

COMMUNAUTE FRANCAISE DE BELGIQUE
ACADEMIE UNIVERSITAIRE WALLONIE-EUROPE
UNIVERSITE DE LIEGE – GEMBLoux AGRO-BIO TECH

**AMÉLIORATION DU TRI DE SEMENCES DE CHICORÉE
INDUSTRIELLE (*Cichorium intybus* L.) SUR BASE
D'ATTRIBUTS MESURÉS PAR VISION ARTIFICIELLE**

David Ooms

Essai présenté en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et
ingénierie biologique

Promoteur : Prof. M.-F. Destain

Année civile 2012

Ooms, David. (2012). Amélioration du tri de semences de chicorée industrielle (*Cichorium intybus* L.) sur base d'attributs mesurés par vision artificielle (thèse de doctorat). Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech, 35 p. , 9 fig., 6 annexes (72 p.).

Résumé : la production commerciale de semences (cypsèles) de chicorée industrielle inclut l'élimination après récolte des semences non viables par des outils non destructifs. À cette fin, deux méthodes de vision artificielle ont été utilisées pour la détection des semences non viables: la vision en couleurs et l'imagerie en fluorescence. De plus, les critères appropriés pour évaluer l'efficacité du tri des semences ont été définis en utilisant une courbe d'optimisation du tri qui décrit le compromis entre l'amélioration de la qualité d'un lot de semences et les pertes matérielles. L'analyse des images en couleurs de 1500 semences de la variété 'Nausica' permet seulement la reconnaissance de semences desséchées ou mal développées. La cause en est la grande variabilité naturelle de la couleur, de la forme et de la texture des semences. Le dispositif d'imagerie en fluorescence a été mis au point pour analyser la répartition de la fluorescence de la chlorophylle (FC), un marqueur de la maturité des semences, sur deux parties différentes de la semence (pericarpe et *pappus*). Il comprend une source lumineuse monochromatique, un filtre passe-haut et une caméra CCD monochromatique sensible au rouge et à l'infrarouge. Avec ce dispositif, la lumière bleue réfléchiée par les semences est bloquée tandis que la fluorescence rouge est mesurée par la caméra. Un algorithme de segmentation a été conçu pour évaluer séparément les intensités de fluorescence du *pappus*, une couronne d'écailles, et le reste du péricarpe. Les expérimentations ont été effectuées sur cinq clones de chicorée fécondés par pollinisation croisée utilisés dans le cadre de la production de semences et quatre série de 30 plantes de 2 variétés communément cultivées placées dans différentes conditions météorologiques. Les capitules ont été étiquetés à la floraison et récoltés à différents moments pendant le processus de maturation exprimé en jours après la floraison (JAF ou DAF : *days after flowering*). Les tests de germination ont été effectués selon les recommandations de l'*International Seed testing Association* pour mesurer le pourcentage de germination (PG) et la vitesse de germination (VG), un indicateur de la vigueur de semence. Le poids sec (PS), la teneur en eau (TE), la durée de maturation, le pourcentage de germination (PG) et la vitesse de germination (VG) a été mesurés pour évaluer la qualité des semences. Pour toutes les expérimentations, la fluorescence chlorophyllienne a diminué principalement entre 16 et 33 DAF soit pendant la phase d'accumulation des réserves des semences. Les corrélations entre la FC et des paramètres de maturité (PS, TE) étaient comprises entre 0.25 et 0.75 en valeur absolue pour des semences ayant mûri 16 à 44 jours sur pied. Des simulations de tri ont été effectuées sur base de la FC seule ou en association avec la densité apparente (DA, mg/mm²). Aussi bien pour les semences issues des plantes cultivées à l'extérieur que sous serre, la CF était efficace pour sélectionner les semences dans le but d'augmenter PG ou VG, mais la DA était plus efficace encore. Dans la serre, où les semences se sont développées sous des températures dépassant régulièrement 25 °C, l'utilisation de FC en association avec DA a amélioré l'efficacité du tri.

Ooms, David. (2012). Amelioration of industrial chicory (*Cichorium intybus* L.) seed sorting using features measured by machine vision. (Thèse de doctorat in French). Gembloux, Belgium. 35 p., 9 fig., 6 annexes (72 p.).

Summary: The commercial production of industrial chicory seeds (cypselae) includes the postharvest elimination of nonviable seeds by non-destructive tools. For this purpose, two machine vision methods were set up for the detection of nonviable seeds: color vision and fluorescence imaging. In addition, the appropriate criteria to estimate the efficiency of seed sorting were defined using a sorting optimization curve which describe the trade-off between the quality improvement of a seed lot and the loss of material. The analysis of color images of 1,500 seeds of the 'Nausica' variety allows only the recognition of desiccated and undeveloped seeds. This is caused by the large natural variability of seed color, shape and texture. Fluorescence imaging was set up in order to analyze the repartition of chlorophyll fluorescence (CF), a marker of seed maturity, on different areas of the seed (pericarp and *pappus*). It comprised a monochromatic light source, a highpass filter and a monochromatic CCD camera sensitive to red and infrared. With this device, blue light reflected by the seeds was blocked whilst red fluorescence was measured by the camera. A segmentation algorithm was designed to estimate separately the fluorescence intensities of the *pappus*, a crown of scales, and the main body of the pericarp. Experiments were carried out on five clones of cross-pollinated chicory plants used for seed production and four series of 30 plants from 2 common varieties grown in different weather conditions. The flower heads were labelled at flowering and harvested at different times during the maturation process expressed in "days after flowering" (DAF). Germination tests were performed according to the recommendations of the International Seed Testing Association to measure the germination percentage (GP) and the germination rate (GR), an indicator of seed vigour. The dry weight (DW), water content (WC), maturation duration, germination percentage (GP), and germination rate (GR) were measured to estimate seed quality. For all experiments, the chlorophyll fluorescence diminished mainly between 16 and 33 DAF during the filling phase of seed development. The correlations between CF and maturity parameters (DW, WC) were comprised between 0.25 and 0.75 in absolute value for seeds that matured 16 to 44 days on the stalk. Sorting simulations were made on the basis of CF alone or in combination with the achene area density (AD) (mg/mm²). The CF was efficient to select seeds produced outdoor or in the greenhouse with the aim of increasing GP or GR but AD was an even better sorting feature. In the greenhouse, where developing seeds were submitted to temperatures higher than 25 °C, the use of CF in combination with AD improved the sorting efficiency.

Copyright. Aux termes de la loi belge du 30 juin 1994, sur le droit d'auteur et les droits voisins, seul l'auteur a le droit de reproduire partiellement ou complètement cet ouvrage de quelque façon que ce soit ou d'en autoriser la reproduction partielle ou complète de quelque manière et sous quelque forme que ce soit. Toute photocopie ou reproduction sous autre forme est donc faite en violation de la dite loi et de des modifications ultérieures.

Remerciements

Cette étude a été financée par le Fonds Social Européen et par la Direction Générale des Technologies, de la Recherche et de l'Energie de la Région Wallonne, Belgique, dans le cadre du projet européen « First-Europe, Objectif 1 », intitulé QUALISEM.

L'auteur remercie toutes les personnes ayant contribué à l'aboutissement de la recherche et des publications, notamment le promoteur Prof. M.-F. Destain (GxABT, ULg), J. Brighton and P. Crossley (Cranfield University at Silsoe), Prof. C. Périlleux (ULg), H. Magein (CRA, Gembloux) et M. Eyletters (ULB), le personnel de la société Chicoline – Groupe Warcoing, en particulier J.C. Van Herck, O. Maudoux, V. Dielen et C. Notté, les collaborateurs scientifiques V. Leemans, K. Notte et C. Rosière, les techniciens F. Feraux et R. Schartz et tout ceux qui m'ont encouragé à mener ce travail à son terme.

Glossaire

- *attribut*: propriété quantifiable d'un objet (ici d'un akène de chicorée). Les attributs (« features ») sont « les variables spécifiées par l'expérimentateur et considérées comme étant importantes pour le classement » (Webb, 2002).
- *classifieur*: terme utilisé ici pour décrire un algorithme permettant de déterminer à quel classe (de qualité) appartient un objet à partir d'un nombre fini d'attributs mesurés et d'un critère de qualité.
- *pouvoir germinatif*: comme la viabilité (voir ci-dessous), mais utilisé ici en incluant la dormance comme cause de non-germination. Terme utilisé ici comme étant soit la probabilité de germer d'une semence a priori, soit le résultat du test de germination pour cette semence (0 pour non viable ou 1 pour viable). En parlant du pouvoir germinatif des semences en général, ce terme englobe également le pourcentage de germination. Etant donné que les semences sont considérées comme non-dormantes dans le cadre de ce travail, pouvoir germinatif est utilisé comme synonyme de viabilité.
- *pourcentage de germination*: proportion de semences viables (test en conditions standard définies par l'« International Seed Testing Association », *ISTA*) d'un capitule ou d'une population.
- *SOC*: « sorting optimization curve » ou courbe d'optimisation du tri. A partir d'un classifieur donné, d'une population d'objets, d'un nombre fini d'attributs caractérisant les objets de cette population, et d'une définition de la qualité d'un ensemble d'objets, la SOC s'inscrit sur le graphique du rendement du tri (ordonnée) en fonction de l'amélioration de la qualité du lot (abscisse) que l'on peut obtenir en classant les objets sur base de leurs attributs (Ooms *et al.*, 2010b)
- *viabilité* : Le potentiel à germer pour une semence ou une population de semences, en l'absence de dormance. (Probert & Linington, 2006a)
- *vigueur*: mesure de l'étendue des dommages accumulés par la semence lorsque la viabilité diminue (Probert & Linington, 2006b). Au plus les dommages sont importants, plus la vigueur diminue. Dans le cadre de ce travail, les dommages en question résultent principalement du séchage artificiel dont l'impact est plus important sur les semences immatures n'ayant pas acquis la pleine tolérance à la déshydratation ou de dégradations mécaniques. Cependant, la vigueur a également une définition plus large, adoptée par l'ISTA : « la vigueur est la somme des propriétés qui déterminent l'activité et le niveau de performance des lots de semences dont la germination est acceptable dans une large gamme de condition environnementales¹ » (Powell, 2006).
- *vitesse de germination*: inverse du temps nécessaire pour qu'une proportion des semences choisie arbitrairement (ici 25 %) germent lors d'un test standard. (« germination rate », Halmer, 2006). Dans le cadre de ce travail, les lots de semences ou les capitules (inflorescences comprenant 14-25 semences) dont le pourcentage de germination n'a pas atteint le seuil nécessaire pour estimer la vitesse de germination ont reçu une valeur de 0 pour ce critère. La vitesse de germination est un indicateur de la vigueur (Powell, 2006).

Abréviations

- AA : aire apparente des semences sur les images (mm²)
 DA : densité apparente des akènes (mg / mm²)
 DAF : « days after flowering » ou jours après la floraison
 FC : fluorescence chlorophyllienne
 FPAP : fluorescence (chlorophyllienne) du *pappus*

¹ Traduit de l'anglais: "Seed vigour is a sum of those properties that determine the activity and level of performance of seed lots of acceptable germination in a wide range of environments"

- FPER : fluorescence (chlorophyllienne) du péricarpe
L : longueur des akènes (mm)
PG : pouvoir germinatif ou pourcentage de germination
PS : poids sec des akènes à la récolte (mg / akène)
TE : teneur en eau pondérale des akènes à la récolte (par rapport au poids total)
VG : vitesse de germination (*germination rate*)

1. Introduction

1.1. Contexte général

La chicorée industrielle (*Cichorium intybus* L.) est cultivée d'une part pour la production d'inuline et de fructose et d'autre part pour la torréfaction en tant que boisson soluble. L'inuline est utilisée comme modificateur de texture dans les produits laitiers (Meyer *et al.*, 2011) et comme ingrédient pour les produits diététiques (Morris & Morris, 2012).

En Belgique, la production totale de chicorée industrielle s'élève en 2011 à environ 280 kt de racines par an, elle s'étend sur 6750 ha de culture et est principalement destinée à la fabrication d'inuline. Les trois principaux producteurs d'inuline au Benelux sont Cosucra (Groupe Warcoing), Orafti (filiale de la sucrerie Tirlemontoise) et Sensu (Royal Cosun, Pays-Bas). La Fig. 1 mentionne les surfaces de chicorée industrielle cultivées et la production totale en Belgique entre 2006 et 2011.

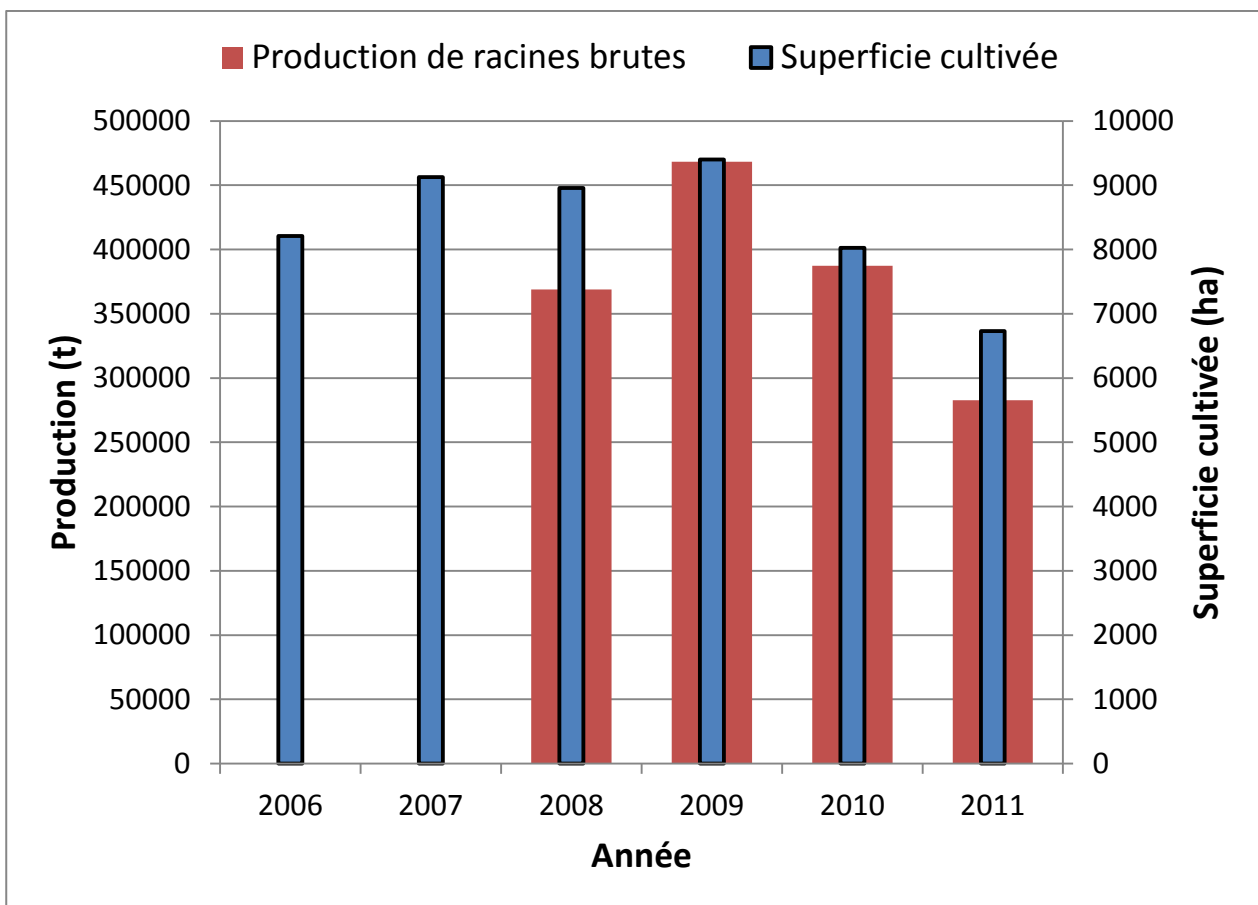


Fig. 1. Chicorée racine à usage industriel: Superficies cultivées et production en Belgique (Anon, 2009, 2011). 2011 : estimation à partir d'un échantillon

La chicorée (*Cichorium intybus* L.) fait partie de la famille des *Asteraceae*. C'est une plante bisannuelle, avec besoin de vernalisation, cultivée de manière annuelle pour éviter les montaisons qui réduisent les rendements en racines et en inuline. La floraison s'étale sur environ deux mois et est globalement indéterminée mais chaque ramification a une croissance déterminée. Les inflorescences sont des capitules supportant 15 à 25 fleurs ligulées à ovaire infère à deux loges. Les fruits sont des cypsèles, longs de 2 à 3 mm, avec une masse d'environ 1,5 mg (après séchage, lorsque la teneur en eau est de 6 %). La teinte varie de brun pâle à brun foncé, ils peuvent être mouchetés et couronnés d'un *pappus* formé d'écaillés (Rabau *et al.*, 1987) (Fig. 2).

Le semis de chicorée industrielle est réalisé à l'aide de semoirs de précision, à une densité recommandée de 250 000 semences par hectare (ILVO, 2011). Les semences étant régulièrement espacées dans le champ (environ 45 cm entre les lignes et 9 cm dans la ligne), chaque semence non germée représente une perte directe pour l'agriculteur. La réussite du semis est liée aux conditions environnementales (préparation du sol, température élevée favorable), à la qualité de la réalisation du semis (profondeur, espacement entre graines) et au pouvoir germinatif des semences. On estime qu'une augmentation de 1% de la viabilité des semences correspond à une augmentation potentielle de 2 800 tonnes de racines et environ 500 tonnes d'inuline à l'échelle de la Belgique. Par ailleurs, rappelons qu'il existe des exigences définissant la qualité des graines mises sur le marché. C'est ainsi que pour la chicorée industrielle en Belgique, le pouvoir germinatif d'un lot doit être supérieur ou égal à 80 %. Outre l'obligation légale, le pourcentage de germination (en conditions standard) des semences mises sur le marché peut être supérieur et est défini par l'organisme de certification avec lequel travaille le producteur.

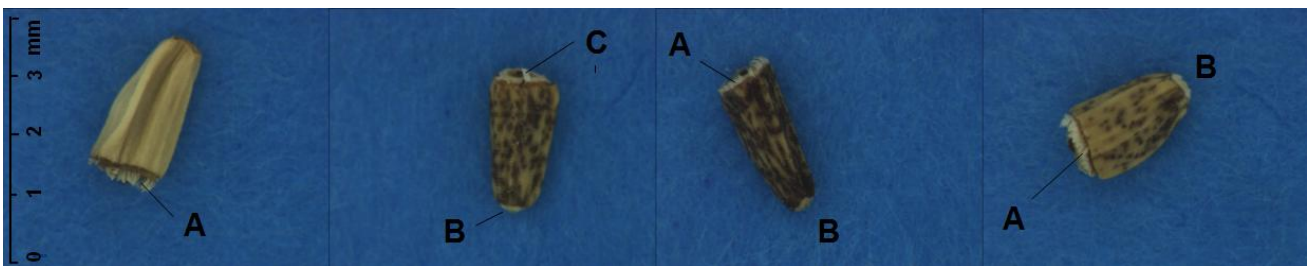


Fig. 2. Akènes de chicorée. A. Pappus. B. Lieu d'émergence de l'apex radulaire. C. Pappus réduit à une écaille.

Dans le développement et la maturation des semences, on distingue trois phases principales: l'histodifférenciation ("histodifferentiation"), l'expansion ("filling") et le séchage naturel sur pied ("maturation drying") (Bewley *et al.*, 2006). Au cours de l'histodifférenciation, après la double fertilisation de l'oosphère et du noyau de l'albumen, deux structures sont formées: l'embryon et l'albumen. Au cours de cette phase, les différents types de tissus se forment et l'augmentation du poids frais est forte.

La plupart des réserves issues de la plante mère sont déposées dans les tissus de stockage pendant la phase d'expansion. L'eau est déplacée des cellules et remplacée par les nutriments qui seront utilisés pendant la germination. Il en résulte une diminution de la teneur en eau et une augmentation du poids sec, tandis que le poids frais varie peu. A la fin de cette phase, la semence a atteint la maturité physiologique, c'est-à-dire le moment où sa viabilité et sa vigueur sont maximales (Black *et al.*, 2006). Pour la chicorée, il n'y a plus d'albumen significatif à maturité et la plupart des réserves sont emmagasinées dans les cotylédons. Les semences sont de type orthodoxes et deviennent tolérantes à la dessiccation pendant cette phase.

A la fin de la phase d'expansion, les semences se trouvent cependant à une teneur en eau trop élevée pour être stockées. De plus, elles sont généralement dormantes, ce qui évite une germination précoce sur la plante-mère. Le séchage naturel sur pied est marqué par l'arrêt de l'augmentation du poids sec et une accélération de la diminution de la teneur en eau. Le séchage peut être accéléré en coupant les plantes et en les laissant reposer en champ. Si le séchage naturel ne suffit pas, il doit être complété par un séchage artificiel.

A cause de l'étalement de la floraison, la présence de semences immatures est inévitable. Par ailleurs, les lots de semences contiennent des impuretés. Les opérations de séchage et de nettoyage sont donc destinées à abaisser la teneur en eau des semences, éliminer les impuretés et sélectionner

les semences les plus matures.

Au cours du séchage artificiel, les semences sont séchées dans une étuve ventilée à 30 °C pendant 24 heures afin de réduire leur teneur en eau à 6 – 7 %.

Les opérations de pré-nettoyage ont pour but d'éliminer les impuretés et les corps étrangers sur base de la taille et du poids. Le tri selon la taille réalisé à l'aide d'un trieur alvéolaire et/ou calibre est effectué dans le but de faciliter les opérations d'enrobage. Pour éliminer les impuretés légères et les poussières, un pré-nettoyeur et/ou un nettoyeur/séparateur sont utilisés (Commeau & Spire, 1996).

Des tables densimétriques sont ensuite utilisées pour distinguer les semences les plus denses qui ont atteint la maturité physiologique de celles qui sont plus légères (Fig. 3). Le débit de semences à traiter est de l'ordre de plusieurs centaines de kg par jour, soit plusieurs milliers de semences par seconde à raison de 8 heures quotidiennes. Par ailleurs, des tests de germination sont effectués sur échantillons selon une procédure définie par l'International Seed Testing Association (ISTA).

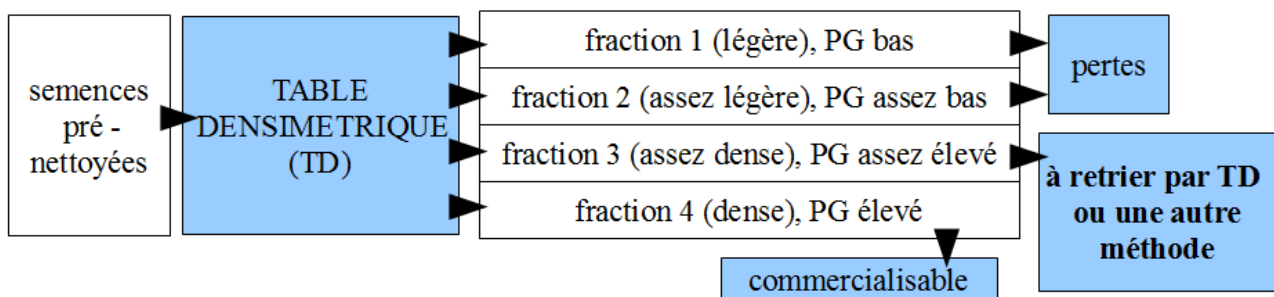


Fig. 3. Résultat typique d'un tri par table densimétrique.

1.2. Usage de la vision artificielle

La vision artificielle a été considérée comme méthode alternative pour le contrôle de qualité et le tri des semences. On distingue la vision en couleurs (caméra classique) destinée à détecter les défauts de coloration, de forme et de texture et la mesure de la fluorescence chlorophyllienne destinée à estimer la maturité des semences en détectant les résidus de chlorophylle.

Plusieurs études montrent qu'il existe des corrélations entre les caractéristiques externes des semences, mesurées par vision artificielle, et leur pouvoir germinatif. Illipronti *et al.* (1997, 2000) montrent que, pour le soja, une faculté germinative élevée se traduit par une couleur caractéristique, une taille suffisante et l'absence de fissures. En effet, une couleur non conforme peut résulter d'un séchage trop ou trop peu intense, elle peut traduire l'immaturité de la graine, provenir d'attaques fongiques, virales, ... La présence de fissures résulte d'altérations provoquées au cours de la récolte ou du convoyage. Elle peut soit altérer l'embryon, soit provoquer le dessèchement du tissu nutritif. Il est aussi possible, par vision artificielle, de détecter automatiquement les grains endommagés de blé (Luo *et al.*, 1999), de maïs (Zayas *et al.*, 1990) et de soja (Shatadal et Tan, 2003). D'autre part, Hammond *et al.* (1996) comparent des graines de tomates ayant séjourné 6 ans dans l'espace avec des graines 'terrestres' et montrent que les premières présentent une augmentation de porosité des couches superficielles due à l'action des rayons cosmiques. Le pouvoir germinatif des premières est supérieure, car l'augmentation de porosité facilite les échanges d'eau et d'éléments nutritifs quand la graine est en contact avec le sol.

Plusieurs auteurs ont donc cherché à doser la chlorophylle en tant qu'indicateur de la maturité des semences. En mesurant la teneur en chlorophylle par spectrométrie après extraction, Steckel *et al.*

(1989) ont montré que les cypsèles de carotte (*Daucus carota* L.) présentent un contenu en chlorophylles dépendant de leur état de maturité. Des recherches ont été menées pour évaluer la fluorescence chlorophyllienne de manière non destructive : la fluorescence chlorophyllienne de graines de soja (*Glycine max* L.) (Illipronti *et al.*, 1997), de semences de chou (*Brassica oleracea* L.) et de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Jalink *et al.*, 1998 ; Jalink *et al.*, 1999) ainsi que de grains d'orge (*Hordeum vulgare* L.) (Konstantinova *et al.*, 2002) a été mesurée en laboratoire. Pour toutes ces espèces, les auteurs ont montré que la fluorescence chlorophyllienne diminuait pendant la maturation des semences et que les semences moins fluorescentes avaient en moyenne un pouvoir germinatif plus élevé. Suhartanto (2002) a examiné l'évolution de la fluorescence chlorophyllienne des fruits de tomate parallèlement à celle des semences. Il a montré que la première disparaissait plus tard que la seconde, alors que la maturation des semences est presque terminée.

Les conclusions obtenues sur les espèces mentionnées ne peuvent être étendues aux cypsèles de chicorée car seul le fruit est observable de façon non-destructive. Il est cependant important de citer que l'éthylène (hormone) intervient à la fois dans le développement du fruit et celui de la semence (Grantley & Roberts, 2006). Même s'il n'est pas certain que cette action soit simultanée, cela indique que la maturation du fruit et celle de la semence sont probablement liées.

1.3. Objectif général

On distingue deux objectifs potentiels: le premier est un objectif de **contrôle** de la qualité des lots (réalisé actuellement par le biais de tests de germination), le deuxième est un objectif d'**amélioration** de la qualité (par le tri des semences en ligne et l'obtention, par ce tri, de lots de qualité plus élevée). Dans le cadre de cette étude, seul l'objectif d'amélioration est pris en compte. En effet, le contrôle de qualité des semences sur base d'attributs mesurés par vision artificielle ne peut être effectué que si la qualité des semences peut être évaluée de façon fiable sur base de ces seuls attributs. Il s'est rapidement avéré que les attributs visibles ne donnaient qu'une information partielle sur la viabilité des semences et par conséquent, l'évaluation de la qualité sur base des attributs visibles ne peut suppléer aux tests de germination qui sont beaucoup plus précis, objectifs et reconnus comme méthode de référence. Par contre, l'objectif d'amélioration peut être poursuivi car il n'est pas requis, pour une méthode de tri, d'être efficace à 100 %. Le tri peut être effectué successivement par différentes machines basées sur des principes différents.

Il existe actuellement des machines permettant trier les grains sur la base de leur couleur globale (*trieurs colorimétriques*) ou d'éliminer les grains cassés (*trieurs à alvéoles*). Des machines réalisent par vision artificielle le contrôle de qualité de produits de petite taille comme des petits pois, des haricots, etc. (Elbicon à Leuven, KEY aux USA, etc.). Dans ce cas précis, il s'agit d'éliminer des corps étrangers (cailloux, morceaux de branches, etc.) de la production, en les expulsant grâce à un système pneumatique. Face à un produit, le mécanisme de reconnaissance doit prendre une décision de type 'tout ou rien' afin de répondre à la question 'est-ce un petit pois (ou un haricot) ou non ?'

Par contre, il n'existe à l'heure actuelle aucune solution de vision artificielle permettant de trier les semences de chicorée sur la base de leur maturité ou de leur pouvoir germinatif. Il serait profitable de mettre au point une méthode de tri, basée sur la vision artificielle, complémentaire au tri mécanique déjà effectué. Cette nouvelle méthode permettrait d'obtenir une proportion de semences commercialisables plus élevée (avantage pour le producteur de semences) **et/ou** une levée au champ supérieure à celle qui est obtenue aujourd'hui (avantage pour l'agriculteur). Pour une méthode de tri efficace, l'avantage quantitatif ou qualitatif est une question de choix, l'un pouvant être substitué à l'autre.

Dans ce cadre, la vision artificielle présente un grand intérêt du fait qu'elle est non-destructive et objective. L'objectif de la recherche est donc de déterminer si cette technique, et en particulier la

mesure de la fluorescence chlorophyllienne des semences, permet d'améliorer les lots de semences de chicorée dans un contexte de production industrielle. Il s'agit donc de déterminer s'il est possible d'obtenir des lots de semences de meilleure qualité, au point de vue du pouvoir germinatif, de la vigueur et du rendement. L'étude est focalisée sur les variétés destinées à la production d'inuline.

2. Méthode, matériel et techniques

2.1. Méthode générale

La méthode consiste à concevoir et mettre en œuvre des techniques de vision artificielles adaptées à l'observation et à la détection automatisée de traits et de caractères visibles des semences, que l'on appellera "attributs". Ces attributs appartiennent à deux catégories: ceux mesurables à partir du rayonnement visible réfléchi par les semences exposées à de la lumière blanche (dans le cadre de ce qu'on appelle couramment la vision en couleurs) et les attributs mesurés à partir des images de la fluorescence de la chlorophylle dont la dégradation a été constatée pendant le développement des semences d'autres espèces. Les attributs ont été quantifiés sur des échantillons représentatifs ou proches de ceux habituellement traités par les producteurs de semences. Les semences photographiées ont subi des tests de germination afin de déterminer leur viabilité (pourcentage de germination), et si possible leur vigueur (dont la vitesse de germination est un indicateur-clé). Une approche statistique a été choisie pour déterminer les attributs les plus efficaces pour être utilisés dans un processus de tri en ligne automatisé des semences. Des critères d'efficacité du tri ont été définis en accord avec les variables à maximiser dans le cadre de la production: la qualité et le rendement. Les attributs ont été testés en relation avec ces variables et leur potentiel d'utilisation pour le tri a été évalué. Enfin, les attributs mesurables par vision artificielles ont été comparés aux attributs de poids et de dimensions déjà utilisés par les producteurs dans le processus de nettoyage.

2.2. Matériel végétal

2.2.1. Origine

Il n'était pas envisagé de déterminer les causes exactes de la disparition de la chlorophylle dans les tissus du péricarpe des cypsèles de chicorée et d'identifier, s'il existe, le facteur commun déclenchant à la fois cette disparition et les processus de développement de la semence. L'approche choisie est statistique et se base sur l'observation, la caractérisation et l'exploitation des corrélations existant entre les attributs des semences mesurables par les techniques de vision artificielle et les performances de germination. Dans ces conditions, il faut utiliser un matériel végétal proche de celui habituellement traité et commercialisé.

Les semences utilisées pour les expérimentations sont issues de variétés identifiées, en utilisant la définition de Halmer (2006), c'est-à-dire des populations de semences ayant au moins une caractéristique ou un groupe de caractéristiques qui la distingue des autres et qui, lorsque la reproduction est effectuée en conditions contrôlées, se transmet intégralement à la génération suivante. Dans cette définition, le terme cultivar est considéré comme synonyme de variété. Les variétés hybrides ne sont pas considérées dans le cadre de cette étude. Hormis la ou les caractéristiques ciblées par la sélection, les semences d'une même variété conservent une grande variabilité dans leur matériel génétique. En conséquence, les semences étudiées présentent un variabilité résiduelle importante (c'est-à-dire qui ne dépend que de la plante, capitule et fleur à l'origine de la semence) pour la plupart des attributs et variables étudiés: forme, couleur (Ooms & Destain, 2010a), fluorescence, poids sec et performances de germination (Ooms & Destain, 2012a) mais pas pour la teneur en eau à la récolte, qui ne dépendait que de facteurs contrôlés.

L'akène de chicorée "présente des caractéristiques morphologiques et physiologiques liées aux tissus exclusivement maternels" (Rabau *et al.*, 1987), ce qui signifie que la pollinisation croisée (pollen provenant d'autres variétés) n'affecte pas les caractéristiques morphologiques et physiologiques des akènes.

La plupart des semences actuellement commercialisées sont issues de variétés non hybrides et les

conclusions tirées sur la pertinence d'un attribut mesurable permettant de discriminer *in situ* les semences de haut pouvoir germinatif (c'est-à-dire dont la probabilité de germer est la plus grande) et de plus grande vigueur (qui germent plus rapidement en conditions standardisées et qui ont de meilleures chances de survie dans des conditions plus difficiles rencontrées en champ) ne peuvent être valides que si elles sont basées sur des échantillons semblables à ceux habituellement commercialisés.

2.2.2. Traitement post-récolte des échantillons destinés aux expérimentations

Cette section précise comment les traitements pratiqués habituellement sur les semences commerciales ont été appliqués aux semences utilisées pour les expérimentations.

Séchage artificiel

Toutes les semences utilisées dans le cadre des expérimentations ont été séchées artificiellement à 30°C pendant 24h avec ventilation.

L'équation de Cromarti *et al.* (1990) définit la teneur en eau à l'équilibre de semences :

$$m. c. = (1 - X) \frac{\sqrt{-440 \ln(1 - RH)}}{1,1 + T/90} \quad (1)$$

m.c.: « moisture content » = teneur en eau des semences à l'équilibre ;

X: teneur en huiles de la matière sèche (valeur décimale) ;

RH: « relative humidity » = humidité relative de l'air (valeur décimale) ;

T: température en °C.

Si la relation est vérifiée pour les semences de chicorée, la matière sèche des semences devrait contenir environ 50 % d'huiles et leur teneur en eau devrait monter jusqu'à 9 % si elles sont stockées à 25 °C et 75 % HR, soit les pires conditions observées brièvement pendant le stockage des semences ayant servi aux expérimentations. Une HR de 75 % est également le seuil au-delà duquel la sénescence est généralement accélérée (Walters, 2006). A 20°C et 50% HR, les semences peuvent être stockées pendant au moins un an avant que la sénescence affecte significativement la qualité des lots. L'utilisation de températures plus basses augmente leur durée de vie.

Pré-nettoyage et nettoyage

La plupart des semences utilisées pour les expérimentations ont été pré-nettoyées par le producteur ou ne nécessitaient pas de pré-nettoyage en raison d'une récolte manuelle.

Les semences destinées à tester les attributs de forme, de couleur et de texture ont été triées sur la table densimétrique. Les semences destinées à tester les attributs de fluorescence chlorophyllienne n'ont pas été triées sur les tables densimétriques. L'importance de la différence est commentée par Ooms *et al.* (2012b) et dans la section 4.4.

2.2.3. Dormance

Les semences de chicorée sont sujettes à la photodormance et à la thermodormance de façon similaire à la laitue (*Lactuca sativa* L.) (Ryder, 2006). La photodormance est caractérisée par un besoin, pour la germination, d'activer les phytochromes par l'exposition à de la lumière rouge. La lumière infrarouge (comme à l'ombre d'une canopée) inverse la conversion et favorise la dormance. Cette forme de dormance ne semble pas poser de problème en pratique et les phytochromes peuvent

être activés pendant la maturation de la semence sur pied lorsque les akènes sont exposés à la lumière. Il y a malheureusement peu d'information disponibles sur les conditions exactes dans lesquelles les semences de chicorées sont dormantes. Dans le cadre de cette étude, toutes les semences ont été cultivées en plein air (ou sous serre mais à la lumière du jour), séchées en étuve à 30°C pendant 24 heures et stockées pendant au moins un mois à température ambiante (15 - 25 °C). Cet mûrissement après-récolte (“afterripening”) est favorable à la levée de la dormance (Black *et al.*, 2006). Les semences ont toutes été exposées à la lumière du jour pendant au moins plusieurs minutes après le séchage artificiel et les tests de germination ont été réalisés à la lumière (alternance jour - nuit) à 20°C. Dans ces conditions, il est peu probable que la dormance affecte les résultats des tests de germination. L'ISTA recommande l'usage d'une solution de KNO₃ à 0,2 % pour lever la dormance (ISTA, 2005) mais étant donné que cette recommandation ne semble pas être appliquée à grande échelle, le choix a été fait de s'en passer pour les expérimentations.

3. Expérimentations et résultats - vision en couleur

3.1. Essais préliminaires

Après avoir pris connaissance des travaux de Corbineau & Côme (1990), qui ont démontré que les semences matures de variétés hybrides avaient une couleur plus sombre, des essais préliminaires ont été menés afin de tenter de reproduire ce résultat.

Il était également envisagé de mesurer un plus grand nombre d'attributs visibles et de tester leur potentiel pour le tri des semences en fonction de la viabilité. Pour y parvenir, un système de vision artificielle en couleurs a été mis au point. Les caractéristiques techniques des éléments du système de mesure sont décrites par Ooms (2004) et Ooms & Destain (2010a). Il permet de prendre des images des semences individuelles de chicorée dans un format couleur RGB à haute résolution, tout en garantissant des conditions d'éclairage constantes pour une bonne répétabilité. Les images de la Fig. 2. ont été acquises avec ce système.

Malgré le soin apporté à l'éclairage, celui-ci n'est pas parfaitement uniforme. De plus, le capteur 3-CCD (« charge coupled device » ou récepteur à transfert de charge) de la caméra n'est pas homogène et chaque pixel n'est pas sensible à la lumière de la même façon. Pour compenser ces inégalités, un objet uniforme considéré comme parfaitement blanc (référence) est photographié. L'image de cet objet est ensuite utilisée pour corriger, de façon proportionnelle, la couleur des pixels des images des semences. Cette correction est généralement imperceptible à l'œil nu.

La segmentation permet d'ignorer la partie de l'image correspondant au support (de couleur bleu vif, très distincte de celle des semences). Enfin, la "couleur" moyenne de la semence peut être mesurée. Cette couleur peut se mesurer de différentes façons (plus de 130 recensées dans la littérature). Pour ces essais préliminaires, les attributs étaient les moyennes des canaux R (rouge), G (vert) et B (bleu) et leurs écarts-types.

Les échantillons utilisés provenaient de 4 variétés différentes (Arancha, Melci, Maurane, Nausica) et avait été séchés artificiellement et triés sur table densimétrique. Seule la meilleure fraction était à ce moment disponible (fraction 4, Fig. 3) c'est-à-dire la plus dense et de meilleur pourcentage de germination (PG). Le PG des lots d'où provenaient les échantillons avait été évalué par le producteur comme étant supérieur ou égal à 93 %. Le producteur avait en effet pour habitude de se débarrasser des fractions moins denses, ce qui constitue une perte sèche car ces fractions pouvaient contenir encore plus de 80 % de semences viables.

Les 4 lots de 150 semences ont été photographiés (images individuelles des semences). Après avoir mesuré la couleur des semences, un test de germination individuel et réalisé selon les normes de l'ISTA (2005) a été mis en œuvre afin de déterminer leur pouvoir germinatif. Après 14 jours chaque semence a reçu un résultat de 0 (non germée ou anormale) ou 1 (germée sans anomalie). Pour chaque variété les semences ont été réunies en deux groupes (non germées et germées) et la valeur de la couleur (moyennes des canaux R, G, B et écarts-types de ces valeurs pour les pixels de l'image) a été comparée pour chacun des deux groupes.

Une analyse de la variance indique une différence significative entre les semences viables et non-viables pour la variété Melci et trois des attributs (moyenne bleu, écarts-types vert et rouge), ainsi que pour la variété Maurane avec un attribut (écart-type bleu). Aucune différence significative n'a été détectée pour les autres cas. Cependant, le résultat positif obtenu ne s'appuie que sur l'observation d'une dizaine de semences non germées et est peu fiable.

En conclusion de ces essais préliminaires, on constate que la couleur seule est probablement

insuffisante pour détecter les semences non viables dans les lots déjà triés par table densimétrique et de haut pouvoir germinatif. Ces lots contiennent probablement très peu de semences immatures car les semences plus denses ont terminé la phase de remplissage et atteint la maturité physiologique. La cause de non-germination des semences non viables présentes dans ces lots demeure à ce stade inconnue.

Publication: les résultats de ces essais ont été publiés dans le cadre d'une thèse de Master à l'université de Cranfield à Silsoe, UK (Ooms, 2004).

3.2. Expérimentation complète

Il était nécessaire d'utiliser un échantillon plus représentatif des semences habituellement traitées par le producteur. Le choix s'est porté sur un échantillon de 1500 semences triées par table densimétrique (fraction 1, Fig. 3) de la variété Nausica, dont le pourcentage de germination était estimé à 50 %. Cet échantillon comportait un grand nombre de semences non-viables, y compris des semences immatures.

Les attributs mesurés sur les images ont été choisis en s'inspirant des expérimentations réalisées précédemment sur d'autres espèces. « Les principales sources sont les 68 attributs de forme et les 78 attributs de couleur (espace RGB) utilisés par Luo *et al.* (1999) pour trier les grains de blé en fonction des dégâts externes, ainsi que la liste étendue d'attributs de couleur, forme et texture rassemblée par Majumdar *et al.* (2000a, 2000b, 2000c, 2000d) pour classifier les céréales. Ont été également incluses les caractéristiques dérivées des histogrammes de niveaux de gris utilisés par Ghate *et al.* (1993) pour analyser l'état de maturité de noix d'arachide, les descripteurs de forme utilisés par Zayas *et al.* (1990) et Liao *et al.* (1993) pour distinguer les grains de maïs brisés, et ceux utilisés par Shatadal *et al.* (1995) pour différencier diverses espèces de semences. » (Ooms & Destain, 2010a). Au total, environ 360 attributs décrivant l'aspect de la semence de chicorée d'après leur couleur, forme et texture ont été sélectionnés. Pour l'analyse de la couleur, le *pappus* a été considéré comme une entité séparée avec ses caractéristiques propres. Un algorithme a été développé pour estimer automatiquement la totalité des attributs à partir de l'image d'une semence. Toute déformation, tache inhabituelle, décoloration, élongation, stries ou autre anomalie visible présente de façon systématique sur un grand nombre de semences devrait se traduire par un set d'attributs significativement différent et permettre leur identification automatisée.

Comme précédemment, les semences ont subi un test de germination individuel pour déterminer si elles étaient viables. On disposait donc, pour chacune des 1500 semences, de la valeur estimée des 360 attributs visibles et du résultat du test de germination (0 ou 1).

Etant donné que l'application visée était le tri des semences en ligne, l'objectif était de déterminer quels étaient les meilleurs attributs ou combinaisons d'attributs, qui, utilisés dans un classifieur pour effectuer un tri des semences, pouvaient produire un lot de semences de meilleure qualité avec un minimum de pertes. Le principe de base est le suivant:

- Choix d'un set d'attributs
- Mise en œuvre dans un classifieur (simulation de tri)
 - * construction du classifieur avec une partie des données
 - * appréciation des performances du classifieur avec le reste des données

La méthode de travail adoptée combinait un modèle de sélection séquentiel appelé "generalized sequential forward selection" (Webb, 2002) pour le choix des attributs à tester, des réseaux de neurones de type "backpropagation" et l'analyse discriminante linéaire et quadratique comme classifieurs, et une approche originale pour l'appréciation du résultat. Le résultat de la simulation de

tri est jugé selon les deux critères importants pour le producteur: l'amélioration de la qualité du lot de semences et la quantité de semences récupérées.

Ces deux critères sont antagonistes. Si le classifieur est paramétré pour ne sélectionner que les meilleures semences, le rendement sera moindre. Dans le cas contraire, plus de semences seront acceptées comme étant viables au détriment de la qualité. Cet équilibre est traduit par le produit $E = Q_i \times Y$, où E est l'efficacité estimée du tri, Q_i est l'amélioration de la qualité (ici du pourcentage de germination) et Y le rendement. Pour juger chaque combinaison d'attributs - classifieur, la valeur de E a été prise en compte, de même que le taux de classement correct.

Les résultats montrent que seuls quelques attributs de texture, la rondeur et un attribut de teinte (Fig. 4) semblent avoir une utilité pour le tri des semences. L'utilisation de ces attributs donne une valeur de E maximale de 0,15 et un taux de classement correct situé entre 55 et 65 % (pour un pourcentage de germination mesuré d'environ 46 %, seul un taux de classement correct supérieur à 54 % peut être considéré comme utile). Ces résultats sont peu fiables car ils sont issus d'un très grand nombre de tests de combinaisons d'attributs et chaque tentative n'a été validée qu'une seule fois (la technique de rééchantillonnage "bootstrap" n'avait alors pas encore été implémentée).

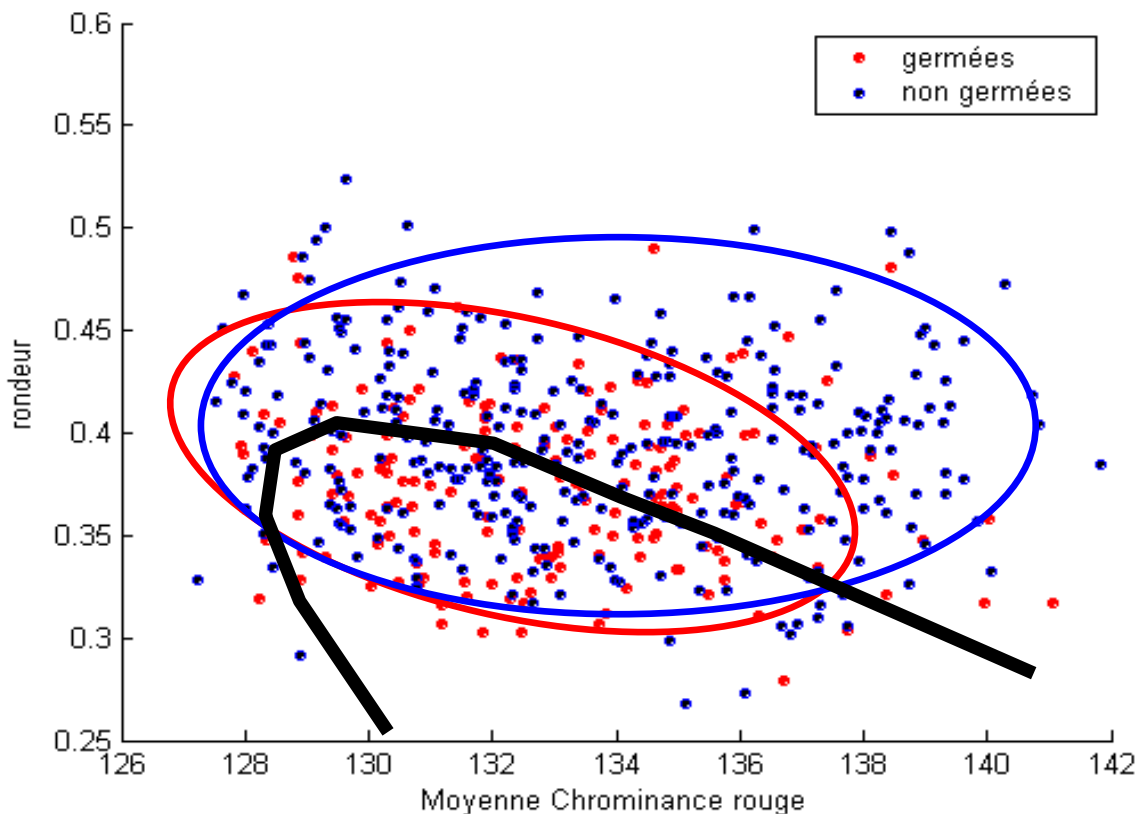


Fig. 4. Tri des semences sur base de la chrominance rouge et de la rondeur en utilisant l'analyse discriminante quadratique. Les semences non viables (bleu) sont principalement localisées dans le coin supérieur droit de la figure (plus rondes et plus rouges). Les ellipses représentent les zones de confiance (95 %) basées sur l'hypothèse de distributions normales pour chaque classe. La ligne noire représente la limite entre les deux classes, les semences situées à l'intérieur ayant une plus grande probabilité d'être viables et vice-versa.

Certaines techniques ont été testées puis abandonnées. Une analyse en composantes principales permet d'exploiter toute l'information disponible en réduisant le nombre d'attributs à 4 ou 5, chaque nouvel attribut étant une combinaison linéaire des 360 attributs de base. Elle permet d'obtenir en théorie un meilleur résultat tout en gardant un nombre d'attributs limité. Cependant, cette technique

est impraticable pour le tri des semences en ligne, car le nombre d'attributs à mesurer pour calculer les composantes principales reste relativement élevé et incompatible avec le débit demandé. Un partitionnement de données (« cluster analysis ») permet en principe de détecter les groupes de semences ayant des caractéristiques semblables et d'identifier par exemple plusieurs types de défauts. Cependant, l'application de cette analyse donnait des résultats non répétables et très différents en fonction des paramètres utilisés pour effectuer les calculs, signifiant qu'aucun groupe de semences ayant des attributs spécifiques ne pouvait être distingué.

En conclusion de cette expérimentation, on ne peut que constater, à quelques exceptions près, l'indépendance du pouvoir germinatif vis-à-vis des attributs visibles. Les variations de l'aspect des semences sont essentiellement liées à des facteurs génétiques et ne permettent pas de prédire la qualité de la semence contenue dans l'akène.

Publication: Les résultats de ces expérimentations ont été publiés dans le cadre d'une thèse de Master à l'université de Cranfield à Silsoe, UK (Ooms, 2004). Un résumé en a été publié dans la revue BASE (Ooms & Destain, 2010a). Les critères utilisés pour estimer l'efficacité des attributs visibles ont été publiés dans Pattern Recognition Letters (Ooms *et al.*, 2010b).

4. Expérimentations et résultats - fluorescence chlorophyllienne (FC)

4.1. Mise au point du système d'imagerie en fluorescence

La FC était un critère plus prometteur pour le tri des semences dans la mesure où, dans la littérature, un résultat très significatif avait été obtenu non seulement sur des semences de plusieurs espèces, mais aussi sur des fruits.

La disparition de la chlorophylle est considérée comme un phénomène lié à la maturation des fruits et des semences. La dégradation de la chlorophylle est une suite de réactions enzymatiques (Fig. 5). La chlorophylle *b* est d'abord convertie en chlorophylle *a* avant de poursuivre la même voie de dégradation que cette dernière. Le phéide *a* est la dernière molécule partageant (approximativement) les propriétés optiques de la chlorophylle (dues au noyau tétrapyrrole). Par conséquent, la mesure de la FC ne permet d'observer que l'étape de dégradation du phéide *a*, les étapes antérieures et ultérieures restant indétectables par cette technique. Il a été observé que la dégradation dans les semences de chicorée se produit *in vivo*, dans les tissus hydratés. La chlorophylle ne se dégrade que très lentement dans les semences séchées, sauf lorsqu'elles sont exposées à la lumière. La chlorophylle se dégrade spontanément à la lumière même sans la présence d'enzymes.

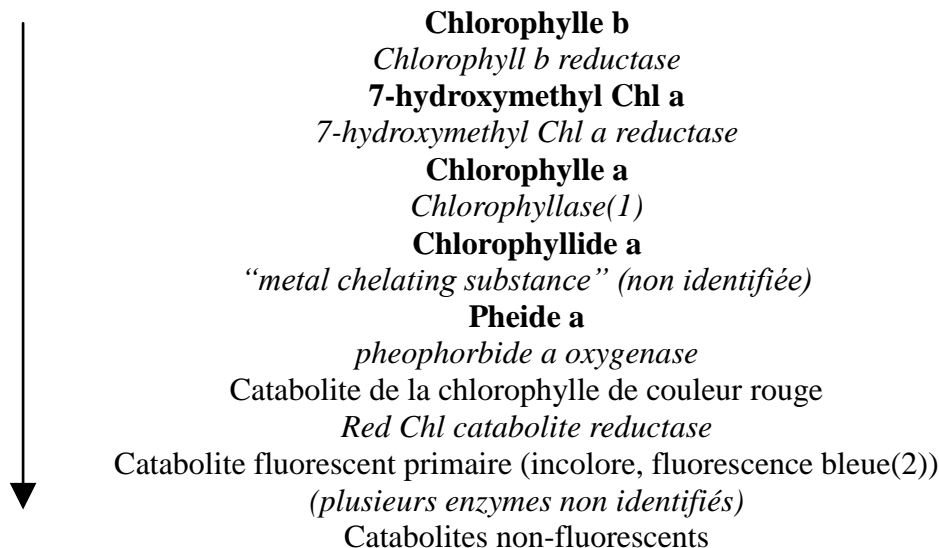


Fig. 5. Principale voie de dégradation de la chlorophylle dans les végétaux supérieurs (d'après Barry, 2009) italique : enzymes. (1) Mis en doute par l'auteur. (2) Hörtensteiner & Kräutler (2011). Alternativement, le pheide *a* peut être converti en pyropheide *a*. Gras : fluorescent et détecté par le système de vision.

On ne s'attardera pas ici à décrire en détails le principe de la mesure, qui est commun à toutes les études antérieures et décrit par Ooms & Destain (2010a). On en rappellera simplement l'essentiel. De la lumière bleue ou rouge (absorbée par les chlorophylles *a* et *b*) est envoyée sur l'objet. Lorsque l'objet est une semence sèche, la chlorophylle est inactive, sa concentration est très faible (environ 1 mg/kg) et l'intensité de la fluorescence émise par l'akène est une fonction positive de la quantité de chlorophylle dans les tissus superficiels de celui-ci. La fluorescence est émise dans le rouge et proche infra-rouge (650-730 nm) et un filtre optique passe-haut permet de masquer la lumière incidente (bleue ou rouge) réfléchiée directement par l'akène. Une caméra placée derrière ce filtre permet d'obtenir une image de la fluorescence de l'akène. Le niveau d'automatisation du système de mesure est assez limité. Il est possible, par l'application de plusieurs algorithmes successifs, d'extraire les valeurs individuelles de FPER et FPAP à partir d'une image en fluorescence d'une

vingtaine de semences (issues par exemples d'un même capitule) disposées manuellement sur un support. Cependant, la détection du *pappus* est entièrement automatisée. Le *pappus* est le plus souvent beaucoup plus fluorescent que le reste du péricarpe.

Il est important de citer que les deux attributs mesurés sont le niveau de fluorescence du péricarpe (FPER) et le niveau de fluorescence des *pappus* (FPAP) et non le contenu réel en chlorophylles. Ces niveaux de fluorescence sont définis relativement à l'intensité de la lumière incidente estimée par une procédure d'étalonnage décrite par Ooms & Destain (2011). Une autre particularité du système mis au point est sa grande sensibilité. En utilisant de la lumière bleue, on peut envoyer sur l'objet beaucoup plus de lumière que lorsqu'on utilise de la lumière rouge. Cela est dû à la plus grande largeur du spectre d'absorption de la chlorophylle dans la partie bleue du spectre lumineux et son éloignement du spectre de fluorescence situé dans l'infrarouge. En contrepartie, l'usage de lumière bleue ouvre la porte aux signaux de fluorescence parasites, étant donné que de nombreux composés fluorescents absorbent également la lumière bleue. De plus, le filtre bleu utilisé comporte une faiblesse (perméabilité limitée à l'infrarouge) qui provoque un signal parasite permanent. Celui-ci n'est cependant pas assez important pour affecter les conclusions des expérimentations et facilite même l'étalonnage du système (Ooms & Destain, 2011).

Publication: Le système d'imagerie est présenté par Ooms & Destain (2010a). L'analyse d'images et des compléments d'information sur le comportement du système sont décrits par Ooms & Destain (2011).

4.2. Essais préliminaires – simulations de tri

Des simulations de tri ont été effectuées selon le même principe que pour la vision en couleurs, à partir de deux échantillons :

- un échantillon de 800 semences de la variété Nausica (pourcentage de germination 86 %), non triées par table densimétrique;
- un échantillon de 200 semences de la variété Hera (PG 83 %), triées par table densimétrique (fraction 2, Fig. 3).

Les simulations de tri du premier échantillon ont donné un résultat positif : il était possible d'améliorer le lot de semences de 86 à 92 % de pourcentage de germination avec un rendement Y de 60 %. La Fig. 6 montre la courbe d'optimisation de tri (SOC, Y en fonction de l'amélioration de la qualité Qi) pour cet échantillon. Les simulations de tri du second échantillon ont donné un résultat nul. Il n'était pas possible d'améliorer le pourcentage de germination sur la seule base de la FC.

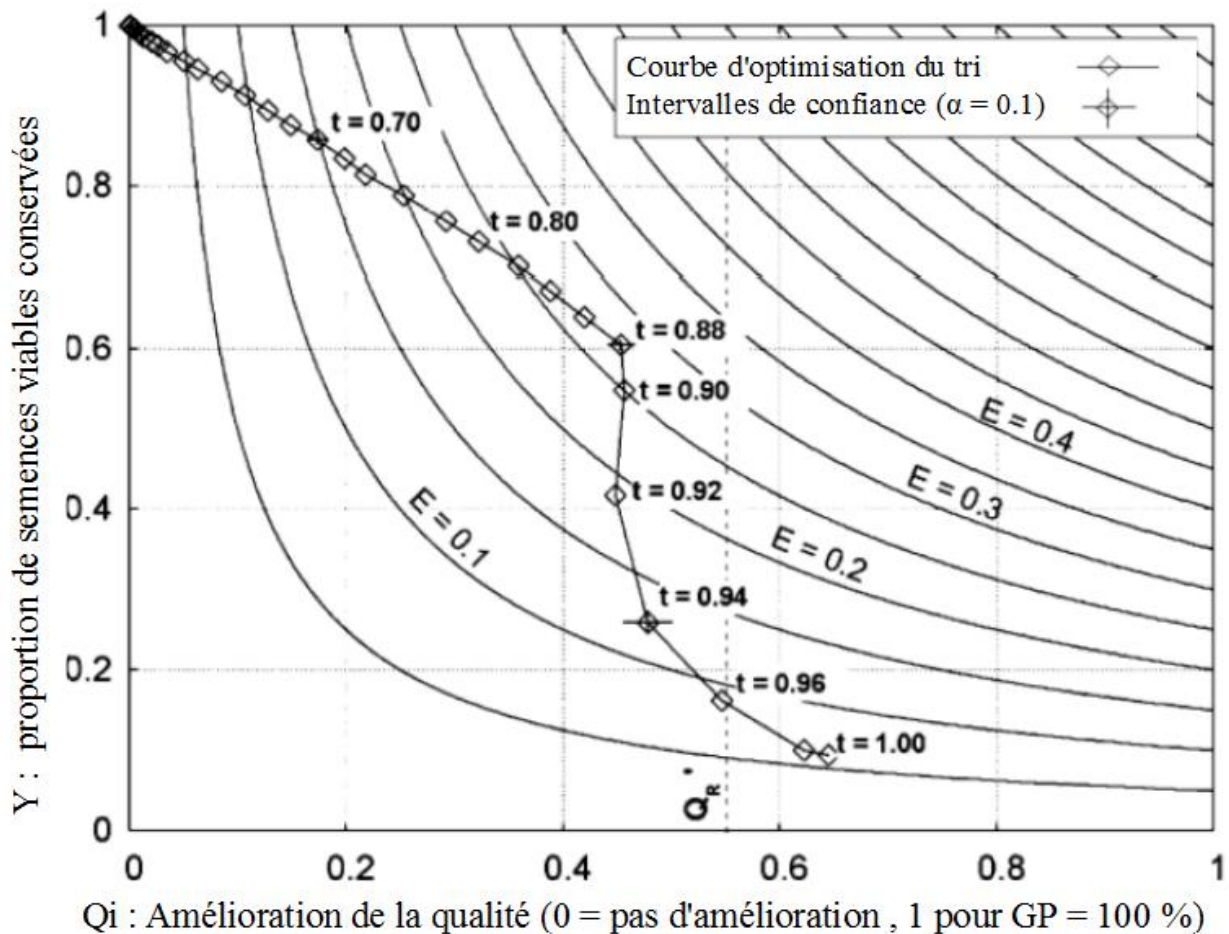


Fig. 6. Courbe d'optimisation du tri de semences de la variété Nausica (PG initial: 86 %) sur base de la FC, classifieur bayésien avec estimation non-paramétrique des densités de probabilités. t = paramètre du classifieur. Q_R' correspond à un PG de 93 %. $E = \text{produit } Y \times Q_i$ (Ooms et al., 2010b).

Le résultat sur les semences de la variété Hera indique que la mesure de la FC est peut-être redondante avec le tri par table densimétrique. Cela indiquerait que la densité, critère sur lequel est basé le tri par table densimétrique, serait fortement corrélé avec la FC.

Il était donc nécessaire d'en savoir plus sur les relations existant entre la densité, la FC, le pouvoir germinatif et la vigueur des semences.

Publication: Le premier essai a servi d'exemple pour la présentation des courbes d'optimisation de tri (*sorting optimization curve*, Ooms et al., 2010b). Les résultats de la deuxième expérimentation n'ont pas été publiés.

4.3. Evolution de la disparition de la chlorophylle dans les akènes et de leurs performances de germination pendant la maturation sur pied

Les premiers résultats démontrent qu'il serait risqué d'investir dans cette technique sans connaître son réel potentiel pour l'amélioration des lots de semences. Les questions que l'on se pose à ce stade sont encore nombreuses.

- La FC est-elle un indicateur fiable de la maturité ou dépend-elle principalement de facteurs externes indépendants du processus de maturation?

- Le manque de maturité est-il la principale cause de non-germination des semences ou est-il marginal par rapport à d'autres problèmes (défauts physiologiques, pathologiques, dégâts mécaniques, etc.)?
- La FC des akènes donne-t-elle réellement une information sur la qualité (performances de germination) des semences?
- La FC est-elle complémentaires ou redondante par rapport à la densité, déjà exploitée pour le tri des semences sur les tables densimétriques?

La principale faiblesse des essais préliminaires est le manque d'information quant à l'état de maturité des semences étudiées. Pour y pallier, il était nécessaire de produire des semences dont l'état de maturité était connu. Cet "état de maturité" peut être défini de deux façons, soit par la durée de maturation sur pied (entre l'anthèse et la récolte) soit par des attributs décrivant l'état d'avancement du processus de développement (histodifférenciation, accumulation des réserves et séchage). Ces attributs sont principalement le poids sec et la teneur en eau à la récolte. De plus, la vitesse de germination (VG), un indicateur de la vigueur, a été mesurée simultanément au pourcentage de germination afin de préciser les informations concernant la qualité des semences. En observant l'évolution des paramètres liées à la maturation, les attributs de FC et les performances de germination faisant suite à des conditions de croissance différentes, il est possible d'obtenir une partie des réponses aux trois premières questions posées. Cinq lots de semences ont été produits dans des conditions différentes. Les capitules ont été récoltés en prenant soin de contrôler la durée de maturation sur pied. La Fig. 7 résume les principaux résultats (qui sont dispersés dans les publications) après la fusion des séries présentant des caractéristiques identiques (Ooms *et al.*, 2012b). Les courbes noires correspondent aux semences obtenues en été 2006 à Warcoing sur des clones destinées à des travaux de sélection (Ooms & Destain, 2011). Les courbes bleues correspondent aux semences obtenues en automne 2010 à Gembloux en plein air sur des plants des variétés Melci et Hera (Ooms & Destain, 2012a). Les courbes rouges correspondent aux semences obtenues en automne 2010 en serre (graphes non publiés).

Les résultats indiqués au graphe A (Fig. 7) indiquent que nous observons la phase d'accumulation des réserves jusque 33 DAF. A ce moment devrait en principe commencer la phase de séchage naturel. Cependant, la perte en eau (graphe B) ralentit au lieu de s'accélérer. A 44 DAF les semences ont encore une teneur en eau à la récolte comprise entre 30 et 40 %, ce qui indique que le séchage naturel tarde à s'effectuer.

Le graphe E (Fig. 7) montre que les semences les plus matures (39 DAF et plus) ont un pourcentage de germination qui varie entre 48 et 75 % seulement, nettement en-dessous de ce qui est nécessaire pour la commercialisation. Quatre hypothèses sont formulées pour expliquer cette observation:

- une durée de maturation élevée ne garantit pas que la semence soit effectivement mature (grande disparité dans la vitesse de maturation des semences). Cette hypothèse ne semble pas valide au regard du graphe A, qui indique que la plupart des capitules ont achevé l'accumulation des réserves (et donc atteint la maturité physiologique) à 33 DAF.
- les semences qui ne germent pas après 39 DAF présentent d'autres défauts indépendants de la maturité. Un de ces « défauts » pourrait être une absence de fécondation.
- le séchage artificiel a causé des dégâts aux semences.

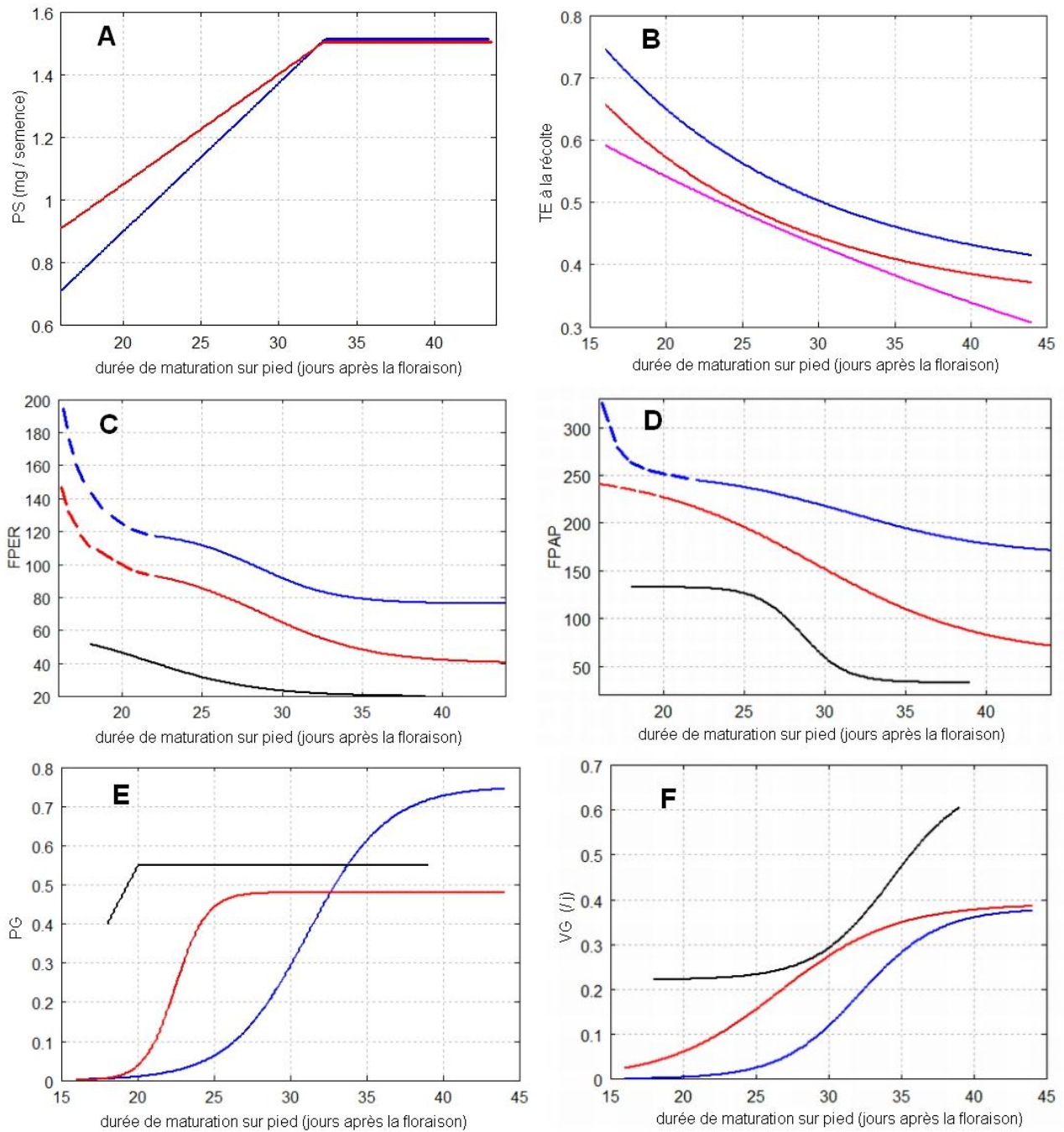


Fig. 7. Modélisation de l'évolution du poids sec (PS, **A**), de la teneur en eau à la récolte (TE, **B**), de la fluorescence chlorophyllienne (péricarpe FPER, **C** et pappus FPAP, **D**), et des performances de germination (pourcentage de germination PG, **E** et vitesse de germination VG, **F**) en fonction de la durée de maturation sur pied pour trois parcelles. Noir: pleine terre, Warcoing, été 2006 (pas de données pour PS et TE). Bleu: pleine terre, Gembloux, automne 2010; rouge : serre, automne 2010, disponibilité en eau illimitée; magenta : idem, mais irrigué deux fois moins. La série magenta est identique à la série rouge pour tous les graphes à l'exception de TE.

La phase d'accumulation des réserves semble achevée dès 33 DAF. Cela devrait signifier, en

théorie, que les semences ont atteint à 33 DAF la maturité physiologique. La maturité physiologique correspond également en théorie aux performances de germination maximales. Or, la valeur maximale de la vitesse de germination n'est pas atteinte avant 40 DAF. L'hypothèse formulée pour expliquer cette disparité est que les semences n'ont pas totalement acquis leur tolérance à la déshydratation à 33 DAF et que le séchage artificiel est mal supporté par les semences avant 40 DAF.

Les graphes démontrent que la FC est fortement dépendante des conditions de croissance, tout comme les performances de germination. Par contre, le processus d'accumulation des réserves, (poids sec, graphe A) semble moins affecté.

Un fait très positif est que la dégradation de la chlorophylle et le processus d'accumulation des réserves sont des phénomènes concomitants pour tous les lots observés. La FC diminue de façon ininterrompue entre 16 et 33 DAF, tandis que le poids sec augmente de façon continue pendant la même période. Cependant la corrélation entre les attributs de maturité (poids sec, teneur en eau à la récolte) et ceux de FC est modérée sur l'ensemble de la période étudiée, avec des valeurs de $|r|$ comprises entre 0,25 et 0,75 (Ooms *et al.*, 2012b).

Un autre fait gênant qui n'apparaît pas dans les graphes de la Fig. 7 est la grande variabilité des valeurs de FC observées. La Fig. 8 montre les données ayant servi à la modélisation de la courbe noire, Fig. 7, graphe D. Il est difficile d'identifier toutes les causes d'une telle variabilité, mais on peut citer que l'exposition à la lumière des akènes est très variable d'un capitule à l'autre en fonction de sa position, de son orientation et de la présence ou non des résidus de la corolle sur l'infructescence, la lumière étant un facteur important pour la présence de chlorophylle dans les tissus végétaux. Cette variabilité affecte négativement les résultats d'un tri basé sur la FC en introduisant une erreur aléatoire.

En conclusion, la fluorescence chlorophyllienne (FC) serait donc un indicateur assez pertinent de l'état de maturité des semences avant 33 jours après la floraison (33 DAF) (la conclusion basée uniquement sur les courbes de 2006 citait un intervalle compris entre 21 et 36 DAF : Ooms & Destain, 2011). Entre 33 et 40 DAF, une cause importante de mauvaise germination pourrait être une faible tolérance à la dessiccation et donc au séchage artificiel. Durant cette période, la FC ne diminue plus de façon importante et il serait donc difficile de distinguer les semences ayant mûri 33 DAF, mûres mais fragiles et les semences ayant mûri 40 DAF qui ont acquis leur plein potentiel. Enfin, il reste une proportion importante de semences non viables après 44 DAF, ce qui indique que le manque de maturité pourrait ne pas être la cause principale de la mauvaise viabilité des semences.

Pour aller plus loin et déterminer le potentiel de la FC dans un contexte de tri, des simulations ont été effectuées.

Publication: Une partie des courbes de la Fig. 7 ont été publiées dans Ooms & Destain (2011) et Ooms & Destain (2012a). Les corrélations ont été publiées dans Ooms *et al.* (2012b).

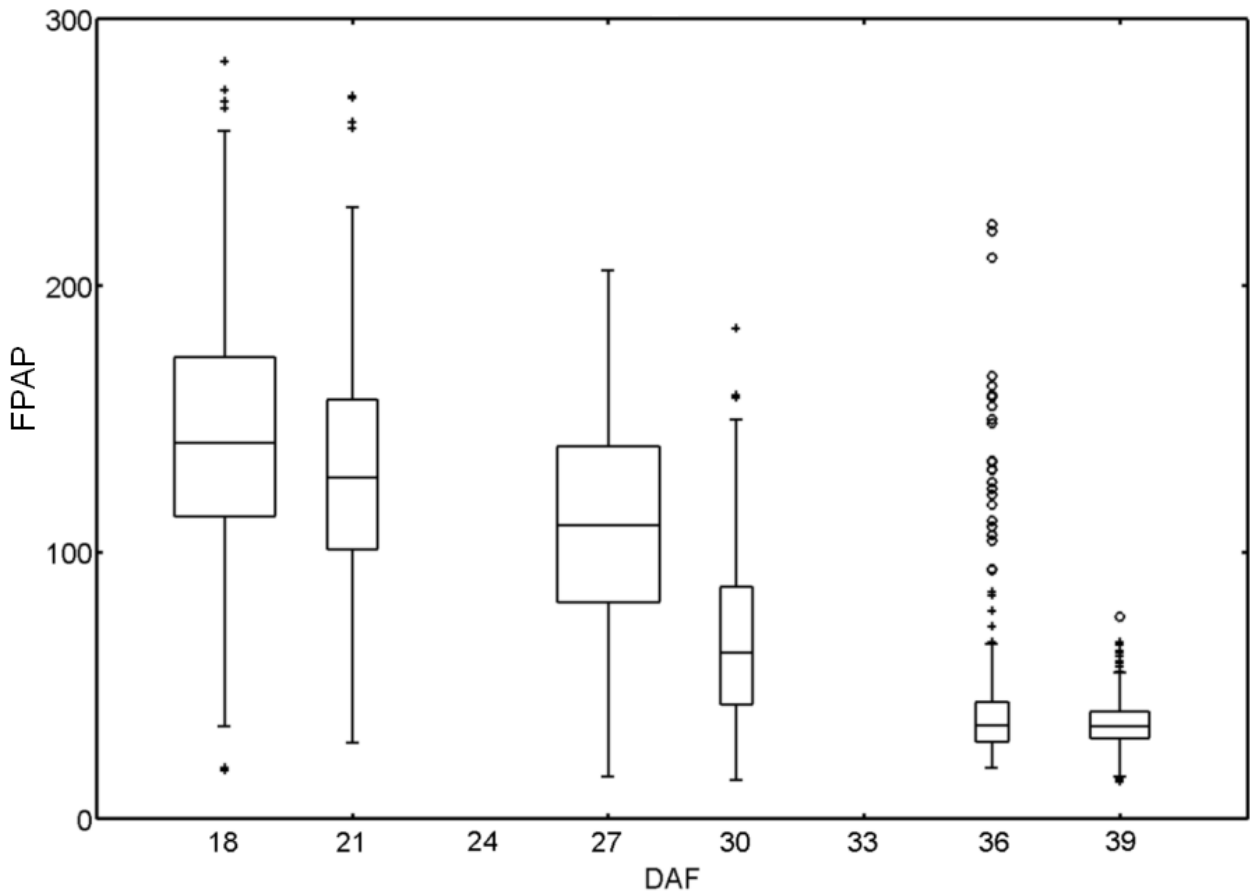


Fig. 8. Diagramme en boîte à moustaches de la FC du pappus des semences récoltées en 2006.

4.4. Simulations de tri à partir des attributs de FC et de la densité apparente

Après avoir déterminé que la FC était bien significativement corrélée, mais de façon modérée, tant aux paramètres de maturation (poids sec, teneur en eau à la récolte) qu'aux performances de germination (pourcentage de germination, vitesse de germination), et que cette conclusion restait valable dans des conditions de croissance variées, il restait à démontrer que ce résultat était exploitable pour le tri des semences. Il y a trois principaux obstacles à cette application:

- a - la table densimétrique
- b - la variabilité
- c - la mise en oeuvre

a - Redondance possible avec la densité

Les tables densimétriques déjà utilisées pour le tri des semences se basent sur les poids et les dimensions des semences pour les trier en fractions différant par leur densité. Si la densité était équivalente à la FC pour le tri des semences, c'est-à-dire que ces attributs étaient fortement corrélés, cela signifierait qu'un tri sur base de la FC serait inutile après un tri par table densimétrique. L'essai préliminaire sur la variété Hera montre l'échec d'une telle tentative. Cependant, la corrélation entre la densité apparente et les attributs de FC reste modérée ($r = -0.5$), ce qui indique que la densité apparente et la FC ne sont pas des attributs équivalents, et on peut s'attendre à ce que le tri des semences sur base de la FC apporte parfois un résultat supplémentaire par rapport au tri sur table densimétrique.

b - Une grande variabilité à tous les niveaux

La valeur de la FC a, pour une semence prise individuellement, un caractère hautement imprévisible. Une analyse de la variance réalisée sur l'attribut FPAP des semences Melci récoltées en 2010 à l'extérieur indique que le facteur "durée de maturation" en DAF n'est à l'origine que de 24 % de la somme des carrés des écarts totale, le reste ayant un caractère aléatoire (dépendant de la plante, du capitule récolté et de la variabilité résiduelle entre les semences d'un même capitule).

A cette variabilité "locale" s'ajoute des différences très importantes entre des récoltes d'akènes développés dans des conditions de croissance différentes, comme en atteste l'écart entre les courbes des graphes C et D de la Fig. 7.

c - La mise en œuvre

La mesure des attributs de fluorescence chlorophyllienne (FC) en laboratoire et en situation réelle de tri ne présente pas la même difficulté. Le fait que la chicorée soit une culture industrielle implique des quantités de semences à traiter qui sont à la limite de la faisabilité avec les techniques d'acquisition et d'analyse d'images actuelles.

Ces obstacles étant pris en compte, l'étape suivante consistait à quantifier le potentiel de la FC pour le tri des semences, avec ou sans l'aide de la table densimétrique, c'est-à-dire en intégrant ou non l'attribut DA (densité apparente, mg / mm²) dans le classifieur. Le principe de calcul était le même que pour le test du potentiel des attributs visibles :

1 - Les attributs à tester ont été définis: leur nombre est ici plus réduit (4 au lieu de 360: la FC du *pappus* FPAP, la FC du péricarpe FPER, DA et la longueur L) ce qui limite les risques d'obtenir de faux résultats positifs par la multiplication du nombre de tests. Etant donné le nombre réduit d'attributs, il n'était pas nécessaire d'utiliser une technique spécifique pour choisir les combinaisons d'attributs.

2 - Un classifieur de type bayésien a été construit, avec une estimation non-paramétrique des densités de probabilités. Il a pour avantages de ne pas poser l'hypothèse de distributions normales pour les attributs et d'être assez transparent dans son fonctionnement. Il est en effet possible de tracer en graphe les valeurs estimées du pouvoir germinatif ou de la vitesse de germination en fonction de la valeur des attributs après l'entraînement du classifieur et d'adapter les paramètres du classifieur pour améliorer le résultat. Une fois construit il demande très peu de temps de calcul pour effectuer le tri et est donc compatible avec une application en ligne. Son principal inconvénient est d'être imprécis lorsque la quantité de données est faible ou le nombre d'attributs élevé.

3- Les courbes d'optimisation de tri (Ooms *et al.*, 2010b) ont été construites pour chaque combinaison d'attributs, de façon similaire à celle de la Fig. 6. La technique de rééchantillonnage de type "bootstrap" (Palm, 2002) a été utilisée pour une meilleure précision.

Un extrait des résultats est donné à la Fig. 9 (Ooms *et al.*, 2012b). Les attributs ont été testés dans des simulations de tri configurées pour améliorer la vitesse de germination du lot. Plus la courbe s'approche du coin supérieur droit du graphe, plus le tri est efficace, avec la fois un bon rendement quantitatif (ordonnée) et une amélioration importante de la qualité du lot (abscisse). On remarque que pour les capitules cultivés en serre, le meilleur résultat est obtenu en utilisant en combinaison un attribut de FC (FPAP) et la densité apparente. Le résultat est légèrement mais significativement meilleur qu'en se basant uniquement sur la densité apparente. Le résultat est similaire lorsque le classifieur est entraîné dans le but de maximiser le pourcentage de germination.

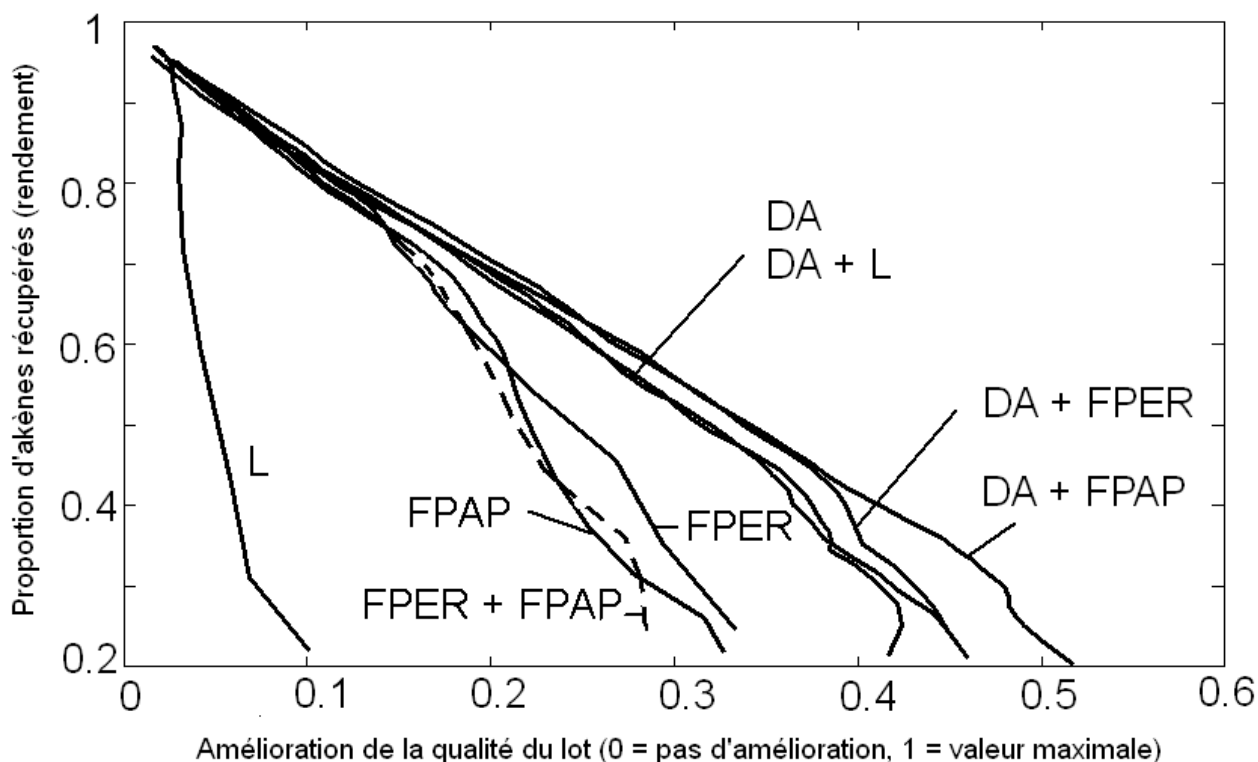


Fig. 9. Courbe d'optimisation de tri (SOC) des akènes récoltés sur des plants cultivés en serre en 2010 pour différentes combinaisons d'attributs (Ooms et al., 2012b). DA = densité apparente, L = longueur, FPER = fluorescence du péricarpe, FPAP = fluorescence du pappus. Valeur maximale : le lot aurait une valeur de vitesse de germination moyenne égale au maximum des valeurs individuelles (cas limite qui n'est observable que si le lot ne contient plus qu'un seul capitule correspondant à la plus haute valeur).

Les autres résultats indiquent que pour les semences cultivées à l'extérieur, le tri sur base de la FC n'apporte aucun résultat supplémentaire par rapport au tri sur base de la densité apparente, que ce soit pour améliorer la vitesse de germination ou le pourcentage de germination.

En conclusion, le tri sur base de la FC peut apporter un résultat significatif, même après un tri sur table densimétrique. Le potentiel de la table densimétrique a été d'ailleurs probablement sur-estimé compte tenu du fait qu'une table densimétrique n'est pas un instrument de mesure de la densité et que le tri réel sur table densimétrique ne serait pas aussi efficace que ce qui est prédit par les simulations. Il en résulte que le potentiel de la FC est probablement plus élevé que ce qui est prédit par les résultats. Cependant, le résultat du tri sur base de la FC après un tri sur table densimétrique n'est pas garanti comme en attestent les essais préliminaires. En l'absence de table densimétrique par contre, il y a suffisamment de résultats positifs et obtenus de façon indépendante pour affirmer que le tri sur base de la FC produit toujours un résultat intéressant.

Publication: L'expérimentation complète et ses résultats a été soumise à la revue *Seed Science and Technology* (Ooms et al., 2012b).

5. Conclusion et perspectives

Le tri des semences de chicorée est actuellement réalisé par des dispositifs mécaniques. Leur efficacité est contrôlée par échantillonnage au moyen de tests de germination. Lorsque le pouvoir germinatif (PG) des lots testés est insuffisant², l'entièreté du lot doit être retiré du circuit de commercialisation.

Il serait souhaitable de mettre au point une méthode automatisée non-destructive réalisant le contrôle de qualité des semences individuelles, afin d'écarter celles dont le pouvoir germinatif est trop faible. On pourrait ainsi améliorer le rendement du tri et constituer des lots de pouvoir germinatif plus élevé, ce qui constituerait un avantage à la fois pour le producteur de semences et pour l'agriculteur.

Pour atteindre cet objectif, des techniques de vision artificielle ont été retenues car elles sont non-destructives et ont la capacité d'examiner chacune des semences. Pour être efficace, la nouvelle méthode de tri doit répondre à trois critères. Premièrement, elle doit apporter une amélioration de la qualité des semences, c'est-à-dire une amélioration du pourcentage de germination, de la vigueur et de façon générale, leur chance de générer un individu en bonne santé en champ. Deuxièmement, elle ne doit pas occasionner de pertes inacceptables d'un point de vue économique. Enfin, elle doit être suffisamment rapide pour satisfaire l'ensemble de la production.

De plus, l'utilisation de la vision artificielle doit s'intégrer dans le cadre actuel des techniques déjà appliquées au tri des semences. L'amélioration de la qualité doit se mesurer par rapport à ce qui est déjà obtenu actuellement par les techniques existantes.

Dans le cas particulier de la chicorée, les difficultés particulières sont liées au fait que le fruit de la chicorée est un akène et que, par conséquent, la semence n'est pas directement observable. Par ailleurs, même au sein d'une variété donnée, la variabilité morphologique des semences est très grande, à la fois au point de vue de la couleur et la morphologie. A titre d'exemple, la réflectance totale des semences (moyenne des canaux RGB) présente naturellement des valeurs comprises entre 37 et 135 (luminance des pixels, sans unité). L'enjeu est donc de prédire, d'après des mesures non-destructives de la lumière envoyée par le péricarpe du fruit dans des conditions d'éclairage déterminées, la qualité de la semence sous-jacente, quelle que soit sa couleur et sa forme.

La recherche a été menée à la fois dans le domaine du visible et en fluorescence chlorophyllienne (FC). Dans le domaine du visible, une caméra conventionnelle avec une réponse spectrale comprise entre 400 et 800 nm a été utilisée. Un ensemble d'attributs colorimétriques et morphologiques ont été mesurés et ont été utilisés dans le but de classer les objets d'après leur pouvoir germinatif en utilisant l'analyse discriminante quadratique et des réseaux de neurones. Les attributs les plus significativement liés au pourcentage de germination sont la moyenne du rapport rouge/vert (teinte) et différents attributs de texture calculés à partir des matrices de cooccurrence. A l'exception de ces attributs qui sont faiblement corrélés au pourcentage de germination (les simulations de tri donnant des résultats significatifs mais insuffisants pour une application industrielle), il apparaît que l'aspect extérieur des akènes est globalement indépendant du pouvoir germinatif de la semence qu'ils contiennent mais que de son observation on peut différencier les semences saines de celles qui sont desséchées ou non développées. Il est également possible de détecter celles dont la coque présente des fissures résultant de dommages mécaniques.

L'utilisation de la fluorescence chlorophyllienne est basée sur le fait que la chlorophylle se dégrade

² inférieur aux exigences fixées par le producteur pour le tri des semences nues, qui peuvent avant l'enrobage dépasser l'exigence légale de 80 %

naturellement au cours du développement des semences. Dans le cas présent, la difficulté particulière de mesure de la FC est liée à la très faible teneur en chlorophylle des semences de chicorée (moins de 2 mg/kg). Un dispositif expérimental spécifique a donc été conçu pour réaliser une imagerie de la FC des semences de chicorée. Ce dispositif est constitué d'une lampe au xénon munie d'un filtre d'interférence centré à 410 nm (bleu) et large de 80 nm et d'un filtre passe-haut à 665 nm entre l'objet et la caméra CCD monochrome sensible à l'infrarouge. Il permet de mesurer séparément la FC du *pappus* et celle du péricarpe et d'identifier sur ce dernier des zones d'intensité de FC différentes. Les deux attributs de FC retenus est la moyenne de l'intensité de FC respectivement dans la zone du péricarpe et sur le reste du péricarpe.

Par ailleurs, on utilise habituellement les courbes ROC (« Receiver Operating Characteristic ») pour déterminer l'efficacité d'un classifieur. Celles-ci ne sont pas adaptées pour le tri de produits en vrac comme les semences. Une nouvelle courbe SOC (Sorting Optimization Curve) a été proposée, elle présente, pour une population donnée, les performances d'un ensemble classifieur plus attributs sous la forme d'un graphe du rendement quantitatif en fonction de l'amélioration de la qualité du produit. L'efficacité du tri (E) est définie comme étant le produit maximum de ces deux paramètres.

Les mesures réalisées sur plus de 13000 semences appartenant à 2 variétés et un clone montrent que les deux attributs de FC cités ci-dessus évoluent selon une fonction logistique décroissante en fonction de la durée de maturation sur pied.

D'un autre côté, la maturité des semences estimée à partir de du poids sec et de la teneur en eau à la récolte évolue respectivement selon une relation linéaire (entre 16 et 30 DAF, pas d'évolution après 30 DAF) et une exponentielle décroissante (entre 16 et 44 DAF). Dans une large gamme de conditions de croissance et de matériel végétal, la corrélation est toujours significative et négative entre les attributs de FC du *pappus* ou du péricarpe et la maturité des semences. Par conséquent, le tri des semences brutes (pré-nettoyées mais non triées par d'autres techniques) sur base de la FC devrait permettre d'améliorer la qualité des lots de semences de façon très significative.

Pour exploiter et quantifier ces résultats, des simulations de tri ont été effectuées. Tout d'abord, les attributs sur lesquels sont basées les techniques de nettoyage existantes (longueur, aire apparente des semences sur les images (AA), densité apparente (poids sec/AA)) ont été mis en **compétition** avec les attributs de FC et l'efficacité du tri a été comparée. Il en ressort que la densité apparente est probablement³ la plus efficace ($E_{max} \leq 0,192$), suivie des attributs de FC (très significativement efficace, $E_{max} = 0,145$). La longueur et l'aire apparente sont inefficaces ($E_{max} = 0,05$). D'autre part, le résultat des simulations obtenus par une **combinaison** des attributs de FC avec les attributs classiques montrent que la combinaison des attributs de FC avec la densité apparente n'est favorable que pour les semences ayant grandi en serre (conditions plus chaudes que la normale).

En conclusion, il apparaît que la FC est un indicateur efficace des performances de germination ou de la maturité des semences. Une semence ayant une valeur de FC plus élevée que la moyenne que celle du lot dont elle provient a une probabilité plus élevée d'avoir un pouvoir germinatif ou une vitesse de germination plus élevée que celle de la moyenne du lot. Par ailleurs, de nombreux facteurs indépendants du stade de maturité des semences influencent la valeur de FC. Dans les recherches futures, il serait intéressant de les identifier.

Si l'on transpose les résultats obtenus au niveau industriel (grandes séries), on peut déduire que la table densimétrique reste une méthode très efficace. La mise en œuvre d'une méthode de mesure de FC devrait être envisagée complémentarément à celle d'une table densimétrique. Dans ce cas, la

³ Le mot « probablement » et le symbole « \leq » traduisent le fait que la table densimétrique n'est pas aussi précise que ce qui est prédit par la simulation.

mesure de FC peut être avantageuse pour le tri des semences de chicorée pour certains lots, et ne donner aucun résultat supplémentaire pour d'autres. Si, par contre, on souhaite trier des lots de semences à des fins de recherche ou de sélection (petites séries), là où la table densimétrique n'est pas adaptée, l'utilisation de la FC est tout à fait appropriée avec l'équipement actuel. Il faut cependant noter que tous les résultats obtenus concernant l'évolution de la FC et les simulations de tri sont fonction des conditions de croissance des semences. Pour mettre en œuvre de manière systématique la mesure de la FC, il serait nécessaire de créer une base de données contenant les caractéristiques des semences déjà triées, leurs conditions de croissance et de la mettre à jour sur une durée suffisante pour couvrir la plupart des cas rencontrés en pratique.

Pour terminer, il faut signaler que les semences hybrides de chicorée n'ont pas été étudiées. Leur apparence étant plus homogène que celle des semences issues de variétés classiques, l'identification des défauts visibles devrait y être plus facile. Enfin, dans le cas de semences horticoles qui se présentent en petites séries, la méthodologie proposée devrait être applicable et mériterait d'être testée.

6. Références

Anon. (2009) *Production des cultures agricoles*.

http://statbel.fgov.be/fr/modules/publications/statistiques/economie/production_des_cultures_agricoles.jsp

Anon. (2011) *Chiffres clés de l'Agriculture*. Direction générale Statistique et informatique économique du SPF Economie, 2011, http://statbel.fgov.be/fr/binaries/keyagr_fr_tcm326-133838.pdf

Barry, C.S. (2009). The stay-green revolution : Recent progress in deciphering the mechanisms of chlorophyll degradation in higher plants. *Plant Science* 176, 325-333.

Bewley, J.D., Egli, D.B., Chaudhury, A. (2006). Development of seeds - an overview. In: Black M., Derek Bewley J., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. Cabi, ISBN-13 978-0-85199-723-0.

Black M., Bewley J.D., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. Cabi, ISBN-13 978-0-85199-723-0.

Commeau, M.F., Spire M.L. (1996). *Technologie des semences*. Institut National de Recherche Agronomique, Paris. ISBN 2-7380-0687-6.

Corbineau F., Come D. (1990). Germinability and quality of *Cichorium Intybus* L. seeds. *Acta Horticulturae* 267, 183-189.

Cromarti A.S., Ellis R.H., Roberts E.H. (1990) The design of seed storage facilities for genetic conservation. *International Board for Plant Genetics Resources*, Rome, Italy. In: Probert, R.J., Linington, S.H. (2006). *Equilibrium relative humidity*. In: Black M., Derek Bewley J., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. Cabi, ISBN-13 978-0-85199-723-0.

Ghate S.R., Evans M.D., Kvien C.K. et Rucker K.S. (1993). Maturity detection in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) using machine vision. *Trans. ASAE* 36(6), 1941-1947.

Grantley L., Roberts J. (2006) Ethylene. In: Black M., Derek Bewley J., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. Cabi, ISBN-13 978-0-85199-723-0, 229-230.

Halmer P. (2006). Germination rate. In: *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*, (eds. Black M., Bewley J.D. and Halmer P.), pp. 288-289, CABI, Wallingford, UK.

Hammond E.C., Bridgers K., Berry F.D. (1996) Germination, growth rates, and electron microscope analysis of tomato seeds flown on the LDEF. *Radiation measurements* 26(6), 854-861.

Hörtensteiner S., Kräutler, B. (2011). Chlorophyll breakdown in higher plants. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA) - Bioenergetics* 1807 (8), 977-988.

Illipronti R., Langerak C. et Lommen W. (1997). Variation in and relationships between physical and physiological seed attributes within a soybean seed lot. *Seed Sci. Technol.* 25(2), 215-231.

Illipronti R.A., Langerak C.J. et Lommen W.J.M. (2000). Uniformity, performance and seed quality of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed crops grown from sub-samples of one seed lot obtained after selection for physical seed attributes. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184(2), 81-88.

ILVO (2011). Catalogue belge, Description et Recommandation, Chicorée industrielle. *Mededeling ILVO* (Instituut voor Landbouw- en Visseronderzoek) 86, Vlaamse overheid.

ISTA (2005). *International rules for seed testing*. International Seed Testing Association., Bassersdorf, CH.

Jalink H., Frandas A., Van der Schoor R. et Bino J. (1998). Chlorophyll fluorescence of the testa of Brassica oleracea seeds as an indicator of seed maturity and seed quality. *Sci. Agricola* (Numero especial), 88-93.

Jalink H., Van der Schoor R., Birnbaum Y. et Bino R., 1999. Seed chlorophyll content as an indicator for seed maturity and seed quality. *Acta Horticulturae*. 504, 219-227.

- Konstantinova P., Van der Schoor R., Van den Bulk R., Jalink H. (2002). Chlorophyll fluorescence sorting as a method for improvement of barley (*Hordeum vulgare* L.) seed health and germination. *Seed Science and Technology* **30**(2), 411-421.
- Liao K., Paulsen M.R., Reid J.F. (1993). Corn kernel breakage classification by machine vision using a neural network classifier. *Trans. ASAE* **36**(6), 1949-1953.
- Luo X., Jayas D.S., Symons S.J. (1999). Identification of damaged kernels in wheat using a colour machine vision system. *J. Cereal Sci.* **30**, 49-59.
- Majumdar S., Jayas D.S. (2000a). Classification of cereal grain using machine vision. IV. Combined morphology, color and texture models. *Trans. ASAE* **43**(6), 1689-1694.
- Majumdar S., Jayas D.S. (2000b). Classification of cereal grain using machine vision. III. Texture models. *Trans. ASAE* **43**(6), 1681-1687.
- Majumdar S., Jayas D.S. (2000c). Classification of cereal grain using machine vision. II. Color models. *Trans. ASAE* **43**(6), 1677-1680.
- Majumdar S., Jayas D.S. (2000d). Classification of cereal grain using machine vision. I. Morphology models. *Trans. ASAE* **43**(6), 1669-1675.
- Meyer D., Bayarri S., Tárrega A. et Costell E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids* **25**(8), 1881-1890.
- Morris C., Morris G.A. (2012). The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. *Food Chemistry* (in press).
- Ooms D. (2004). *Evaluation of the quality of chicory seeds using machine vision*. MSc thesis: Cranfield University, Cranfield, UK.
- Ooms D., Destain M.F. (2010a). Étude des potentialités de la vision artificielle pour la reconnaissance optique des semences immatures de chicorée industrielle (*Cichorium intybus* L.). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* **14**(1), 253-263.
- Ooms, D., Palm, R., Leemans, V., Destain, M. F. (2010b). A sorting optimization curve with quality and yield requirements. *Pattern Recognition Letters* **31**, 983-990.
- Ooms D., Destain M.F. (2011). Evaluation of chicory seeds maturity by chlorophyll fluorescence imaging. *Biosystems Engineering* **110**, 168-177.
- Ooms D., Destain M.F. (2012a). Evolution of seed development, germination performance and chlorophyll fluorescence of chicory achenes. In: Cointault, F., Journaux, L., Rabatel, G., Germain, C. Ooms, D., Destain, M.F., Gorretta, N., Grenier, G., Laviaille, O. Marin, A. (2012). Texture, color and frequential proxy-detection image processing for crop characterization in a context of Precision Agriculture. *Agricultural Science* (in press).
- Ooms D., Périlleux C., Destain M.F. (2012b). Analysis of the potential of achene coat chlorophyll fluorescence for chicory (*Cichorium intybus* L.) seeds sorting. (to be submitted to *Seed Science and Technology*)
- Palm, R. (2002). Utilisation du bootstrap pour les problèmes statistiques liés à l'estimation des paramètres. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **6** (3), 143-153.
- Powell, A.A. (2006). Vigour testing. In: Black M., Derek Bewley J., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. Cabi, ISBN-13 978-0-85199-723-0, 741-743.
- Probert R.J., Linington, S.H. (2006a) Viability. In: Black M., Bewley J.D., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. CABI, ISBN-13 978-0-85199-723-0, 740.
- Probert R.J., Linington, S.H. (2006b) Vigour. In: Black M., Bewley J.D., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. CABI, ISBN-13 978-0-85199-723-0, 214.

- Rabau, T., Detry, J.F., Bockholtz, C. (1987). Généralités. In: Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA) (1987). *Mécanismes de la reproduction de la chicorée de Bruxelles : fondements et applications à la sélection*. IRSIA.
- Ryder, E.J. (2006) Cichorium (endive and chicory). In: Black M., Derek Bewley J., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. Cabi, ISBN-13 978-0-85199-723-0, 83-84.
- Shatadal P., Jayas D.S., Hehn J.L., Bulley N.R. (1995). Seed classification using machine vision. *Can. Agric. Eng.* **37**(3), 163-167.
- Shatadal P., Tan J. (2003) Identifying damaged soybeans by color image analysis. *Appl. Eng. Agric.* **19**(1), 65-69.
- Steckel J., Gray D., Rowse H. (1989). Relationships between indices of seed maturity and carrot seed quality. *Ann. Appl. Biol.* **114**, 177-183.
- Suhartanto M., 2002. *Chlorophyll in tomato seeds: marker for seed performance ?*. PhD thesis: Wageningen
- Walters, C. (2006) Deterioration and longevity. In: Black M., Derek Bewley J., Halmer P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. Cabi, ISBN-13 978-0-85199-723-0, 137-139.
- Webb A. (2002). *Statistical pattern recognition*. Chichester, UK : John Wiley & sons, LTD.
- Zayas L., Converse H., Steele J. (1990). Discrimination of whole from broken corn kernels with image analysis. *Trans. ASAE* **33**(5), 1642-1645.

7. Annexes I-VI: publications

I. Ooms D., Destain M.F. (2010). Étude des potentialités de la vision artificielle pour la reconnaissance optique des semences immatures de chicorée industrielle (*Cichorium intybus* L.). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 14(1), 253-263.

Cet article reprend un résumé des expérimentations sur le tri des semences par vision en couleur avec les principaux résultats présentés au § 3.2, ainsi que la description du système d'imagerie de la fluorescence chlorophyllienne des semences.

II. Eyletters M., Ooms D., Destain M.F. (2010). La fluorescence chlorophyllienne au service des productions végétales. *Biofutur* 308, 44-46.

L'article jette un regard sur les principales applications agronomiques de la fluorescence chlorophyllienne, y compris l'évaluation de la maturité des semences.

III. Ooms, D., Palm, R., Leemans, V., & Destain, M. F. (2010). A sorting optimization curve with quality and yield requirements. *Pattern Recognition Letters*, 31, 983-990.

Cet article présente les critères utilisés pour déterminer l'efficacité des attributs mesurés par les systèmes de vision pour différencier les semences viables des semences non-viables. Plus généralement, la méthode décrite s'applique au tri d'objets dans deux classes distinctes.

IV. Ooms D., Destain M.F. (2011). Evaluation of chicory seeds maturity by chlorophyll fluorescence imaging. *Biosystems Engineering* 110, 168-177.

L'article présente les techniques d'analyse d'images mises en oeuvre pour mesurer séparément la fluorescence chlorophyllienne du *pappus* et du reste du péricarpe des akènes. L'évolution de la FC et des performances de germination de semences cultivées à Warcoing en été 2006 est modélisée. Les résultats montrent que la FC était liée à la maturité entre 21 et 36 DAF pour ce lot de semences.

V. Ooms D., Destain M.F. (2012). Evolution of seed development, germination performance and chlorophyll fluorescence of chicory achenes. In: Cointault, F., Journaux, L., Rabatel, G., Germain, C. Ooms, D., Destain, M.F., Gorretta, N., Grenier, G., Laviaille, O. Marin, A. (2012). Texture, color and frequential proxy-detection image processing for crop characterization in a context of Precision Agriculture. *Agricultural Science* (in press).

L'évolution de la FC, des performances de germination et des paramètres liés à la maturation sont modélisés en fonction de la durée de maturation pour des semences cultivées à Gembloux en pleine terre en automne 2010. Les résultats montrent que les paramètres des modèles sont très différents de ceux évalués pour les semences cultivées en 2006, bien que la FC soit toujours liée à la maturité et aux performances de germination.

VI. Ooms D., Périlleux C., Destain M.F. (2012). Analysis of the potential of achene coat chlorophyll fluorescence for chicory (*Cichorium intybus* L.) seeds sorting. (submitted to *Seed Science and Technology*)

L'article fait le point sur le potentiel de la FC pour le tri des semences dans un cadre industriel et compare les attributs de FC avec la densité apparente des semences, critère sur lequel est basé le nettoyage sur table densimétrique. Les courbes d'optimisation de tri sont comparées et il en ressort que la densité est un meilleur critère que la FC pour le tri. Cependant la FC peut être utilisée en complément des méthodes traditionnelles sans toutefois garantir systématiquement un résultat. La

FC utilisée seule donne toutefois toujours un résultat significatif tant pour améliorer la viabilité moyenne que la vitesse de germination des lots.