit insuffisant pour conclure sur les interactions génotype-environnements, nos résultats supposent un effet du site sur l'évolution du LAI. De la même manière, la méthode conçue pour caractériser les objets microscopiques s'avère très efficace pour évaluer les paramètres physiques des grains d'amidon sur un ensemble de variété. L'évaluation de la qualité prévisionnelle de l'algorithme des bassins versants par le calcul de l'indicateur RMSE montre que l'erreur de mesure est faible et aléatoire, quel que soit le grossissement choisi pour les observations. Son application sur l'ensemble des images témoigne de la robustesse du dispositif technique et des algorithmes utilisés pour le traitement des images. L'application de cette méthode révèle à la fois des similarités de distribution monomodale et des différences de taille moyenne des grains d'amidon présents

	<i>Méthode 1 (Recouvrement)</i>	<i>Méthode 2 (Brunissement)</i>	<i>Méthode 3 (Amidon)</i>
<b>Accessibilité</b>			
<b>Coût du matériel (euros)</b>	Appareil photo classique (400) Ou Capteur multispectral (2000)	Appareil photo classique (400) + 2 lampes halogènes (50) + 2 réflecteurs (20) + Drap noir matte (5) + 1 cible Colorchecker Classique (70) (facultatif)	Microscope (10 000) + Broyeur à farine + Balance + iode + lames/lamelles
<b>Rapidité</b>			
<b>Acquisition des images (Secondel(s)/image)</b>	44	90	33,8
<b>Traitement des données (Secondel(s)/image)</b>	7,2	70	1,1
<b>Robustesse</b>			
<b>Conditions d'application</b>	Plantes à port lianescent ou érigée de petite taille (pour ce script R) + Parcelle sarclée + Capture des images en matinée (7h – 11h), Par temps sec et en absence d'humidité sur les feuilles	Local clos (absence de lumière directe) + Température contrôlée	Solution iodée concentrée à 20g/L + Farines finement broyées puis tamisées
<b>Précision</b>			
<b>Equivalence pixel / mm<sup>2</sup> ou µm<sup>2</sup></b>	1 Pixel ⇔ 0.1 mm <sup>2</sup>	1 Pixel ⇔ 0.02 mm <sup>2</sup>	1 Pixel ⇔ 1,936.10 <sup>-4</sup> µm <sup>2</sup>

Tableau 2 : Evaluation des performances des méthodes de phénotypage basée sur l'analyse d'image appliquée au suivi du recouvrement (Méthode 1), à l'évaluation de la couleur et de son maintien dans le temps (Méthode 2) et aux mesures des paramètres physiques des objets microscopiques (Méthode 3).

dans les farines en fonction des variétés. L'outil est donc prometteur pour des études portées sur les relations entre paramètres anatomiques des grains d'amidon et propriétés physico-chimiques des farines, l'objectif final étant de sélectionner les variétés les plus performantes, présentant à la fois un haut potentiel nutritionnel et une aptitude à la transformation élevée [1]. Le traitement numérique et automatisé des données constitue donc une avancée par rapport à la simple évaluation visuelle des lames en microscopie optique, mais ne fournit que des informations morphologiques en deux dimensions des grains d'amidon. De plus, les méthodes d'isolement provoquent la fragmentation d'une partie des granules et génèrent des débris d'organites qu'il est difficile de prendre en compte lors de l'analyse des résultats. La microscopie électronique à balayage est la méthode la plus performante mais reste moins accessible que les techniques traditionnelles, surtout dans les pays en développement. À l'inverse, les modèles développés pour corriger des écarts de distributions spectrales ne parviennent pas à réduire suffisamment les distances de couleurs perceptuelles. Cette étude montre que les modèles linéaires ne sont pas adaptés pour la correction des couleurs mais que les modèles polynomiaux, en fonction de l'ordre de complexité fixé, sont capables de d'améliorer le rendu des couleurs, à condition de calibrer les modèles dans une gamme proche de celles caractéristiques de l'objet d'étude. Bien que l'objectif d'harmonisation des données numériques n'ait pas été atteint, les opérations de segmentation et de détection sont suffisamment robustes et précises pour assurer l'extraction des pixels constitutifs de la chair des tubercules. Par ailleurs, la mise en place d'un dispositif technique normalisé assure une erreur constante pour une même expérimentation. Les indices de blancs calculés sur l'ensemble de la base de données ne permettent pas de quantifier les couleurs réelles des ignames mais sont suffisants pour discriminer les variétés sur la base de leur sensibilité oxydative.

Le phénotypage du couvert végétal chez l'igname par imagerie successive, basé sur les mesures du LAI dans cette étude, pourrait être étendu à d'autres fins. Ainsi les dynamiques d'émergences, de sénescences, et les durées de cycle qui en découlent, pourraient être caractérisées en utilisant les mêmes images. L'utilisation d'un capteur multispectral permettrait, sans augmenter le temps d'acquisition des images, une caractérisation des stress ou de la nutrition azotée par exemple. La détection semi-automatique du quadra développée durant ce stage apporte une amélioration significative en termes de détection de la surface d'analyse et de vitesse de réalisation. Cependant elle nécessite encore un pré-traitement des images (apposition des points bleus) et ne permet pas de corriger le biais introduit par la distorsion liée à la perspective de prise de vue. De plus, l'analyse d'image actuelle nécessite un sarclage préalable afin de ne pas confondre les plantes adventices des couverts d'igname. Plusieurs solutions sont envisagées afin d'améliorer la simplicité, la précision et la vitesse de la méthode. Premièrement, l'utilisation d'un quadra peint en bleu permettrait une détection automatique de la surface de mesure sans intervention manuelle. L'introduction d'une transformée de Hough dans la procédure de traitement d'image permettrait alors de détecter des structures simples sur l'image ; dans notre cas, les lignes directrices du quadra. Deuxièmement, la distorsion de l'image pourra être d'une part minimisée par l'utilisation d'un stabilisateur de prise de vues portatif (steadicam), via l'implémentation d'un algorithme corrigeant la distorsion et par l'utilisation d'un dispositif de phénotypage terrestre (Figure 26). Troisièmement, l'implémentation d'un algorithme de classification des feuilles permettrait de segmenter la couverture végétale sur la base des attributs anatomiques foliaires. Ces améliorations pourraient permettre l'étude de



*Figure 16 : Véhicule de phénotypage terrestre construit sur la station expérimentale de Roujol en Guadeloupe (à gauche de l'image) et quadra peint en bleu pour faciliter la détection du cadre sur R.*

phénotypage de cultures-associées ou la caractérisation de la compétition des plantes adventices. Enfin, la précision de la segmentation reste sensible à certaines conditions naturelles (lumière, humidité de surface...). Cette précision pourrait être améliorée par l'introduction d'un vérificateur (i.e. cible) personnalisé représentatif des gammes de couleurs caractéristiques des feuilles, associée à une augmentation du nombre de capteur. L'augmentation du nombre de capteurs augmenterait la probabilité d'intercepter la lumière émise par les micro-facettes du couvert en évitant la surexposition des parties du couvert en réflexion directe.

Les mesures de taille et de forme des grains d'amidon permises par notre méthode ne tiennent pas compte du taux de brisures des grains d'amidon, dont la proportion est variable d'un génotype à l'autre. La présence de ces éléments, de tailles et de formes variées, introduit un biais lors de l'analyse des données. A l'avenir, l'implémentation d'un algorithme de segmentation des images capable de distinguer les objets caractérisés par rupture d'homogénéité des pixels de bordure pourrait permettre l'extraction des grains abîmés. La transformée de Fourier constitue une perspective intéressante puisque cette fonction est capable de repérer un changement d'orientation des gradients, c'est-à-dire l'apparition d'un angle sur les contours. De plus, cette transformation permettrait aussi une meilleure caractérisation de la forme des grains non brisés. La discrimination des variétés sur la base de la teneur en amylose des grains d'amidon s'appuie habituellement sur les résultats obtenus par spectrophotométrie, cette dernière étant particulièrement longue, coûteuse et difficile à mettre en place en routine dans les régions tropicales. Le développement d'une méthode de phénotypage de la teneur en amylose des grains d'amidon basée sur l'analyse d'images pourrait permettre d'augmenter le débit des analyses à moindres coûts. Pour y parvenir, l'extraction des indices de bruns sur les grains d'amidons et la calibration d'un modèle à partir des teneurs en amylose de référence, constitue une perspective intéressante pour discriminer les variétés.

L'écart mesuré entre les valeurs chromatiques théoriques et réelles (après numérisation), découlant des variations d'éclairage ou de l'utilisation de capteurs différents, est important et réduit la généralité des résultats. Bien que l'application des algorithmes de correction de couleur n'ait pas permis l'harmonisation des données de phénotypage, la méthode permettra à terme d'analyser les variations différentielles de couleur selon le gradient physico-chimique longitudinal ou la proximité de la peau. La réalisation d'un zonage de la chair, c'est-à-dire la création de plusieurs sous-ensembles de chair sur chaque tubercule, permettrait de quantifier l'évolution spatio-temporelle de indices de couleur. La faiblesse des modèles proposés réside en grande partie dans le choix des données de calibration. Le vérificateur commercial, composé d'un éventail de couleurs très diversifiées, n'a pas permis de correction efficace de la gamme de couleurs caractéristiques des objets étudiés. L'introduction d'un vérificateur personnalisé de calibration dans la scène de capture devrait permettre un meilleur ajustement des modèles de transformation linéaire et polynomiaux.

### Références bibliographiques

[1] Akakpo R, Scarcelli N, Chaïr H, Dansi A, Djedatin G, Thuillet AC, Rhoné B, François O, Vigourous KA, Vigourous Y (2017) Molecular basis of African yam domestication: analyses of selection point to root development, starch biosynthesis, and photosynthesis related genes. *BMC Genomics* **18**: 782



- [2] **Akissoe N, Mestres C, Hounhouigan J, Nago M** (2005) Biochemical origin of browning during the processing of fresh Yam (*Discorea* spp.) into dried product. *Journal of agricultural and food biochemistry* **53**: 2552-2557
- [3] **Arachchige H, Wickramasinghe M, Takigawa S, Matsuura-Endo, Yamauchi H, Noda T** (2009) Comparative analysis of starch properties of different root and tuber crops of Sri Lanka. *Food Chemistry* **112**: 98-103
- [4] **Araus JL, Cairn JE** (2014) Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. *Trends in Plant Science* **19**: 52-61
- [5] **Archantoulis SV, Miguez FE** (2013) Non-linear regression models and applications in agricultural research. *Agronomy Journal* **105**: 1-13
- [6] **Arnau G** (2017) Directional Limits on Persistent Gravitational Waves from Advanced LIGO's First Observing Run. *Physical Review Letters* **118**
- [7] **Babalola AT, Babatunde JA, Adebola MO** (2016) Effects of processing on proximate, mineral composition and storage of *Discorea rotundata* (White yam) tubers. *International Journal Biological Research*. **71**: 48-55
- [8] **Baty F, Ritz C, van Gestel A, Brutsche M, Gerhard D** (2016) Modeling the oxygen uptake kinetics during exercise testing of patients with chronic obstructive pulmonary diseases using nonlinear mixed models. *BMC Medical Research Methodology* 16-66
- [9] **Beck PSA, Atzberger C, Hogda KA, Johansen B, Skidmore AK** (2006) Improved monitoring of vegetation dynamics at very high latitudes: A new method using MODIS NDVI. *Remote Sensing of Environment* **100**: 321-334
- [10] **Berger B, Parent B, Tester M** (2010) High-Throughput shoot imaging to study drought responses. *Journal of Experimental Botany* **61**: 3519-3528
- [11] **Bugarin F, Henrion D, Sentenac T, Orteu JJ** (2010) Optimisation globale polynomiale appliquée à la rectification projective d'images non calibrées. *Research Gate* **75**: 23-39
- [12] **Cabrera-Bosquet L, Molero G, Stellacci A, Bort J, Nogués S, Araus J** (2011) Ndvi as a potential tool for predicting biomass, plant nitrogen content and growth in wheat genotypes subjected to different water and nitrogen conditions. *Cereal Research Community* **39**: 147-159
- [13] **Charles-Dominique T, Mangenet T, Reu H, Jourdan C, Edelin C** (2009) Architectural analysis of root system of sexually vs. Vegetatively propagated yam (*Dioscorea rotundata*), a tuber monocot. *Plant and Soil* **317**: 61-77
- [14] **Clevers JGPW, Gitelson AA** (2013) Remote estimation of crop and grass chlorophyll and nitrogen content using red-edge bands on Sentinel-2 and -3. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation* **23**: 344-351
- [15] **Cornet D, Gabrielle B, Sierra J** (2015) Influence des premiers stades de croissance sur la variabilité du rendement parcellaire de deux espèces d'igname (*Dioscorea* spp.) cultivées en Afrique de l'Ouest. *AgroParisTech* 1-174
- [16] **Cornet D, Sierra J, Tournebize R, Gabrielle B, Lewis FI** (2016) Bayesian network modeling of early growth stages explains yam interplant yield variability and allows for agronomic improvements in West Africa. *European Journal of Agronomy* **75**: 80-88.
- [17] **Di Giusto B, Dounias E, McKey DB** (2017) Facing herbivory on the climb up: Lost opportunities as the main cost of herbivory in the wild yam *Dioscorea praehensilis*. *Ecology and Evolution* **7**: 6493-6506
- [18] **Fajardo D, Jayanty S, Jansky S** (2013) Rapid High Throughput Amylose Determination in Freeze Dried Potato Tuber Samples. *Journal of visualized experiments* **80**: 1-4
- [19] **Fauziah F, Shofiyatul M, Hendrian H** (2016) Study on starch granules of local varieties of *Discorea hispida* and *Discorea alata*. *Journal of Tropical Life Science* **6**

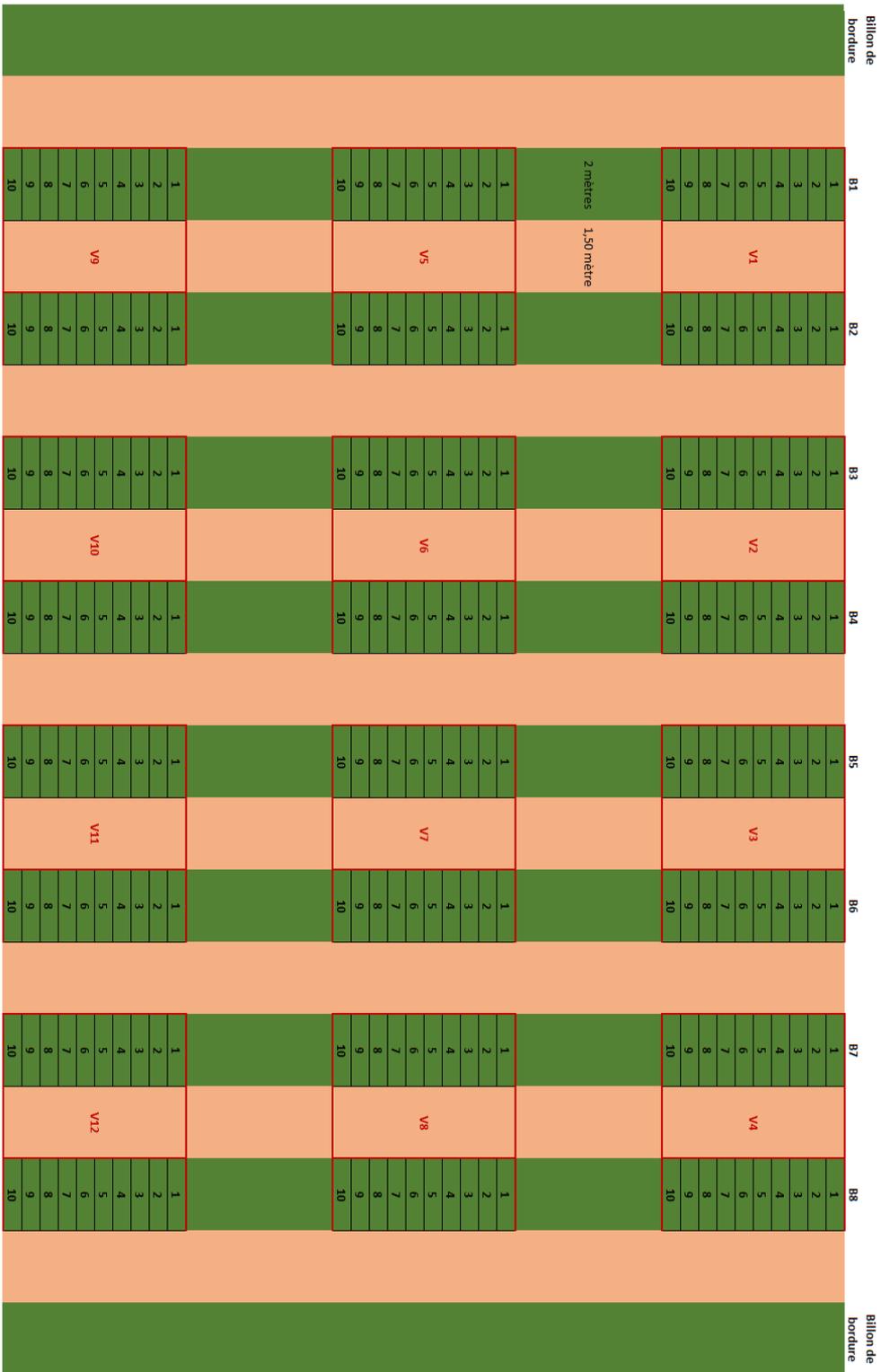


- [20] **Fleyeh H** (2016) Convex Hulls in Image Processing: A Scoping Review. Scientific and Academic Publishing **6**: 48-58
- [21] **Gong H, Finlayson GD** (2017) Root Polynomial Color Homography Color Correction. Proceedings of 13th AIC Congress
- [22] **Hgaza V, Diby L, Herrera JM, Frossard E** (2012) Root distribution patterns of white yam (*Dioscorea rotundata*): a field study. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B, Soil and Plant Science **7**: 1-11
- [23] **Leon K, Mery D, Pedreschi F, Leon J** (2006) Color measurement in L\*a\*b\* units from RGB digital images. Food Research International **39**: 1084-1091
- [24] **Marcos J, Cornet D, Bussièrè F, Sierra J** (2011) Water yam (*Dioscorea alata L.*) growth and yield as affected by the planting date: Experiment and modelling. European Journal of Agronomy **34**: 247-256
- [25] **Mary JL, Douglas MB** (1990) Nonlinear Mixed Effects Models for Repeated Measures Data. BIOMETRICS **46**: 673-687
- [26] **McQuarrie ADR, Tsai CL** (1998) Regression and Time Series Model Selection. World Scientific, River Edge, New Jersey
- [27] **Melteras M, Lebot V, Asher C, O'Sullivan J** (2008) Crop development and root distribution in lesser yam (*Dioscorea esculenta*): implications for fertilization. Experimental Agriculture **44**: 209-221
- [28] **Ng HP, Huang S, Ong Sh, Foong KC, Goh PS, Nowinski WL** (2008) Medical image segmentation using watershed segmentation with texture-based region merging. Conference proceeding **78**: 559-578
- [29] **Ngo DPN** (2015) Transformations rigides sur les images numériques 2D: analyse combinatoire et topologique. Image Processing **7**: 11-38
- [30] **Norman PE, Tongoona P, Shanahan PE** (2011) Diversity of the morphological traits of yam (*Dioscorea* spp.) genotypes from Sierra Leone. Journal of Applied Biosciences **45**: 45-58
- [31] **Penet L, Cornet D, Blazy JM, Alleyne A, Barthe ES, Bussièrè F, Guyader S, Pavis C, Pétró D** (2016) Varietal Dynamics and Yam Agrobiodiversity Demonstrate Complex Trajectories Intersecting Farmers' Strategies, Networks, and Disease Experience. Frontiers in Plant Science
- [32] **Potgieter AB, George-Jaeggli B, Scott C, Laws K, Suárez-Cadavid LA, Wixted** (2017) Multi-Spectral Imaging from an Unmanned Aerial Vehicle Enables the Assessment of Seasonal Leaf Area Dynamics of Sorghum Breeding Lines. Frontiers in Plant Science **8**: 1532
- [33] **Sanginga N, Mbabu A** (2015) Root and tuber crops (Cassava, Yam, Potato and sweet potato). African Development Bank Group, Dakar, Senegal
- [34] **Trèche S, Agbor-Egbe T** (2009) Biochemical changes occurring during growth and storage of two yam species. International Journal of Food Science and Nutrition **47**: 93-102
- [35] **Wahab BA, Adebawale AA, Sanni SA** (2016) Effect of species, pretreatments, and drying methods on the functional and pasting properties of high-quality yam flour. Food Science & Nutrition **4**: 50-58
- [36] **Wusemeyer L, Mentrup D, Möller K, Wunder E, Alheit K, Hahn V, Maurer HP, Reif JC, Würschum T, Müller J** (2013) Breedvision: A multi-sensor platform for non-destructive field-based phenotyping in plant breeding. Sensors **13**: 2830–2847.
- [37] **Yin X, Goudriaan EA, Lantinga, Vos J, and Spiertz JHJ** (2003) A flexible sigmoid function of determinate growth. Annals of Botany **91**: 361–371



## Annexes

### Annexe 1 : Plan d'expérimentation de la saison culturale 2017-2018 des sites de Duclos et Godet





## Annexe 2 : Analyse d'images et algorithmes utilisés

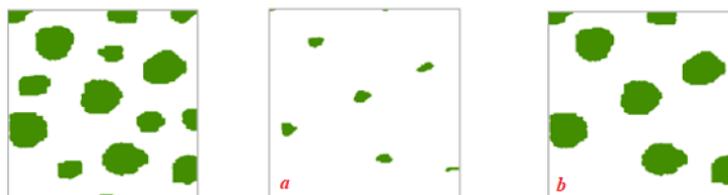
L'analyse d'image intègre deux grandes étapes faisant intervenir divers algorithmes mathématiques : la segmentation des images et la détection des objets au sein d'une image segmentée.

La segmentation conduit à l'isolement de certaines régions homogènes, correspondant à des ensembles de pixels fortement corrélés avec les objets contenus dans cette image, qui après détection permet d'exploiter et de quantifier l'information contenue dans une partie de l'image. Selon la méthode, la segmentation est réalisée dans différents espaces de couleurs. La segmentation se traduit souvent par une binarisation des pixels selon un seuil permettant de ne conserver que deux classes : l'objet d'intérêt (i.e. les feuilles, la chair, les grains d'amidon) et le fond (i.e. le sol, la peau du tubercule, le liquide iodé). La binarisation est un traitement dit ponctuel qui modifie les pixels de façon unitaire en ne considérant que leur valeur propre. Cette méthode intègre la fixation arbitraire d'un seuil sur une image convertie en niveau de gris. Tous les pixels situés en dessous de ce seuil ont une valeur de 0 pour chaque canal RGB. A l'inverse, les pixels situés au-dessus de ce seuil prennent la valeur 1 et les régions de l'image correspondantes apparaissent alors blanches. La binarisation de l'image permet de simplifier les calculs et d'augmenter la rapidité de traitement de l'ensemble des pixels. En simplifiant l'image originale, cette intervention peut conduire à une perte d'information. C'est pourquoi le niveau de précision de chaque méthode a été quantifié et sera décrit pour chacune d'elle dans la section « Résultats et discussion » (Tableau 3).

La détection des objets est réalisée à partir d'une image binaire. Elle permet de créer plusieurs classes parmi les régions retenues au cours de la segmentation. Cette étape peut s'appuyer sur des filtres de natures différentes tels que la forme des régions d'intérêt (ronde, elliptique, carrée...), la taille des régions exprimée en nombre de pixels ou la position de ces régions au sein de l'image par exemple. Les principaux algorithmes utilisés au cours de ce stage sont décrits ci-après :

- **Opérateurs morphologiques**

L'érosion des objets d'une image permet de conserver uniquement ceux pour lesquels l'élément structurant est contenu dans l'ensemble. Cet élément structurant correspond à un disque d'érosion dont le diamètre est connu. L'élimination des pixels de bordure des objets à partir d'un disque de diamètre fixé permet d'extraire tous les objets de l'image dont la surface est inférieure à celle du disque d'érosion. La dilatation postérieure des objets érodés permet de rétablir leur forme initiale mais ne réintègre pas les éléments supprimés lors de l'érosion (Illustration 1).



*Illustration 1 : Suppression des objets de petites tailles par une opération morphologique d'érosion (a) suivie d'une dilatation (b)*



- **K-moyennes**

La méthode est basée sur la recherche d'ensembles de pixels présentant une cohérence constitutive et délimite l'objet une fois la continuité perdue. Cette méthode est précise et permet de tracer les contours d'un objet, mais elle s'accompagne également d'un temps de calcul conséquent.

- **Enveloppe convexe**

A partir de point de coordonnées  $(x ; y)$  contenus dans une image, l'application d'un algorithme de recherche des enveloppes convexes permet de tracer un masque polyédrique dont les sommets appartiennent à l'objet recherché. Le fonction recherche le point de l'espace dont la coordonnée  $x$  est minimale. Si plusieurs points partagent une valeur commune et minimale de  $x$ , alors l'algorithme retient celui présentant également la valeur en ordonnée la plus faible. Le second point retenu dans l'image est celui qui minimise l'angle entre la droite reliant ce point au premier pour  $x$  maintenu constant. De même, le troisième point retenu est celui pour lequel l'angle entre la droite reliant ce point au second pour  $x$  maintenu constant est minimal [20]. L'opération est répétée jusqu'à faire le tour complet de l'objet recherché (Figure 15).

- **Recherche de connexité**

La détection des surfaces connexes est contrainte par des seuils et entraîne l'isolement des groupes de pixels homogènes et connectés en fonction de leur taille (minimale et/ou maximale) et de la distance qui les sépare. L'opération est réitérée  $n$  fois pour chaque image. L'algorithme calcule la position du centre de chacune des régions isolées et teste la superposition des coordonnées sur l'ensemble des itérations. Si à l'issue des  $n$  répétitions, les coordonnées des centres sont identiques pour une région donnée, alors un masque de voisinage est créé sur les régions connexes, reconnues comme des objets.

- **Bassins versants**

A partir d'une image convertie en nuances de gris, l'algorithme du bassin versant classe les pixels en fonction de la distance entre les valeurs des coordonnées de l'axe  $z$  et le plan de dimensions  $x*y$ . Le calcul des distances dans un espace en 3 dimensions permet de mettre en évidence les sommets de l'image, c'est-à-dire le centre des objets. L'algorithme recherche des ensembles de pixels homogènes selon une progression circulaire initiée à partir des sommets. Lorsque deux ensembles se rencontrent, une limite est établie en ce point et deux objets sont alors isolés [28]. Une illustration est présentée ci-dessous ;

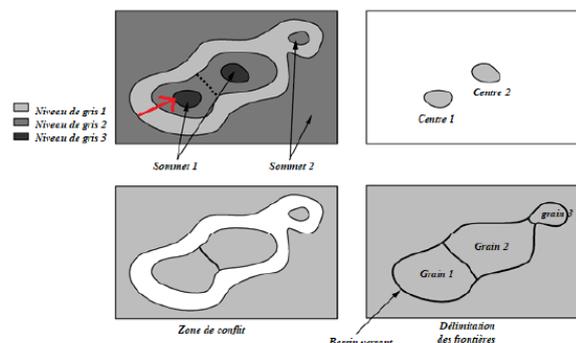


Illustration 2 : Détection des objets agglomérés par l'algorithme des bassins versants



## Annexe 3 : Modèles mixtes et transformation matricielle des images

- **Correction de la couleur des images à partir de couleurs de référence**

### Transformation rigide

La matrice de transformation rigide permet de rétablir la correspondance entre les nuages de points, c'est-à-dire d'aligner les coordonnées de couleur des images par rapport à des références colorimétriques à la suite de trois opérations matricielles successives : rotation, translation et restauration de l'échelle. La matrice de correction intègre les meilleures rotation translation pour aligner les points de l'ensemble de données observées contenues dans la matrice A avec l'ensemble de données de référence la matrice B. Ces transformations ne conviennent en général que pour des approches monomodales, quand par exemple on cherche à compenser la différence de positionnement d'un objet par rapport aux capteurs sans tenir compte des distorsions. Elles peuvent également être choisies comme étape préliminaire avant une transformation non-rigide, telle que la régression polynômiale [29].

### Régression polynômiale

Les fonctions polynômiales multiples d'ordre 1 génèrent des modèles linéaires multivariés. Les fonctions de régression polynômiale multiples d'ordre supérieurs établissent des modèles non linéaires dont la précision dépend du nombre de données observées et du choix de l'ordre polynômial utilisé. Contrairement au modèles rigides, les transformations non-rigides sont appliquées localement, c'est à dire que la transformation appliquée en un point peut effectivement être différente de celle appliquée à ses voisins. L'amplitude des déformations recherchées est généralement plus faible et localisée [11][21]. Plusieurs matrices de correction des couleurs non rigides ont été proposées à partir du modèle de régression polynômial, construit à partir des valeurs observées et d'une matrice contenant des valeurs de référence. Il s'agit d'approches paramétriques basées sur l'interpolation par des polynômes d'un champ de déformation d'un ensemble de points de l'image. La précision du modèle est fonction du degré de liberté appliqué.

### Correction de la luminosité ou correction du blanc

- **Modélisation de l'évolution du LAI et mesure de performance d'un modèle mixte**

### Les modèles mixtes

Les modèles mixtes sont bien adaptés aux données emboîtées car ils sont caractérisés par une covariance modulable, l'ensemble des variables explicatives n'ayant pas les mêmes effets sur la moyenne de la variable à expliquer. L'introduction d'une corrélation inconstante permet d'étudier les effets des facteurs à effets fixes, tout en conservant l'effet du facteur le moins explicatif des variations de moyennes, sans pour autant s'en abstraire totalement [25]. Ils permettent donc d'incorporer explicitement les corrélations intra-groupes via l'utilisation d'effets aléatoires et fournissent une estimation jointe des paramètres de régression. De plus, dans un contexte non-linéaire, les estimations obtenues par modèles mixtes présentent des erreurs types significativement plus faibles et non biaisées en comparaison de l'approche classique courbe par courbe [8]. Les fonctions utilisées dans la construction des modèles mixtes



testés au cours de ce stage sont détaillées ci-dessous :

- La fonction de croissance Beta [37] ;
- La pseudo-fonction de Voigt calculée comme la somme d'une gaussienne et d'une lorentzienne ayant la même position et la même aire [5] ;
- La fonction log-normale [5] ;
- La fonction double symétrique [9].

#### Performance des modèles

Le BIC prend en compte le nombre d'observations (1515 au cours de cette étude) et est souvent jugé plus conservateur que l'AIC. L'AICc est lui particulièrement adapté au petit nombre d'échantillons. Ces critères utilisent le principe du maximum de vraisemblance et pénalisent les modèles comportant trop de variables, évitant ainsi le sur-apprentissage des données [26].

	Diplôme et Mention : Master Biologie, Agrosociétés Parcours : Amélioration, Production et Valorisation du végétal Option : Fonctionnement et Gestion des Agrosystèmes Responsable : Matthieu Carof
Auteurs : Mell Pauline	Organisme d'accueil : INRA Centre Antilles-Guyanne
Date de naissance : 23/02/1993	Adresse : Domaine de Duclos
Nombre de pages : Annexe(s)	97127 Petit-Bourg
Année de soutenance : 2018	Guadeloupe

Développement de méthodes de phénotypage haut débit : mesures de traits liés à la qualité et aux premiers stades de croissance d'une collection d'ignames en Guadeloupe

Development of high-throughput phenotyping methods: measures of traits related to the quality and early growth stages of a yam collection in Guadeloupe

L'igname est une plante géophyte tropicale à port lianescent, caractérisée par une importante diversité phénotypique. Elle est cultivée pour la richesse en amidon de ses tubercules et constitue un aliment de base dans de nombreux pays tropicaux. Cependant, les faibles rendements et le manque de variétés améliorées sur des traits de qualités entraîne le recul de la filière dans les Antilles et freine l'adoption de nouvelles variétés en Afrique de l'Ouest. Pour accélérer les progrès dans la sélection de variétés répondant aux attentes des différents acteurs, il est nécessaire d'augmenter la précision et le débit des études de phénotypage. Chez l'igname, l'objectif est de quantifier des traits liés à la dynamique de recouvrement et à la qualité (i.e. la couleur de la chair des tubercules, son oxydation, et la qualité nutritionnelle des produits à base d'igname, en partie déterminée par la taille et la forme des grains d'amidon). Pour augmenter la rapidité d'acquisition des mesures de ces traits, nous avons testés trois méthodes de phénotypage basées sur l'analyse d'images au sein d'une collection de travail de 12 variétés d'ignames cultivées dans deux environnements pédoclimatiques contrastés. Nous mettons en évidence la performance et les conditions d'applications de ces méthodes. L'amélioration de méthodes préexistantes et la conception de nouveaux outils de segmentation, de détection et de correction d'images sont proposées. Afin que l'ensemble des méthodes testées et développées soient adaptées aux contraintes techniques et financières caractéristiques des régions tropicales, un compromis entre pertinence scientifique (rapidité, précision et exhaustivité) et faisabilité (faible coût et répétabilité) a été recherché et quantifié.

Yam is a tropical geophyte plant with a lianescent habit, characteristic of great phenotypic importance. It is grown for the starch richness of its tubers and is a staple food in many tropical countries. However, the weaknesses and shortcomings of the improved varieties on the quality traits will lead to the growth of the sector in the West Indies and hamper the adoption of new varieties in West Africa. To accelerate progress in variety selection, it is necessary to increase the precision and throughput of phenotyping studies. In yam, the color of the tuber chair, its oxidation, and the nutritional quality of the yam products, partly through the size and shape of the starch grains. To increase the speed of acquisition of measurements of these characters, we tested three phenotyping methods on image analysis within a working collection of 12 varieties of yams grown in two contrasting soil and climate environments. We maintain the performance and application conditions of these methods. Improvement of pre-existing methods and the design of new tools for segmentation, detection and correction of images are proposed. In order for all the methods tested and properly developed for the technical and financial constraints of tropical features, a trade-off between scientific relevance and feasibility (low cost and viability) was sought and quantified.

Mots clefs : Igname, Phénotypage haut-débit, image, recouvrement, brunissement

Keyword : Yam, high-throughput phenotyping, computer vision, plant cover, browning process