

Analyse fonctionnelle de l'anatomie du châtaignier (*Castanea sativa*) par nano-tomographie et traitement d'image 3D

MARTIN Benoît¹, FERREIRA DA SILVA Yuri² et PERRÉ Patrick^{2,3}

¹École Supérieure du Bois, Laboratoire d'Innovation Matériaux Bois et Habitat, Nantes, France

²Université Paris-Saclay, CentraleSupélec, Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux, Centre Européen de Biotechnologie et de Bioéconomie (CEBB), 3 rue des Rouges Terres 51110 Pomacle, France

³Université Paris-Saclay, CentraleSupélec, Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux, Gif-sur-Yvette, France

benoit.martin@esb-campus.fr

Mots clés : anatomie ; bois ; châtaignier ; tomographie ; rayons X ; traitement d'images

Introduction

L'étude de la structure anatomique du bois remonte au XVII^e siècle, avec les premières représentations schématiques de plantes réalisées par Grew (1682) dans son ouvrage « The Anatomy of Plants », et les observations en microscopie optique effectuées par Hooke (1665). Ce dernier décrivait alors le bois comme une « compagnie infinie de petites boîtes », traduisant ainsi la découverte de la vision cellulaire à cette époque. Au fil des siècles, les avancées techniques ont permis d'améliorer les moyens d'observation optique, affinant progressivement la compréhension de l'agencement cellulaire du bois (Bailey 1909, Jane 1934).

L'arrivée de la microscopie électronique au milieu du XX^e siècle a amené de nouvelles possibilités en offrant un changement d'échelle et l'accès à des éléments anatomiques avec des détails jusque-là inaccessibles. En 1950, Walter Liese a réalisé la première image par microscope électronique en dévoilant une ponctuation aréolée de pin (Liese et Côté 1960). Le développement ultérieur de la microscopie électronique à balayage (MEB) a ensuite donné lieu à de nombreux travaux descriptifs de la structure anatomique du bois (Butterfield et Meylan 1980, Kollmann et Côté 1968, Wilson et White 1986).

Parallèlement, le XX^e siècle a vu l'introduction de l'imagerie aux rayons X appliquée à la science des matériaux dont le bois. Cette technologie a été utilisée pour observer et mesurer des profils de densité par radiographie 2D (Polge 1966) et étudier les propriétés physiques (Badel et Perré 2002), les profils de teneur en eau (Baettig 2005) ou encore la migration d'humidité (Derome et al 2005, Martin et al 2021). En complément de la radiographie, la tomographie X a progressivement été exploitée pour analyser les singularités dans des grumes et des propriétés physiques en 3D (Lindgren et al 1992, Wei et al 2011). La diminution de la résolution spatiale de la tomographie a donné accès à la structure anatomique 3D de bois offrant une meilleure compréhension de sa structure et ainsi mieux comprendre les propriétés de transfert (Martin et al 2022, Perré et al., 2022, Trtik et al 2007). Cependant, l'approche adoptée ne permettait pas de différencier individuellement les éléments anatomiques et ainsi mieux comprendre l'agencement des cellules les unes avec les autres.

Ce travail présente une approche originale de l'exploitation de la tomographie 3D haute résolution appliquée à l'étude de la structure anatomique 3D. Les cellules y sont discriminées selon leurs caractéristiques anatomiques ouvrant à une analyse qualitative et quantitative. Les premiers résultats sont présentés avec un échantillon de châtaignier (*Castanea sativa*).

Matériels et méthodes

Châtaignier. L'échantillon de châtaignier (*Castanea sativa*) provient de la xylothèque de l'Ecole Supérieure du Bois de Nantes. Le cylindre d'un millimètre de diamètre et d'une longueur de 10 mm dans la direction longitudinale a été coupé à l'aide d'une machine CNC 3 axes (CNC6090, BRAXES SARL). L'échantillon est situé dans la zone du bois final d'un cerne annuel et aucun revêtement de surface n'a été appliqué. Après usinage, l'échantillon a été stocké dans les mêmes conditions environnementales que le tomographe pour éviter les variations dimensionnelles durant l'acquisition des images.

Acquisition des images. L'acquisition des images a été effectuée avec le tomographe RX solution EasyTom Ultra 150-160 au Centre Européen de Biotechnologie et Bioéconomie (CEBB) à Pomacle. L'échantillon est placé sur un support effectuant une rotation à 360° entre une source de rayons X et un imageur (Fig. 1b). Dans notre cas, l'objectif est d'avoir à la fois un contraste entre le vide et la paroi cellulaire tout en combinant une taille de voxel le plus petit possible. Pour ce faire, nous avons utilisé la nano-source X avec une tension du tube de 75 kV et une intensité de 200 μ A. Cette dernière a été couplée avec une caméra CCD (4032×2668) ayant une taille de pixel de 9 μ m. La durée d'exposition a été fixée à 1 seconde et chaque projection est la moyenne de 10 images consécutives. Un total de 1568 projections a été enregistré en utilisant le mode « Étape par étape + images de référence », pour éviter une rotation de l'échantillon durant l'acquisition pouvant générer du bruit. L'ensemble de ces paramètres a conduit à une durée de balayage d'environ 5 heures avec une résolution de 0,55 μ m par voxel.

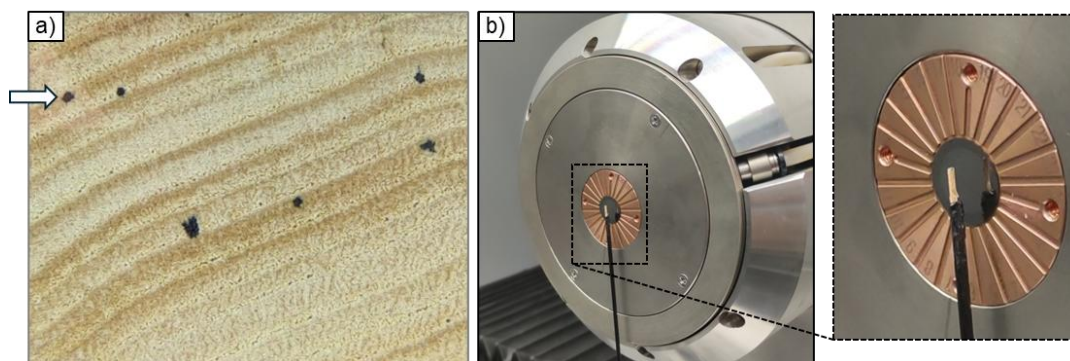


Fig. 1 : a) Localisation de l'échantillon dans le bois final (flèche blanche) et b) Photographie de l'échantillon dans le tomographe durant l'acquisition.

Traitement des images. La reconstruction numérique 3D à partir des projections 2D a été réalisée à l'aide du logiciel X-act basé sur le principe de la rétroprojection filtrée. Les étapes suivantes du traitement de l'image ont été réalisées à l'aide des logiciels Avizo (version 2019.1) et ImageJ pour les visuels 2D et 3D ainsi que MatLab pour la discrimination des cellules selon leurs caractéristiques géométriques. A titre d'exemple, les cellules de parenchyme des rayons ligneux ont été identifiées à partir de leur orientation (direction radiale), ayant une section réduite tout comme une longueur restreinte. En ce qui concerne les cellules de parenchyme axial, elles ont une orientation verticale ; elles sont superposées et séparées par des parois horizontales. Les éléments de vaisseaux ont un diamètre plus important que les autres cellules et sont plus hauts que larges ; ils sont perforés à leurs extrémités (perforation simple) et superposés pour former des vaisseaux de longueur indéterminée. (Fig. 2). Enfin, le reste des cellules est attribué aux fibres englobant les fibres trachéides vasicentrique (cellules courtes, de forme irrégulière et souvent associées aux vaisseaux) et les fibres de soutien (Trouy, 2015). Ainsi, une fois la binarisation et l'élimination des clusters de pixels liée au bruit, l'ensemble des critères

d'identification des éléments anatomiques a pu permettre l'attribution d'une coloration pour une meilleure visibilité tel que présenté sur la Fig. 2.

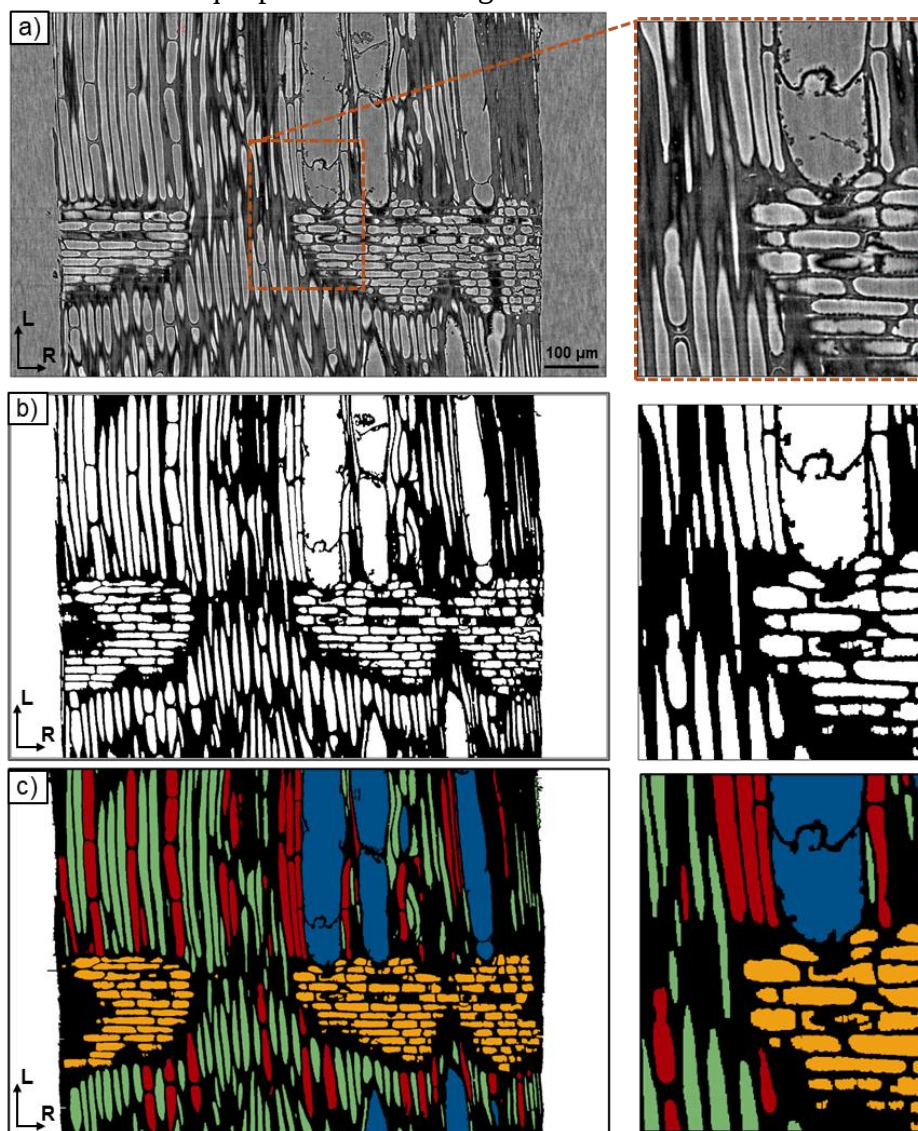


Fig. 2 : Étapes du traitement d'images à partir de l'image brute après reconstruction (a), puis de l'image binarisée (b) et de l'image en couleur (c) avec les vaisseaux en bleu, les cellules de parenchymes axiales en rouge, les rayons ligneux en ocre et les fibres en vert.

Résultats et discussion

Volume 3D. L'attribution de couleur aux éléments anatomiques permet de localiser plus facilement les cellules les unes par rapport aux autres par comparaison avec une image en niveaux de gris (Fig. 3). Sur cette représentation 3D colorée (Fig. 3b), les parois cellulaires (en noir sur la Fig. 2c) ont été rendues transparentes pour faciliter la visibilité. La limite du cerne se situe en bas à gauche du cylindre, ce qui explique la diminution progressive du diamètre équivalent des vaisseaux colorés en bleu avec une disposition dendritique, du haut droit vers le bas gauche. En ce qui concerne les cellules de parenchyme axial (en rouge), elles présentent une distribution à la fois apotrachéale, soit en cellules isolées, soit en fines bandes tangentielles et paratrachéale, accolées aux vaisseaux (Trouy, 2025).

Sur le volume étudié, 48% du volume est composé de vide cellulaire. En faisant l'hypothèse que la masse volumique de la paroi cellulaire est de 1530 kg.m^{-3} (Siau 1984) et identique pour

toutes les cellules, la masse volumique de l'échantillon scanné situé dans le bois final est de $795,6 \text{ kg.m}^{-3}$.

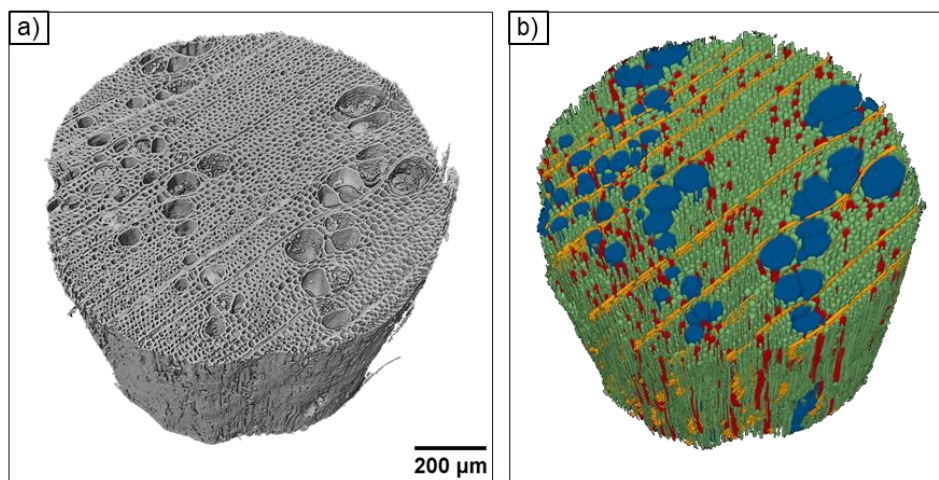


Fig. 3 : Reconstruction 3D du volume scanné à l'aide d'Avizo (a) et après attribution de la couleur des cellules de l'échantillon de bois final (b)

L'attribution de marqueurs aux éléments anatomiques permet également d'effectuer des calculs de proportion de volume des cavités suivant les typologies de cellules. La proportion de vide attribué aux vaisseaux (cellules conductrices de sève brute) représente 17,6 % et 12,3 % pour les cellules de parenchyme (Tab. 1).

Tab. 1 : Répartition des vides cellulaires en fonction des éléments anatomiques

Élément anatomique	Vaisseaux	Fibres	Cellules de parenchyme axiales	Rayons ligneux
Volume (%)	17,6 %	18,6 %	5,3 %	7 %

Vaisseaux

Un total de 72 vaisseaux a été identifié. Parmi ces vaisseaux, sept ont été sélectionnés pour mettre en évidence la variation du diamètre équivalent suivant la direction axiale. A titre d'exemple, le coefficient de variation du vaisseau n°39 (ligne orange - Fig 3a) est de 11,1 %. Les résultats indiquent également des variations locales de diamètre équivalent pour les vaisseaux n°69 (ligne bleue – Fig. 4a) et 50 (ligne violette – Fig. 4a). L'analyse combinée des courbes et des visualisations 3D indique que les deux variations locales aux hauteurs de 0,28 et 0,485 µm du vaisseau n°69 sont liées à la perforation entre deux éléments de vaisseaux. La jonction entre deux éléments de vaisseaux peut conduire à une réduction locale de l'aire de passage pouvant entraîner une résistance à la circulation du fluide.

Le traitement d'image ne permet pas d'isoler un seul élément de vaisseau. Il est cependant intéressant d'observer que les éléments de vaisseaux finissent en pointe comme visible sur le vaisseau n°34 (Fig. 4b) ou qu'il est possible d'avoir un écartement entre les éléments de vaisseaux pour le passage d'un rayon ligneux (zoom Fig. 4b). On observe donc que la circulation de la sève brute peut se scinder dans deux voies de passage, à savoir, au niveau de la perforation simple avec le diamètre le plus important de la cellule ou dans une section réduite connectée à d'autres cellules conductrices à travers les ponctuations intravasculaires. Cette observation indique que la circulation de fluide dans les éléments de vaisseaux est plus complexe qu'un simple tube. Ces données peuvent expliquer la complexité de la migration liquide dans le cas du séchage du bois ou lors de la reprise d'humidité lorsque la pièce est en contact avec de l'eau à l'état liquide (Perré et al 2022).

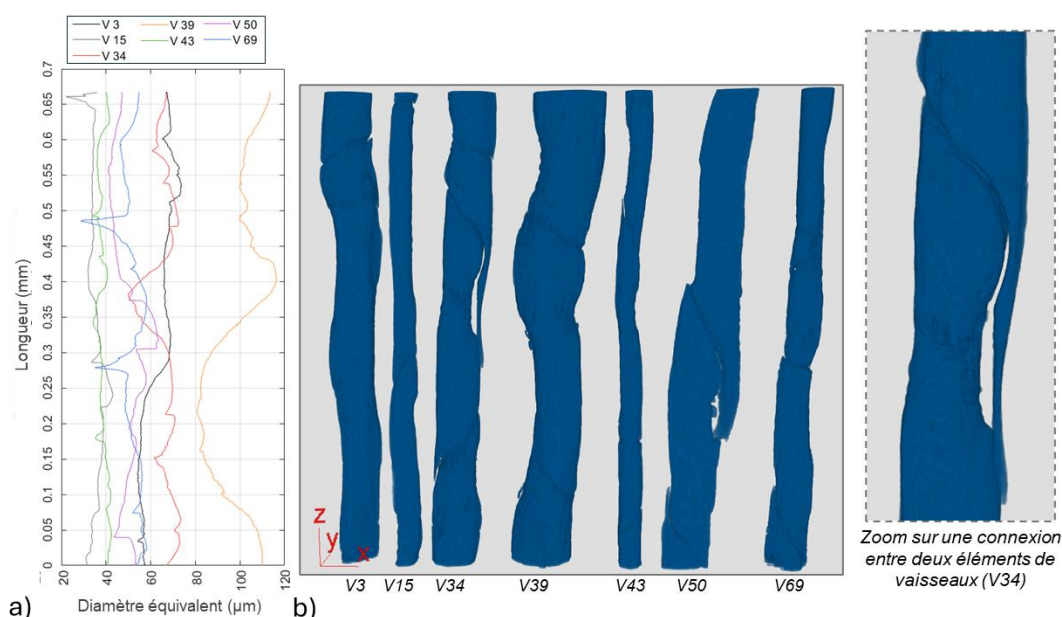


Fig. 4 : a) Variation du diamètre équivalent de quelques vaisseaux et b) Visualisation 3D des vaisseaux

Conclusion

La tomographie X haute résolution a permis d'observer la structure anatomique du châtaignier (*Castanea sativa*) à partir d'un échantillon cylindrique localisé dans le bois final. Le traitement des images a amélioré l'observation des principaux éléments anatomiques — vaisseaux, fibres et cellules de parenchyme — en fonction de leurs caractéristiques géométriques. Les résultats ont conduit à des mesures comme le calcul de la proportion volumique des vides cellulaires par élément anatomique. Il a ainsi été identifié que sur l'ensemble des vides cellulaires (48 %), 17.6 % sont dédiés à la migration de la sève brute (vaisseaux) et 12.3 % aux cellules de parenchyme orientées selon les directions axiale et radiale. Les images 3D mettent également en évidence la complexité tridimensionnelle de l'agencement anatomique. Par exemple, les vaisseaux qui présentent une tortuosité locale modifiant le diamètre de leur lumen, notamment au niveau des perforations entre éléments de vaisseau. Ces résultats ouvrent des perspectives nouvelles pour des simulations numériques à partir de la morphologie réelle 3D et ainsi mieux comprendre les propriétés physiques liées à l'organisation anatomique tridimensionnelle du bois.

Remerciements

La communauté urbaine du Grand Reims, le département de la Marne, la région Grand Est et l'Union Européenne (FEDER Champagne-Ardenne 2014-2020, FEDER Grand Est 2021-2027) sont remerciées pour leur soutien financier à la Chaire de biotechnologie de CentraleSupélec et au Centre Européen de Biotechnologie et de Bioéconomie (CEBB).

Références

- Badel E, Perré P (2002) Predicting oak wood properties using X-ray inspection: representation, homogenisation and localisation. Part I: Digital X-ray imaging and representation by finite elements. *Annals of Forest Science*. 59(7):767–776.
- Baettig R (2005) Using a poly-chromatic X-ray beam by moisture content and microfibril angle determination: theoretical and experimental approaches.
- Bailey IW (1909) *The Structure of the Wood in the Pineae*. Botanical Gazette. 48(1):47–55, University of Chicago Press.

- Butterfield BG, Meylan BA (1980) The Structure of wood. In: Butterfield B G, and Meylan B A, eds. Three-Dimensional Structure of Wood: An Ultrastructural Approach. Springer Netherlands. Dordrecht: 6–27.
- Derome D, Roels S, Carmeliet J (2005) Qualitative work to study water movement in wood. Proceedings of the 7th symposium on building physics in the Nordic countries. Reykjavik, Iceland: 173–180.
- Grew N (1682) The Anatomy of Plants. Literature and Science, 1660-1834, Part I, Volume 4. Routledge. London.
- Hooke R (1665) Micrographia, or Some Physiological Descriptions of Minute Bodies Made by Magnifying Glasses: With Observations and Inquiries Thereupon. London.
- Jane FW (1934) Aspects of the Study of Wood Anatomy. Science Progress (1933-). 28(111):439–455, Temporary Publisher.
- Kollmann FFP, Côté WA (1968) Principles of Wood Science and Technology: I Solid Wood.
- Liese W, Côté W (1960) Electron microscopy of wood: results of the first ten years of research. 5th World Forestry Congress. 2.
- Lindgren O, Davis J, Wells P, Shadbolt P (1992) Non-destructive wood density distribution measurements using computed tomography. Holz als Roh- und Werkstoff. 50(7–8):295–299.
- Martin B et al (2021) Monitoring imbibition dynamics at tissue level in Norway spruce using X-ray imaging. Holzforschung. 75(12):1081–1096, De Gruyter.
- Martin B et al (2022) CT investigation of 3D liquid pathways in the anatomical structure of Norway spruce wood during imbibition. Holzforschung. 76(7):592–603, De Gruyter.
- Perré P, Nguyen DM, Almeida G (2022) A macroscopic Washburn approach of liquid imbibition in wood derived from X-ray tomography observations. Scientific Reports. 12(1):1750, Nature Publishing Group.
- Polge H (1966) Établissement des courbes de variation de la densité du bois par exploration densitométrique de radiographies d'échantillons prélevés à la tarière sur des arbres vivants : applications dans les domaines Technologique et Physiologique. Annales des Sciences Forestières. 23(1):1–206.
- Siau JF (1984) Transport Process in Wood. Springer-Verlag. Berlin.
- Trouy M-C (2015). *Anatomie du bois: Formation, fonctions et identification*. Editions Quae.
- Trouy M-C (2025). *Atlas des bois feuillus de France - Outil d'identification multi-échelle*. Guide pratique. QUAE.
- Trtik P et al. (2007) 3D imaging of microstructure of spruce wood. Journal of Structural Biology. 159(1):46–55.
- Wei Q, Leblon B, La Rocque A (2011) On the use of X-ray computed tomography for determining wood properties: a review 1This article is a contribution to the series The Role of Sensors in the New Forest Products Industry and Bioeconomy. Canadian Journal of Forest Research.
- Wilson K, White DJB (1986) The anatomy of wood: its diversity and variability. The anatomy of wood: its diversity and variability., Stobart & Son Ltd..