

## L'IMAGERIE AU SERVICE DU PHENOTYPAGE DE LA QUALITE DES SEMENCES

**Sylvie DUCOURNAU, Aurélie CHARRIER, Didier DEMILLY, Audrey DUPONT, Sherif HAMDY, Laurence LE CORRE, Marie-Hélène WAGNER**  
GEVES – Station Nationale d'Essais de Semences  
25 Rue Georges Morel - 49070 Beaucouzé  
[sylvie.ducournau@geves.fr](mailto:sylvie.ducournau@geves.fr)

### RESUME

Evaluer la qualité des semences est un enjeu important puisque de cette qualité dépend le bon déroulement de la culture depuis son implantation jusqu'à la récolte finale. Des méthodes de phénotypage reposant sur des techniques d'imagerie par rayons X ou dans le visible permettent aujourd'hui de compléter les méthodes standardisées d'évaluation de la qualité des semences, afin d'accéder à des caractères de qualité physique ou germinative difficilement mesurables par un opérateur. L'intérêt de la radiographie 2D et 3D est présenté pour détecter de façon fine et précise les défauts de morphologie interne des semences et l'imagerie visible ; couplée à des automatisations de prise d'images elle permet de suivre à haut débit la vitesse de germination des semences de nombreuses espèces dans des conditions de températures variées. Les traits phénotypés, mesurés sur une large gamme de diversité génétique peuvent être utiles, soit pour identifier des génotypes de caractéristiques spécifiques, soit en vue de croiser les données de phénotypage avec celles de génotypage pour analyser les mécanismes génétiques impliqués dans les traits mesurés.

**Mots Clés :** semences, morphologie, germination, phénotypage, imagerie, radiographie.

### 1 – INTRODUCTION

#### 1.1 - La qualité des semences et son contrôle

Les semences représentent le tout premier stade du cycle de la plante, constituant ainsi l'élément essentiel du développement de la future plante. De leurs caractéristiques dépend la garantie d'obtenir une plante qui appartiendra bien à l'espèce souhaitée et à la variété attendue par l'agriculteur. Son aptitude à bien germer garantira également une bonne implantation au champ ainsi qu'un bon rendement, et l'absence de maladie transmissible par la semence limitera les problèmes sanitaires au moment du démarrage de la culture.

Afin de garantir ces caractéristiques de variété, d'espèce, de germination et d'état sanitaire, des contrôles sont réalisés au laboratoire aux différents moments de la vie d'une semence : au moment de sa récolte, afin de rémunérer les agriculteurs selon la qualité de leur production ; après les procédés de tri, calibrage, traitements chimiques ou technologiques en usine qui vont rendre les semences commercialisables et prêtes au semis ; et enfin au cours du stockage, de façon à vérifier le maintien des propriétés des semences, et en particulier leur viabilité qui peut diminuer au cours de la conservation.

Les contrôles réalisés au laboratoire suivent des méthodes qui sont standardisées au niveau international grâce à l'*International Seed Testing Association (International Rules for Seed Testing, 2022)*. Afin de s'assurer de la qualité physique des semences, les essais de détermination de la pureté spécifique ou du dénombrement des espèces étrangères garantissent que les semences sont bien de l'espèce végétale déclarée et que le lot ne contient pas des graines de mauvaises herbes. Les essais de germination et de vigueur, permettent quant à eux d'évaluer l'aptitude des semences à germer dans des conditions de milieu plus ou moins favorables. Enfin, les analyses de qualité sanitaire permettent de détecter et d'identifier la présence éventuelle de champignons, virus, bactéries ou nématodes dans les semences qui pourraient nuire à l'implantation (fonte de semis) ou se transmettre à la culture.

## 1.2 - Des méthodes d'analyses reposant essentiellement sur l'expertise humaine

Les méthodes de contrôle de la qualité physique, germinative et sanitaire des semences reposent principalement sur des techniques d'analyses et d'évaluation humaine et visuelle. Il s'agit d'expertise sur la connaissance des critères morphologiques des semences pour identifier les espèces végétales ou les matières inertes composant le lot de semences ; sur la reconnaissance d'anomalies de développement des plantules pour évaluer la germination des semences ; ou encore sur la détection et l'identification de pathogènes sur semences pour évaluer leur qualité sanitaire.

Ces critères morphologiques sont acquis à la suite d'une formation longue et complexe des techniciens travaillant dans les laboratoires d'analyse des semences et ils sont souvent difficilement transposables sous la forme de technologies ou d'équipements simples. Quelques rares outils ont néanmoins été développés pour déterminer les semences étrangères dans un échantillon de semences de céréales (*Seedscanner*, CGrain Sweden), ou bien évaluer la contamination de semences de céréales par la fusariose (*Videometer Lab*, *Videometer A/S* Denmark). A ce jour il existe vraiment très peu d'outils permettant d'automatiser ces méthodes réalisées essentiellement manuellement et visuellement car les caractères à identifier sont complexes et difficilement reproductibles par des techniques d'imagerie. Nous allons alors voir en quoi l'imagerie peut être utile dans l'évaluation de la qualité des semences.

## 2 - L'IMAGERIE POUR PHENOTYPER DES CARACTERES DE QUALITE DES SEMENCES, EN DEHORS DES METHODES NORMALISEES

Les méthodes d'essais de semences standardisées étant très difficilement automatisables, plusieurs techniques d'imagerie ont été utilisées pour phénotyper des caractéristiques de qualité des semences complémentaires aux critères de qualité courants. Ces techniques, qui vont être présentées, permettent d'accéder à des caractères jusqu'à présent impossibles ou trop longs à évaluer, de fournir des mesures fines et précises, et d'acquérir des données à moyen et à haut débit. Elles sont aujourd'hui accessibles via la plateforme PHENOTIC (<https://www6.inrae.fr/phenotic/>).

Une technologie en plein essor est l'imagerie de radiographie en deux ou trois dimensions, applicable à l'analyse de la morphologie interne des semences. Cette technique permet de comprendre ou de prédire des problèmes de qualité physique ou germinative par l'examen de la morphologie interne des semences (absence, déformation, fissure d'embryon ou repérage de dégâts d'insectes). La radiographie 2D est très rapide et permet une évaluation essentiellement qualitative (diagnostic) car souvent peu précise. En revanche, la micro-tomographie RX va générer une image en 3D de la structure interne d'une semence ce qui permet d'évaluer très précisément des caractères quantifiables (volume de l'embryon, épaisseur du tégument, sphéricité, rugosité...). L'intérêt de ces imageries est de pouvoir utiliser les semences une fois radiographiées, pour par exemple les faire germer, et ainsi mettre en lien leurs caractéristiques physiques et germinatives (De Medeiros *et al.*, 2020).

L'imagerie en 2D dans le visible est très utilisée pour phénotyper la dynamique de germination de semences individuelles grâce à des prises de vues régulières et automatisées réalisées au cours de la germination de semences positionnées sur un « banc de germination » alimenté en eau de façon continue et régulé en température (Demilly *et al.*, 2014). Le traitement des images au cours du temps permet d'identifier l'apparition de la radicule, notée comme le début de la germination d'une semence. Le traitement des images issues des semences d'un échantillon permet de tracer la cinétique de germination et de calculer des paramètres de vitesse ou d'homogénéité de germination, critères importants de la vigueur des semences. La multiplication de ces outils de phénotypage au GEVES permet d'analyser 7000 semences simultanément et d'acquérir les paramètres à haut débit. Plus de 40 espèces végétales ont pu être analysées de façon concluante grâce à ces outils de phénotypage.

En raison de l'intérêt de ces caractères physiques et germinatifs, mesurables à moyen ou haut débit, les outils présentés ont été utilisés pour phénotyper plusieurs ensembles de génotypes d'espèces différentes, en vue d'identifier des génotypes répondant à des critères de résistance aux insectes ou d'adaptation à des conditions de semis en évolution suite au changement climatique. Plusieurs exemples sur l'utilité de ces méthodes de phénotypage pour la sélection variétale, sont décrits dans la partie suivante.

### 3 - L'IMAGERIE DES SEMENCES AU SERVICE DE LA SELECTION VARIETALE

L'imagerie, dans le visible ou radiographique, a été employée dans divers projets afin de caractériser les semences issues de différents génotypes, sur des espèces d'intérêt agronomique. La tomographie s'est avérée très utile pour identifier des dégâts causés par les insectes chez le pois, la féverole et la lentille, tandis que l'imagerie visible a permis de suivre le comportement germinatif à différentes températures (températures froides chez la betterave et le tournesol, températures chaudes et stress hydrique pour les graminées fourragères et le colza, respectivement). Les exemples étudiés dans ces projets sont décrits plus en détail ci-après.

#### 3.1 - Identification de génotypes résistants aux insectes grâce à l'imagerie RX 3D



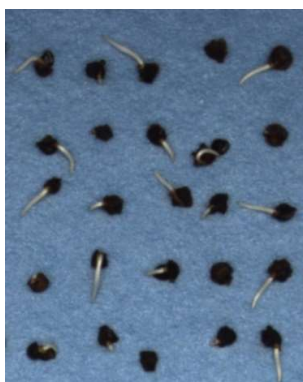
**Figure 1.** Semences de féverole reconstituées après imagerie tomographique en RX 3D, avec identification en couleur des dégâts causés par des insectes – Projet PeaMUST.

Des semences issues de différents génotypes de pois et féverole ont été étudiées dans le cadre du projet PeaMUST (Adaptation Multi-Stress et Régulations biologiques pour l'amélioration du rendement et de la stabilité du pois protéagineux - ANR-11-BTBR-0002), et de lentille dans le cadre du projet CASDAR RésiLens (Constitution et évaluation d'une collection de ressources génétiques de lentille). Une méthode semi-automatique de détection et de quantification des dégâts d'insectes dans les semences a été développée via l'utilisation de la tomographie RX 3D. Cette méthode intègre des étapes d'acquisition et de reconstruction des images (scans effectués sur 600 semences simultanément avec une précision de 5 µm pour les pois et féveroles), de séparation des échantillons,

d'individualisation des semences, de détection des dégâts (Figure 1), puis d'analyse des critères recherchés. Les mesures sont très précises et elles concernent les surfaces ou les volumes de différents traits d'intérêt (semence entière, volume du dégâts, zones de dégâts...). Elles permettent de caractériser les génotypes et les lots de semences quant à leur niveau de dégâts dus aux insectes. Ces mesures permettent d'étudier l'effet du génotype, du lieu et de l'année de culture, sur les traits morphologiques et la résistance aux attaques d'insectes.

### 3.2 - Identification de génotypes adaptés à des conditions de semis froides

Dans le cadre du projet AKER (Betterave 2020 : l'innovation compétitive - ANR-11-BTBR-0007), l'objectif était d'analyser la diversité génétique de la betterave sucrière afin de sélectionner des variétés à haut rendement en sucre. L'augmentation du rendement en sucre peut passer par la réalisation d'un semis plus précoce, dans des conditions plus froides, permettant ainsi un allongement du cycle de la culture et un rendement potentiellement plus élevé. Au cours du projet, une méthode de phénotypage de la germination à 5°C utilisant les bancs d'imagerie dans le visible, a permis de caractériser le comportement germinatif de 2744 génotypes de betteraves (issus de croisements d'une même variété avec 13 plantes représentant la diversité génétique globale du genre *Beta*). Des criblages successifs sur des effectifs de semences par génotype de plus en plus élevés, ont permis d'identifier 136 génotypes « extrêmes » aux comportements germinatifs contrastés à 5°C et ainsi de cibler ceux dont le comportement est le mieux adapté à des conditions de semis au froid (Figure 2).



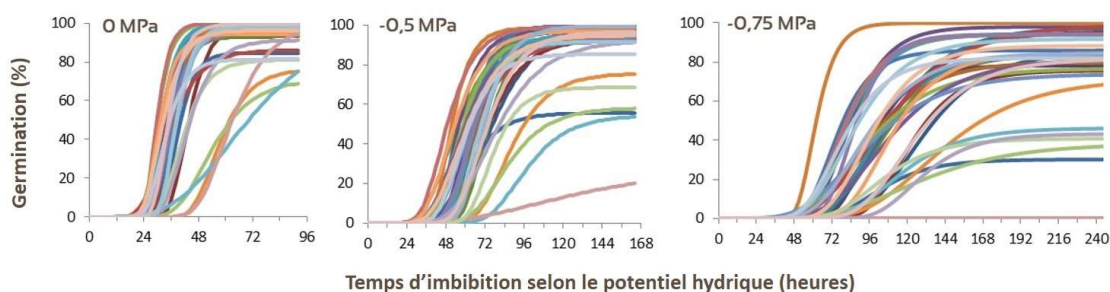
**Figure 2.** Semences de betterave après germination à 5°C pendant 17 jours sur banc de phénotypage de la germination.

Les projets LEVTO (Sélection du Tournesol pour son adaptation à des semis précoces en conditions froides et dans de nouvelles zones de culture – FRSO 2013-2016) et QUALILEV (Améliorer la qualité germinative et la vitesse de levée des semences de tournesol en conditions pénalisantes – FRSO 2019-2021) ont également eu pour objectif la recherche de génotypes de tournesol mieux adaptés à des conditions de semis au froid, mais cette fois, dans le but d'éviter les épisodes de sécheresse et de température trop élevée, en semant plus précocement ou en déplaçant la culture vers des régions plus au nord du territoire. La sensibilité au froid n'est pas identique lors de la phase de germination, et lors de la phase de croissance de la jeune plantule : la sensibilité à la température est plus forte lors de la croissance qu'au moment de la germination. Une méthode de phénotypage de la germination conduite à 10°C ne permet pas de bien discriminer les génotypes, alors qu'un phénotypage à 5°C différencie bien plus nettement le comportement germinatif des génotypes étudiés à basse température, mais la durée de l'essai est plus longue. Un compromis est souvent à faire entre durée et température du phénotypage pour permettre la meilleure discrimination. Là encore, ces méthodes de phénotypage ont permis d'identifier les génotypes adaptés aux conditions de semis au froid.

### 3.3 - Identification de géotypes adaptés à des conditions de semis chaudes

Dans le cadre du projet RéGàTe (Diversité génétique des populations et variétés à gazon de ray-grass anglais et fétuque élevée pour leur Réponse Germinative à la Température – CASDAR 2015-2018), l'objectif était d'évaluer la diversité génétique de populations et variétés de ray-grass anglais et fétuque élevée pour leur réponse germinative à la température, et en particulier aux températures élevées qui peuvent pénaliser les semis de printemps de ces espèces. La méthode de phénotypage de la germination a été difficile à mettre au point en raison de la finesse des racines, difficiles à segmenter et par conséquent à repérer. Sur 54 échantillons de bonne qualité germinative, il a pu être montré que la germination était sensible aux fortes températures (au-delà de 30°C). Il a pu également être mis en évidence que la germination variait aussi aux basses températures, et que l'âge des semences pouvait faire varier le comportement germinatif des semences en fonction de la température.

Dans le cas du colza, étudié dans le cadre du projet Convigour (*Controlling Variation In Germination and seed vigour in Oilseed Rape for optimal yield Stability* – ANR-10-KBBE-0002), la contrainte principale au moment du semis automnal est un stress hydrique. Les méthodes de phénotypage de la germination ont été adaptées pour simuler ce stress en plaçant sur les bancs de germination les semences dans des boîtes remplies de solutions de PEG à différentes concentrations, et en modifiant la disposition de l'éclairage afin d'éviter les reflets dus au support de germination. 36 géotypes issus d'un set de 735 géotypes et choisis pour leurs comportements extrêmes lors de la germination, ont été caractérisés pour leur comportement germinatif sous trois stress hydriques, selon la méthode mise au point. Ces essais ont permis d'identifier les géotypes les moins sensibles à ce stress (Figure 3).



**Figure 3.** Germination de 36 géotypes de semences de colza à 20°C et à 3 concentrations de PEG (0 ; -0,5 et - 0,75 MPa). La vitesse de germination des semences est phénotypée grâce aux bancs de germination automatisés.

## 4 - LES DEVELOPPEMENTS EN COURS ET A VENIR DE L'IMAGERIE POUR EVALUER LA QUALITE DES SEMENCES

Les techniques d'imagerie mais aussi les méthodes d'analyse et de traitement des images se développent très vite. Des modèles basés sur l'intelligence artificielle sont en cours de développement sur des images issues de radiographie 2D et 3D en vue d'évaluer de façon automatisée certaines caractéristiques des semences (semences vides ou semences multi germes de betterave, semences de féverole présentant des dégâts d'insectes). Ces modèles sont également en cours de développement pour identifier des espèces étrangères lorsque les semences sont enrobées ; la radiographie permettrait alors de s'affranchir de la contrainte du désenrobage des semences, nécessaire pour pouvoir identifier les espèces.

Dans le cadre du phénotypage de la germination des semences, les projets suivent l'évolution des questions à traiter : le besoin de phénotyper la germination de semences de grande taille pour lesquelles la germination sur un buvard plat n'est pas optimale, d'où l'adaptation en cours des équipements et des traitements d'images pour une germination sur les bancs en papier plissé ; le besoin de phénotyper la germination de semences avec des microbiotes, des pathogènes, des traitements et par conséquent la nécessité de séparer physiquement les modalités et d'adapter les traitements d'images pour ne pas confondre apparition de radicule et développement de pathogène.

Enfin, des outils de phénotypage un peu plus récents mis en place pour suivre en continu la croissance des plantules font l'objet de projets pour automatiser le traitement des images acquises en dynamique.

## **5 - CONCLUSION**

Même si les techniques d'imagerie ne permettent pas à ce jour de remplacer les essais de qualité des semences standardisés basés sur des expertises visuelles et cognitives complexes, elles permettent néanmoins d'accéder à des caractéristiques complémentaires tout à fait enrichissantes pour comprendre les défauts de la morphologie interne des semences non visibles à l'œil nu (radiographie 2D et 3D) ou encore, grâce à un couplage avec des automatismes, d'acquérir à haut débit des cinétiques de germination, caractère important de la qualité physiologique, mais très chronophage.

Les champs d'application de ces méthodes de phénotypage sont nombreux. Grâce à des acquisitions à moyen ou haut débit, elles permettent de caractériser la diversité génétique de nombreuses espèces en vue d'identifier les génotypes adaptés à des conditions climatiques de semis en évolution. La haute précision des techniques de tomographie permet de diagnostiquer de façon plus fine les défauts de constitution des semences qui peuvent être provoqués par de mauvaises pollinisations, des maladies ou bien des dégâts mécaniques à la récolte. Le caractère non invasif de la radiographie permet de mettre en lien la morphologie des semences et leur qualité physiologique, ce qui en fait une méthode privilégiée pour comprendre certains défauts de germination.

L'évolution des méthodes de traitement d'images vers l'utilisation de procédés basés sur l'intelligence artificielle sera vraisemblablement un atout pour rendre ces techniques d'imagerie plus rapides dans l'analyse et la fourniture de résultats.

*Journée Scientifique ASF du 3 février 2022  
« Quoi de neuf sur le phénotypage en amélioration des plantes ? »*

## **REMERCIEMENTS**

Nos remerciements vont aux financeurs des différents projets dont certains résultats ont été présentés dans cet article : le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation pour les projets CASDAR RÉGàTe et Résilens ; Sofiprotéol pour les projets FRSO LEVTO et QUALILEV ; l'ANR pour les projets AKER, PEAMUST et CONVIGOUR.

## REFERENCES

International Rules for Seed Testing, Full Issue i–19-8 (300). <https://doi.org/10.15258/istarules.2022.F>

De Medeiros AD, Martins MS, da Silva LJ, Pereira MD, Leon MJZ, Días DCFD. (2020) X-ray imaging and digital processing application in non-destructive assessing of melon seed quality. *Journal of Seed Science*, 42. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42229761>

Demilly D., Ducournau S., Wagner M.H., Dürr C. (2014) Digital Imaging of seed germination. Chap. 7 in S. Dutta Gupta, Y. Ibaraki, eds., *Plant Image Analysis: Fundamentals and Applications*, CRC Press 2014. DOI 10.1201/b17441