



HAL
open science

Tutoriel: Préparation et mesures des racines via le logiciel WinRHIZO (2013e.)

Eric Lecloux

► **To cite this version:**

Eric Lecloux. Tutoriel: Préparation et mesures des racines via le logiciel WinRHIZO (2013e.). 2017. hal-02959139

HAL Id: hal-02959139

<https://hal.inrae.fr/hal-02959139>

Submitted on 6 Oct 2020

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

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

TUTORIEL : PREPARATION ET MESURES DES RACINES VIA LE LOGICIEL WinRHIZO (2013e.)

Ce tutoriel est basé sur les explications du guide d'utilisation WinRHIZO 2013. Basic, Reg, Pro & Arabidopsis For Root Measurement (par Régent instruments Canada inc). Disponible sur : www.regeninstruments.com. Support technique : techsup@regeninstruments.com).

Les étapes de ce tutoriel correspondent aux différentes étapes nécessaires à l'analyse des racines. On suppose ici que les racines sont lavées et prêtes à être colorées puis scannées.

Sommaire

1. COLORATION DES RACINES (FACULTATIF)	3
I - Préparation du colorant	3
II - Coloration des racines	4
2. INSTALLATION DU SCANNER	5
I - Brancher le scanner à l'ordinateur et l'allumer	5
II – Insertion du CD d'installation	5
III – Installation du scanner sur l'ordinateur	6
IV – Interface du scanner	8
3. LE LOGICIEL WinRHIZO	9
a) Installation du logiciel	9
I – Insertion du CD d'installation dans l'ordinateur	9
II - Copie du contenu du CD sur l'ordinateur	9
III – Installation du logiciel WinRHIZO	10
b) Démarrage du logiciel	10
I – Ouverture du logiciel WinRHIZO	10
II – Choix du scanner	11
III – Fenêtre principale du logiciel	12
c) Définition des paramètres de réglage	13
I – Le ruban principal	13
II - Description de la fenêtre principale du logiciel	18

III – Paramètres de réglage du scanner.....	22
d) Acquisition et analyse d'une image	23
I – Création ou ouverture du fichier texte d'enregistrement des données analysées	23
II – Etalonnage du scanner et de l'analyse avec l'étalon	24
III – Acquisition d'une image.....	25
IV – Analyse de l'image	26
e) Exportation des données des analyses et enregistrement de l'image numérisée	30
I – Exportation des données des analyses avec Excel.....	30
II – Enregistrement de l'image numérisée	32
f) Manipulation des racines	33
Matériel nécessaire et objectif	33
I – Démêlage des racines.....	34
II – Disposition des racines sur la plaque	35
III – Numérisation de la plaque	37
IV – Rangement des racines	38
4. GLOSSAIRE	39
5. ANNEXE : Paramètres utilisés lors du scan et de l'analyse de racines de blé dur	40

1. COLORATION DES RACINES (FACULTATIF)

Il est possible de colorer les racines si celles-ci sont trop fines et transparentes. La coloration permet aux racines d'être mieux détectées par le logiciel lors de l'analyse car cela améliore les contrastes. La concentration est de 0.05g de bleu de méthylène par litre.

I - Préparation du colorant

- 1 fiole jaugée de 2l.
- 0,1g ou 5ml de bleu de méthylène
- Eau désionisée
- Parafilm
- Agitateur magnétique

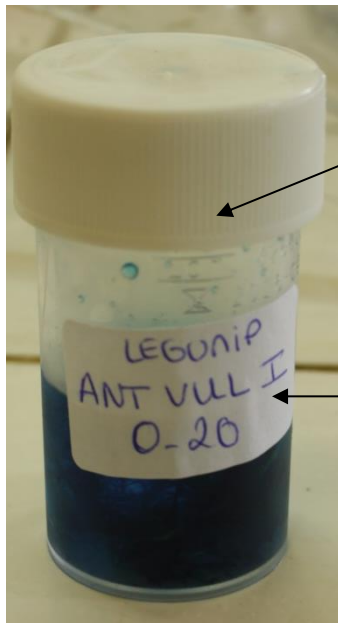
1. Préparer dans un bécher le bleu de méthylène.
2. Verser le bleu de méthylène dans la fiole jaugée.
3. Ajuster avec de l'eau désionisée jusqu'au trait de jauge.
4. Placer un agitateur dans la fiole et laisser agiter sur l'agitateur magnétique pour homogénéiser.
5. Parafilmer la fiole et la stocker au frigo (conservation de la solution : 1 semaine à 4°C).



II - Coloration des racines

- Colorant
- Flacons de coloration avec bouchon
- Etiquettes d'identification
- Passoire

1. Déposer les racines à colorer dans un flacon.
2. Coller l'étiquette d'identification correspondant à l'échantillon des racines sur le flacon.
3. Recouvrir les racines avec le colorant.
4. Laisser reposer le flacon au frigo pendant la nuit
5. Avant de pouvoir scanner les racines, les égoutter à l'aide de la passoire puis les étaler sur la plaque de scan.



Flacon de coloration rempli de colorant et de racines.

Etiquette d'identification de l'échantillon coloré.



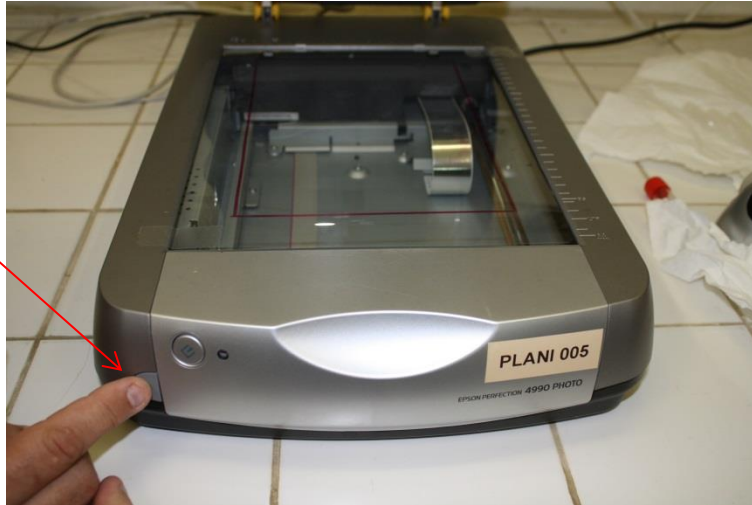
Passoire utilisée pour égoutter les racines colorées.

1. INSTALLATION DU SCANNER

Le scanner doit être installé via le driver (CD d'installation) avant l'installation du logiciel WinRHIZO.

I - Brancher le scanner à l'ordinateur et l'allumer

Bouton
d'allumage

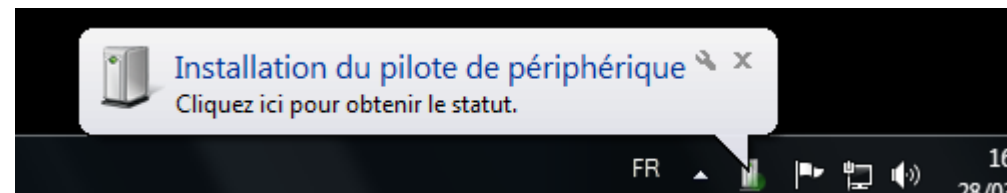


II – Insertion du CD d'installation



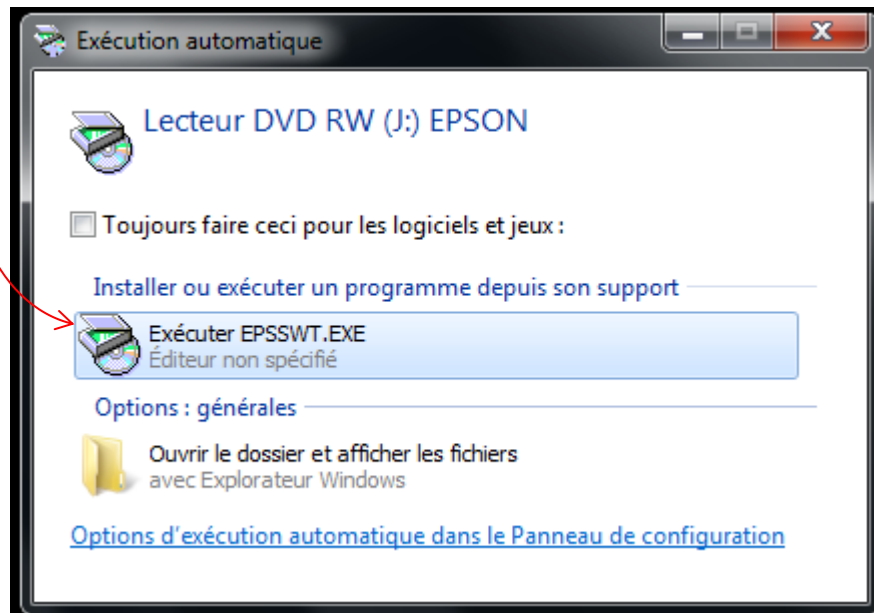
Le scanner doit être installé sur l'ordinateur avec le CD d'installation pour qu'il fonctionne.

Bien allumer le scanner avant l'installation du CD pour que l'installation soit réussie. Une fois le CD inséré, le message suivant apparaît :



III – Installation du scanner sur l'ordinateur

Choisir « Exécuter EPSSWT.EXE » lorsque la fenêtre suivante s'affiche :

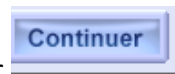


La fenêtre suivante apparaît :



Il est nécessaire de désactiver l'antivirus de l'ordinateur pour pouvoir installer le scanner.

Lorsque l'antivirus est désactivé cliquer sur



Choix des modules à installer



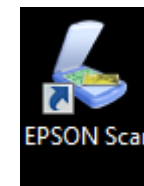
Sur cette fenêtre, sélectionner « installation » pour lancer l'installation. Il est aussi possible de choisir la langue ou de personnaliser l'installation en choisissant les modules à installation. Par exemple, choisir « EPSON Scan » si l'on souhaite installer que le scanner. Si l'on sélectionne « installation » directement, l'ensemble des modules seront installés sur l'ordinateur.

L'installation est en cours :



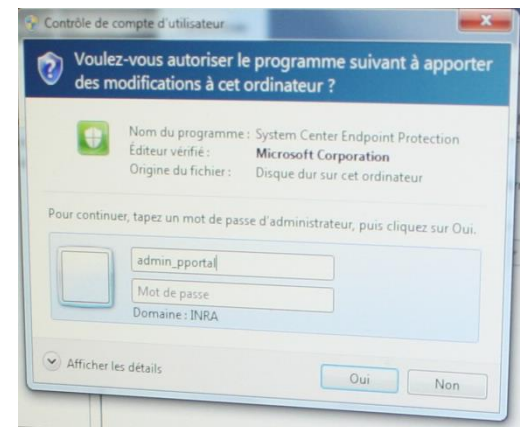
Félicitations! L'installation est terminée!

L'installation est terminée. L'icône suivante est disponible sur le bureau de l'ordinateur :



Remarque :

Dans certains cas, l'installation ne peut être effectuée que par un administrateur réseau. Une fenêtre demandant le mot de passe administrateur s'affiche. Il est alors nécessaire de faire appel à un administrateur et/ou informaticien pour qu'il donne l'autorisation au programme de s'installer.



IV – Interface du scanner



Il est possible de modifier les paramètres du scanner pour personnaliser les scans. Cet aspect est abordé en *page 22* de ce tutoriel.

2. LE LOGICIEL WinRHIZO

Le logiciel WinRHIZO est un logiciel de traitement de l'image. Il est utilisé pour l'analyse d'appareils racinaires de plantes mais peut également être utilisé pour l'analyse de systèmes aériens et notamment les systèmes foliaires.



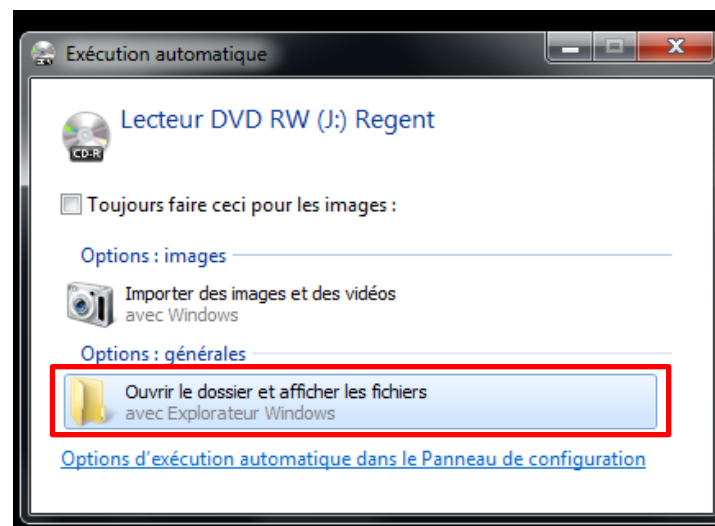
La clé USB permettant le fonctionnement du logiciel est indispensable pour réaliser les analyses. **Ne pas la perdre !**

a) Installation du logiciel

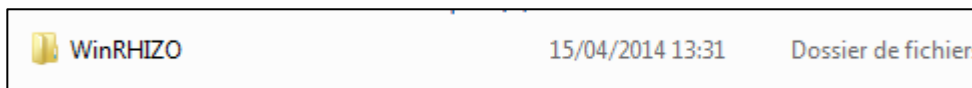
I – Insertion du CD d'installation dans l'ordinateur



II - Copie du contenu du CD sur l'ordinateur



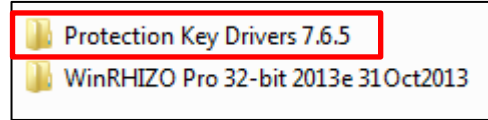
Afin de ne pas modifier les fichiers contenus sur le CD d'installation, l'ensemble des documents du CD doivent être copiés sur l'ordinateur. Pour cela, copier le fichier nommé « WinRHIZO » sur le bureau de l'ordinateur.

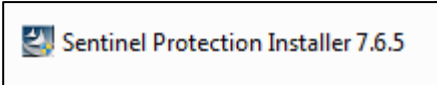



Une fois le dossier copié, éjecter le CD d'installation et le ranger dans sa pochette. La suite de l'installation peut se réaliser sans le CD.

III – Installation du logiciel WinRHIZO

Ouvrir le dossier  puis ouvrir le dossier « Protection Key Drivers 7.6.5 ».



Double cliquer sur l'icône  pour lancer l'installation.

Le raccourci  est alors créé sur le bureau de l'ordinateur. Il permet de lancer le logiciel WinRHIZO.

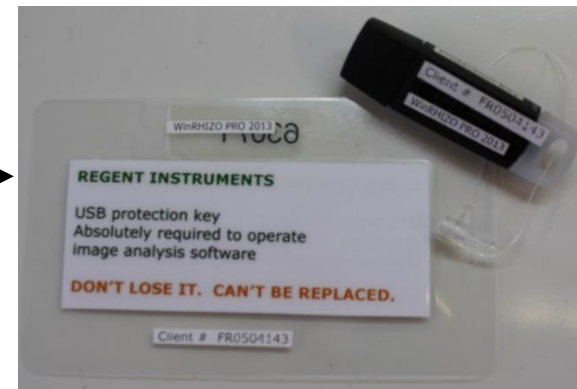


Remarque : la clé USB n'a pas besoin d'être insérée lors de l'installation de WinRHIZO. Cependant, il est indispensable de la connecter à l'ordinateur lors de l'utilisation du logiciel.

b) Démarrage du logiciel

I – Ouverture du logiciel WinRHIZO

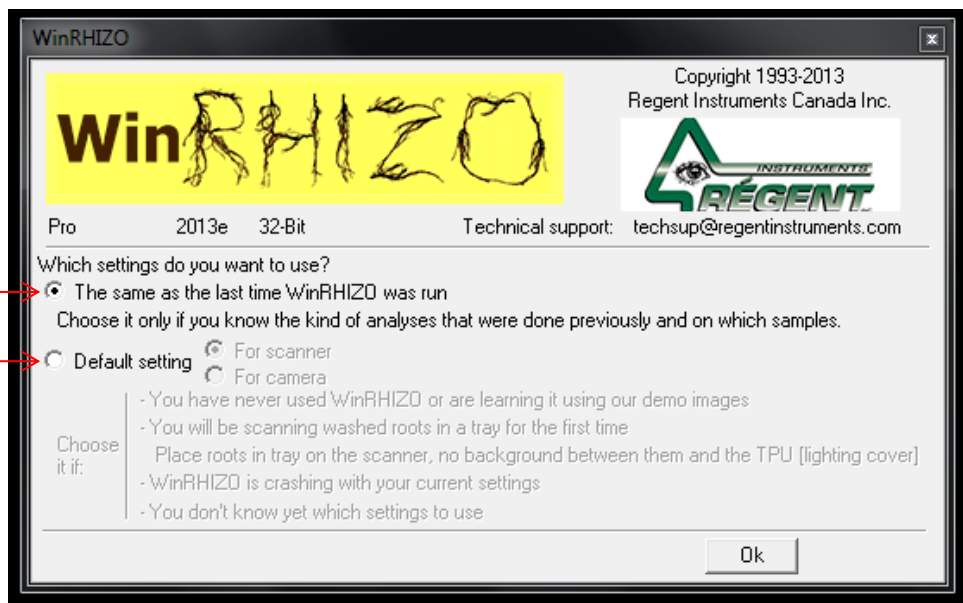
Pour ouvrir le logiciel WinRHIZO, insérer la clé USB dans l'ordinateur. →



Puis, double-cliquer sur l'icône  disponible sur le bureau.



La fenêtre suivante s'ouvre :



Lors de la première ouverture sélectionner « Default setting » (2) avec l'option « For scanner » - l'image sera numérisée avec le scanner ou « For camera » - l'image sera téléchargée depuis l'ordinateur.

Le mode « Default setting » choisit les paramètres par défauts lors de l'ouverture de WinRHIZO. Si l'on souhaite réutiliser les mêmes paramètres que lors de la dernière utilisation du logiciel, choisir l'option « The same as the last time WinRHIZO was run » (1)

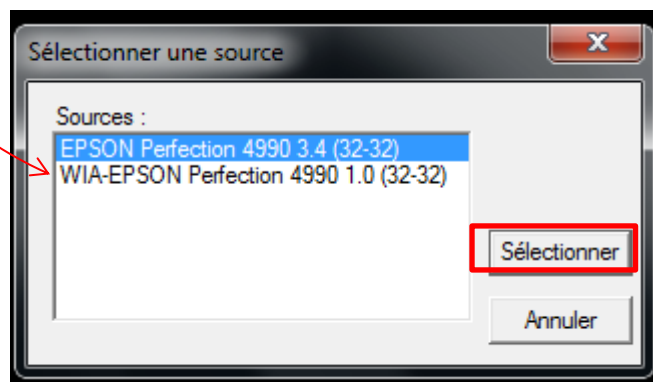
Enfin cliquer sur « Ok ».

II – Choix du scanner

Sélectionner la source d'acquisition de l'image, c'est-à-dire le scanner, sur la fenêtre suivante.



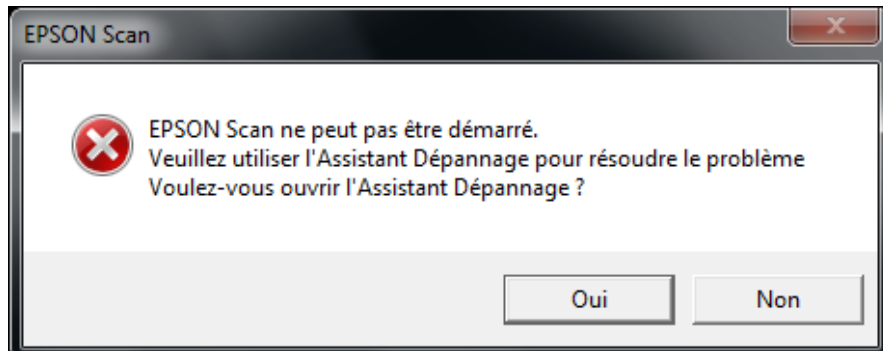
Ne jamais sélectionner une source commençant par « WIA », sinon le logiciel ne reconnaitra pas le scanner lors de l'acquisition d'une image.



Puis cliquer sur « sélectionner ».

R AGIR – Mai 2017

Si aucun scanner ou camera n'est branché à l'ordinateur, le message suivant apparaît :



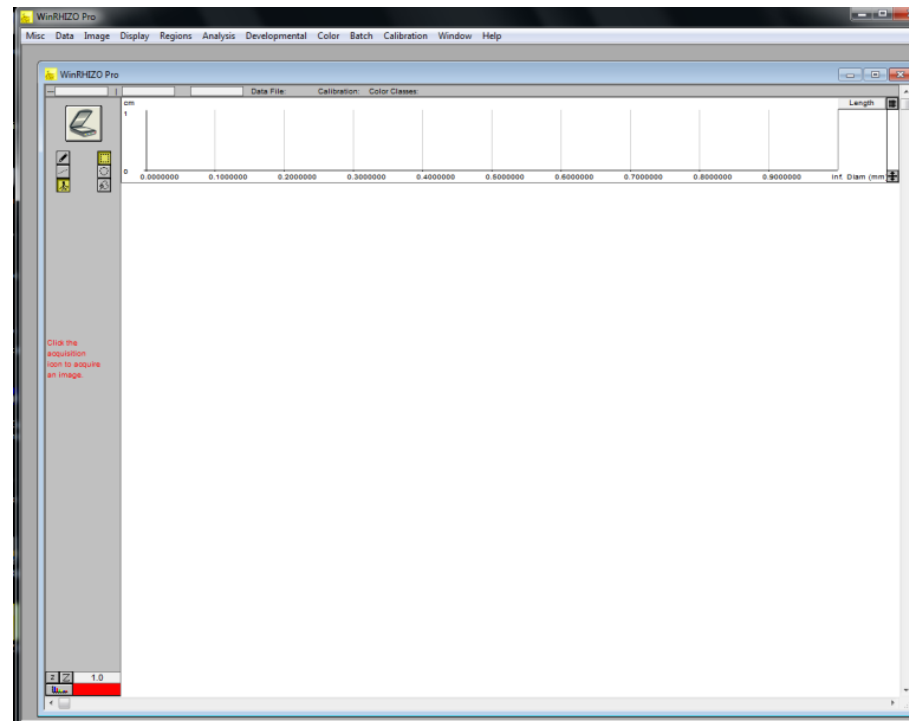
Ne pas choisir d'ouvrir l'Assistant Dépannage et cliquer sur « Non ».

Les images à analyser devront alors être téléchargées avec le bouton :



III – Fenêtre principale du logiciel

Lors de l'ouverture du logiciel et une fois que les paramètres précédents ont été définis, la fenêtre principale du logiciel apparaît :



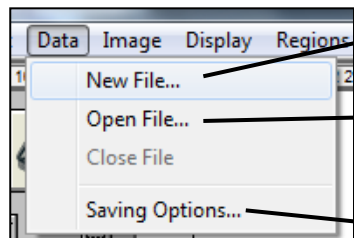
c) Définition des paramètres de réglage

Avant d'analyser et de télécharger une nouvelle image, il est nécessaire de définir les paramètres de scan et d'analyse. Dans cette partie seront détaillés les différents paramètres et leurs modifications possibles.

I – Le ruban principal

En haut de la fenêtre WinRHIZO se situe le ruban principal permettant de réaliser différentes actions (télécharger une image, sauvegarder une image, choisir les paramètres, etc.). Ce ruban est central dans l'utilisation du logiciel. Nous allons détailler les onglets principaux nécessaires dans l'analyse d'une image (le détail de chaque paramètre, dont les paramètres non détaillés, ici est disponible dans le guide d'utilisation de WinRHIZO par Regent, référence *page 42*).

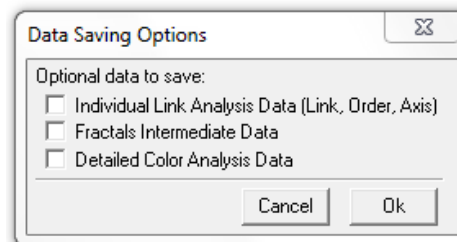
➤ Data



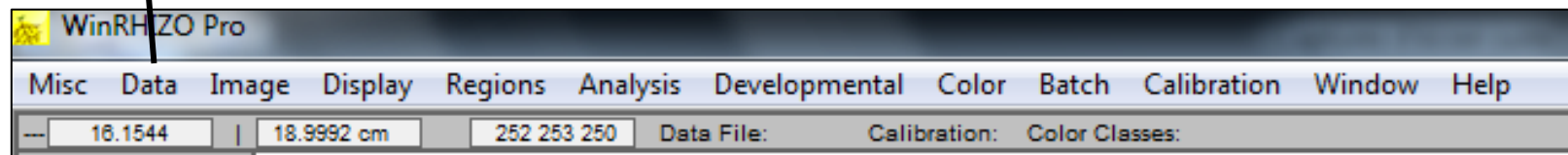
Ouvrir un nouveau fichier d'enregistrement des données. Ce fichier est un fichier texte « .TXT ». Les résultats des analyses seront enregistrés dessus. (Cf. *page 30*).

Ouvrir un fichier d'enregistrement des données déjà existant. Les données d'analyse seront enregistrées à la suite dans ce fichier.

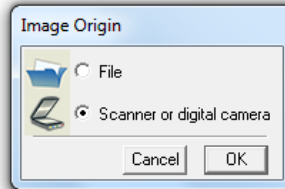
Options de sauvegarde :



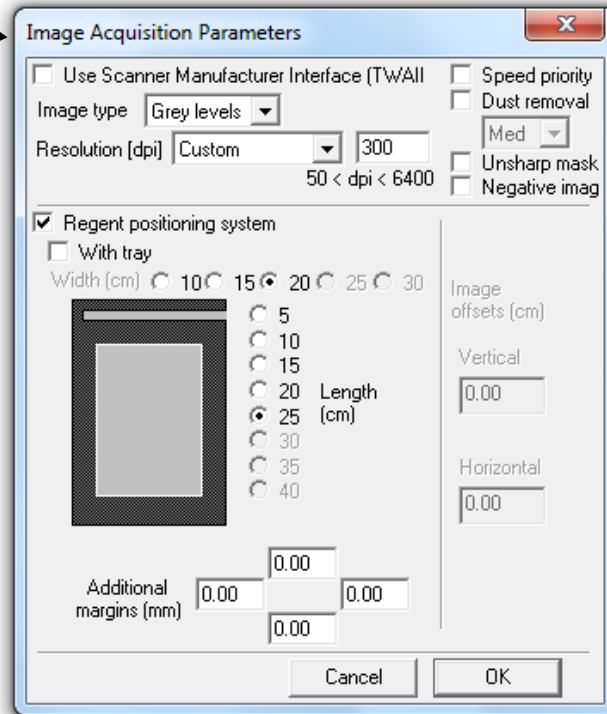
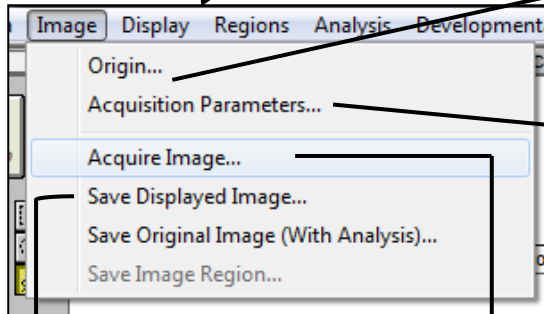
Permet de choisir des options lors de la sauvegarde des données.



➤ Image

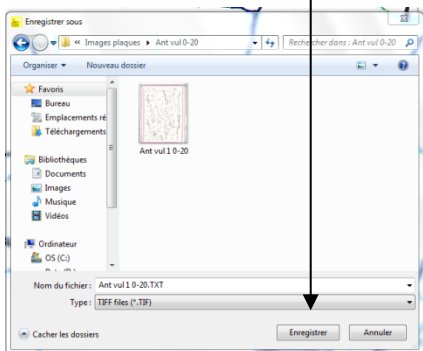


Choix de la source de l'image : « File » pour télécharger une image provenant d'un dossier présent sur l'ordinateur ou « Scanner or digital camera » pour acquérir l'image à partir du scanner.



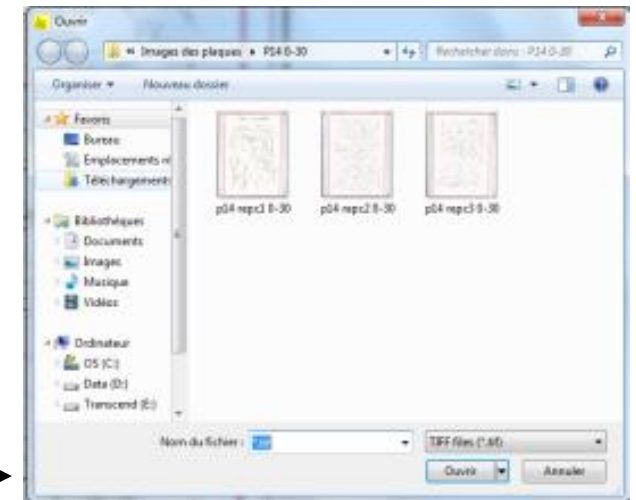
Choix des paramètres de scan du logiciel. Détail des explications *page 15*.

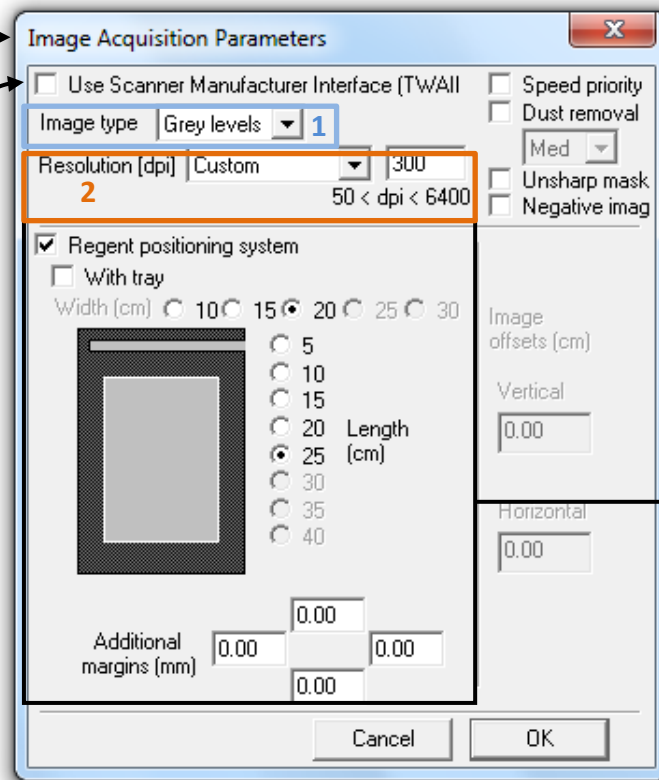
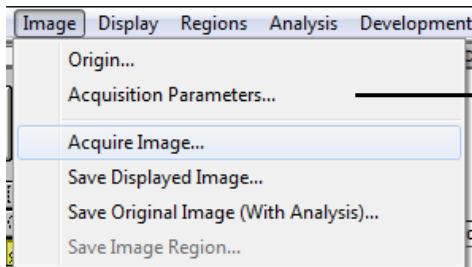
➔ Sauvegarder l'image affichée à l'écran. Cela permet notamment de sauvegarder une image scannée.



En mode « scanner » : lance le scanner pour l'acquisition d'une nouvelle image.

En mode « File » : permet le téléchargement de l'image à analyser en ouvrant une fenêtre permettant le choix de l'image à télécharger.





Choix d'options lors de l'acquisition de l'image par le scanner :

- Speed priority : si la case est activée, le scan est plus rapide avec une qualité plus faible. A l'inverse le scan plus lent et de meilleure qualité.
- Dust removal : si la case est activée, le logiciel enlève les poussières et résidus détectés lors du scan.
- Unsharp masking : si la case est activée, les images scannées sont moins floues.
- Negative image : si la case est activée, l'image est scannée en négatif (couleurs inversées).

Choix des marges de l'image scannée. Des marges additionnelles peuvent être ajoutées.

Sélection du type d'image à scanner :

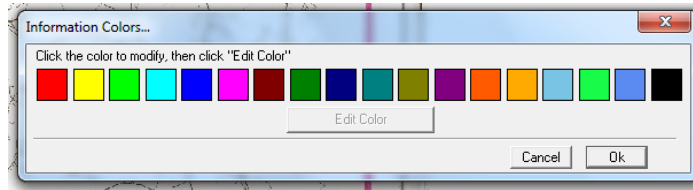
1 niveaux de gris (image noir et blanc avec des nuances de gris), image en couleur, etc.

2 Choix de la résolution de l'image scannée. Plusieurs résolutions déjà paramétrées sont disponibles. Pour choisir une résolution personnalisée, sélectionner « Custom » dans la première fenêtre (comme sur l'exemple ici) puis inscrire la résolution souhaitée dans la case de droite (ici 300 dpi). La résolution doit être comprise entre 50 et 6400 dpi.

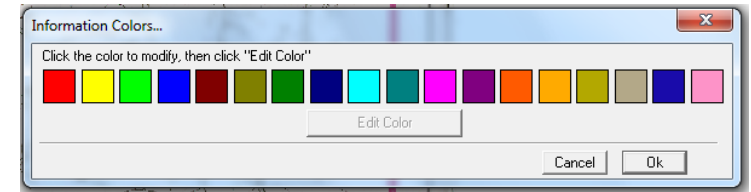
Cocher cette case dans le cas où l'utilisation des paramètres du scanner est souhaitée lors de l'acquisition de l'image. Si cette case n'est pas cochée, les paramètres de scan par défaut seront ceux du logiciel.

Le reste des cases correspondent aux réglages des paramètres de scan par le logiciel WinRHIZO. Cf page 22.

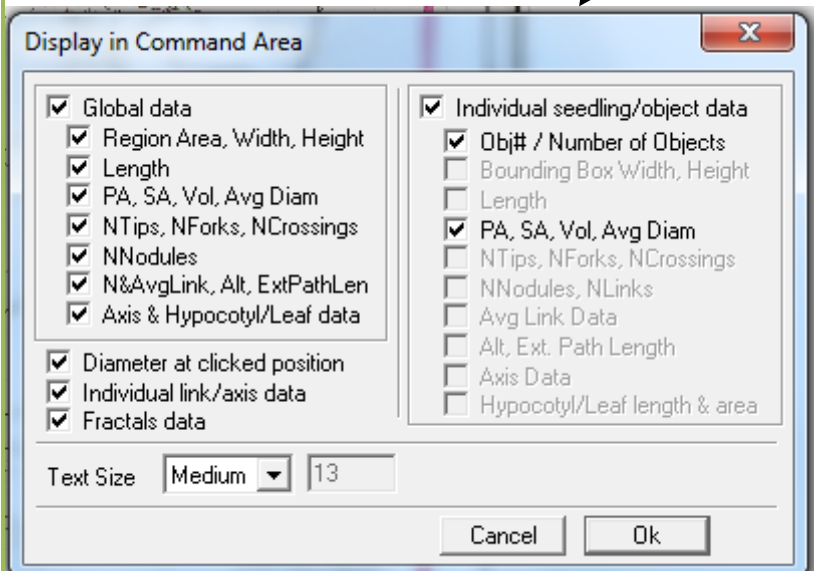
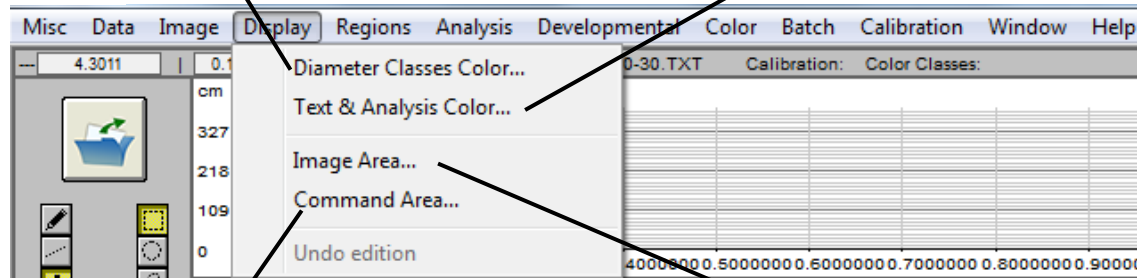
➤ Display



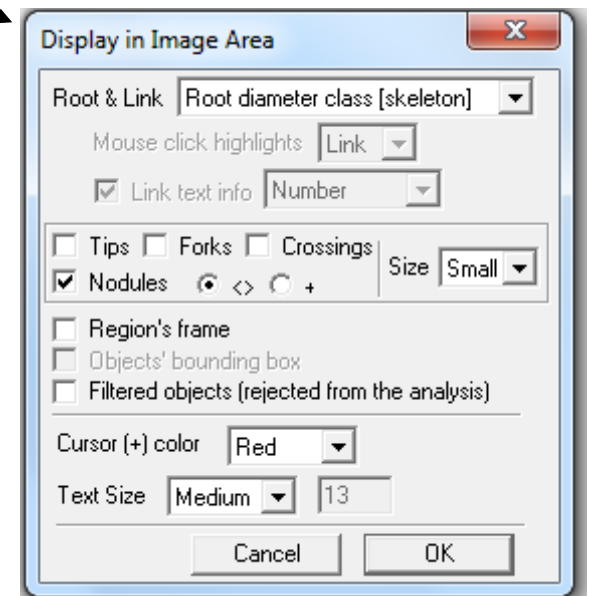
Choix de la couleur des classes de diamètres dans le graphique des classes.



Choix de la couleur du texte lors de l'analyse.



Choix des paramètres analysés par le logiciel (Cf. glossaire page 39).



Choix des paramètres de l'aire de l'image analysée

➤ Windows

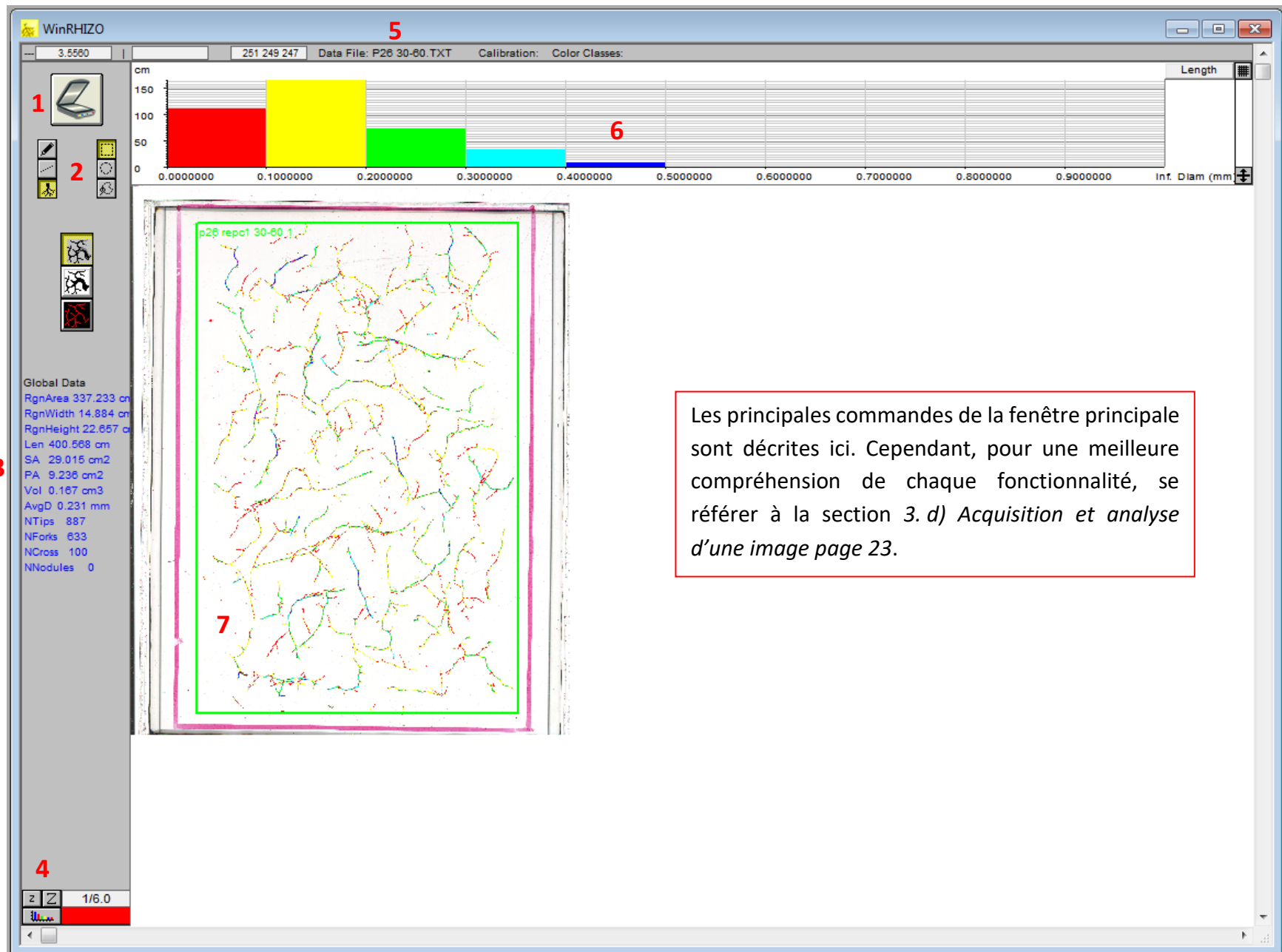
The screenshot displays the WinRHIZO Pro software interface. The 'Window' menu is open, showing options: Cascade, Tile, New, and WinRHIZO Main Window. Three arrows point from text annotations to these menu items. The main window shows a data file 'P14 0-30.TXT' and a 'Color Class' calibration. Below the main window, a second window is open, displaying a graph of 'Length' vs 'Diam (mm)' and a corresponding image of a plant root system with a red bounding box.

Ouverture d'une nouvelle fenêtre d'analyse du logiciel



Affichage de la fenêtre principale de WinRHIZO

Affichage de plusieurs fenêtres d'analyse en même temps (exemple ici avec deux fenêtres affichées à l'écran).

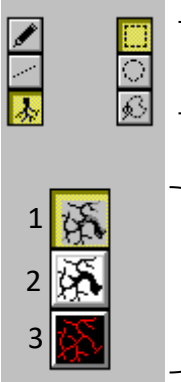
II - Description de la fenêtre principale du logiciel



Les principales commandes de la fenêtre principale sont décrites ici. Cependant, pour une meilleure compréhension de chaque fonctionnalité, se référer à la section 3. d) *Acquisition et analyse d'une image* page 23.

1 :  ou  : bouton pour lancer le scan d'une nouvelle image (à gauche) ou bien pour télécharger une image à analyser à partir d'un dossier présent sur l'ordinateur (à droite). (Ce bouton à la même fonction que le choix « Acquire Image... » dans le ruban « Image »).

2 :



A droite, choix de la forme de la sélection pour l'analyse de l'image (de haut en bas) : en rectangle, en rond ou bien sélection d'une forme dessinée avec la souris.
A gauche, curseur pour dessiner soi-même des morceaux de racines non pris en compte lors de l'analyse par le logiciel.

Choix du style d'affichage de la section de l'image analysée : (1) affichage de l'image originale analysée ; (2) affichage des pixels analysés de l'image ; (3) affichage du squelette de l'image analysée.

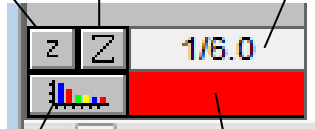
3 : Résumé de l'analyse



Global Data	
RgnArea	337.233 cm
RgnWidth	14.884 cm
RgnHeight	22.657 cm
Len	400.568 cm
SA	29.015 cm ²
PA	9.236 cm ²
Vol	0.167 cm ³
AvgD	0.231 mm
NTips	887
NForks	633
NCross	100
NNodules	0

5 : En haut de la fenêtre, Data File indique le nom du fichier dans lequel les analyses sont enregistrées

Data File: P26 30-60.TXT

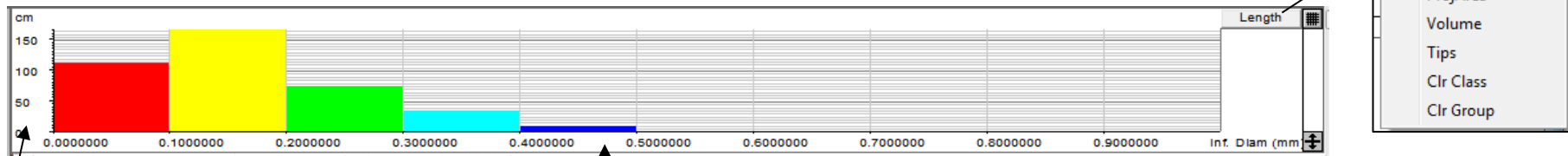


Zoom arrière Zoom avant Echelle de l'image affichée

Affichage ou non de la zone de graphique du haut de l'écran (n°5).

Choix de la couleur des classes de la zone graphique (n°5).

6 : Graphique de délimitation des classes : ce graphique représente les données mesurées en fonction de chaque classe de diamètre définies.



Echelle des données mesurées par le logiciel.

Double cliquer sur l'abscisse pour déterminer la taille des **classes de diamètres** souhaitées pour l'analyse. Ex : en choisissant Length en ordonnée, le logiciel affichera la somme des longueurs mesurées pour chaque classe de diamètres racinaires de 0.1mm mesurée.

Cliquer sur « Length » pour choisir quelle **donnée** (mesurée par le logiciel) à afficher sur le graphique (Length pour longueur mesurée, ProjArea pour aire projetée mesurée, Volume pour volume mesuré, etc.).

Il existe différentes possibilités pour déterminer les classes d'analyse. Voici deux exemples :

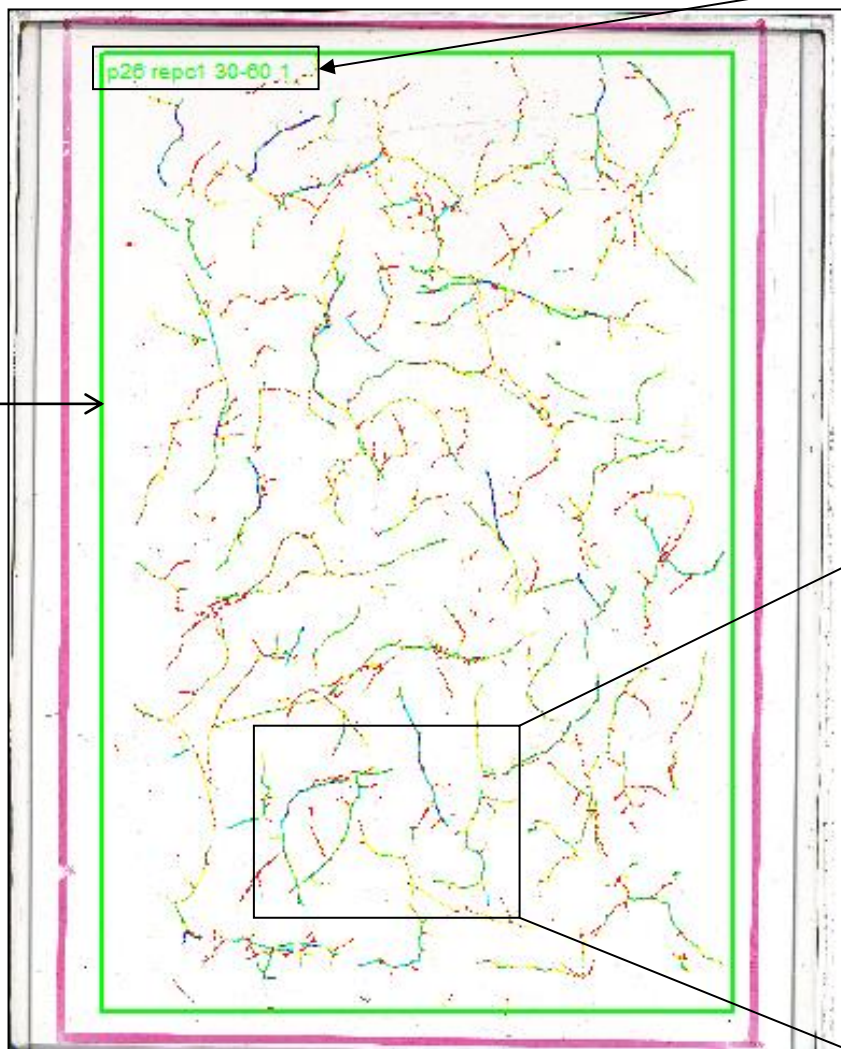
Ex n°1 : choisir soi-même la taille de chaque classe en sélectionnant « Variable width classes ». Ensuite, dans la deuxième fenêtre, définir les intervalles souhaités.


Ex n°2 : choisir des classes d'intervalles égaux. Entrer le nombre de classes souhaités (« Number of classes ») puis la taille de chaque intervalle (« Interval width (mm) »).

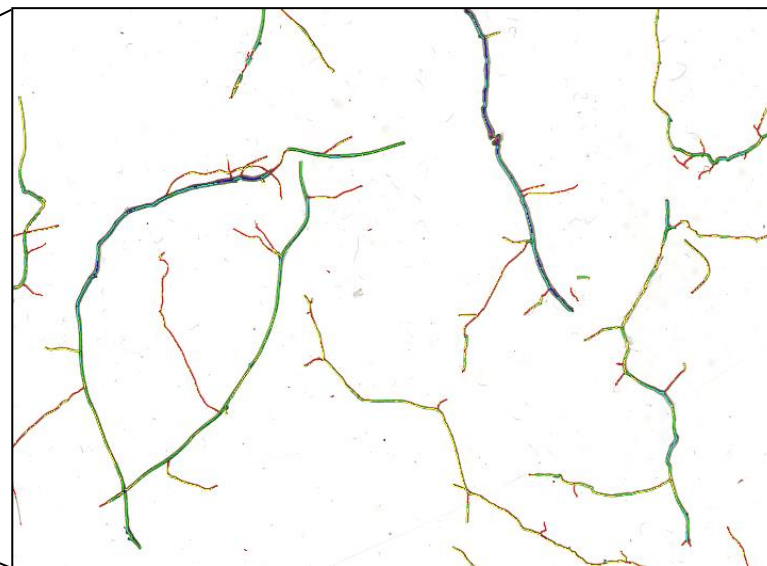
7 : Zone d'analyse de l'image. Il s'agit de la zone où l'image téléchargée/scannée est affichée. C'est sur cette image que la sélection de la partie à analyser sera effectuée.

Nom de l'analyse réalisée (Cf. page 27). Plusieurs analyses peuvent être réalisées sur la même image. Ce nom apparaîtra dans le fichier de données (Cf. page 30).


Le cadre vert délimite la partie analysée par le logiciel



Lorsque l'on réalise un zoom avec le bouton , on observe que les racines analysées possèdent plusieurs couleurs. Chaque couleur correspond à une classe de diamètre définie sur le graphique (n°5).



III – Paramètres de réglage du scanner

Dans le cas où les paramètres du scanner pour l'acquisition des images sont sélectionnés (Cf. page 14), la fenêtre suivante permettant le choix des paramètres de scan s'ouvre à chaque acquisition c'est-à-dire à chaque fois que l'on clique sur  ou que l'on sélectionne « Acquiere image... ».



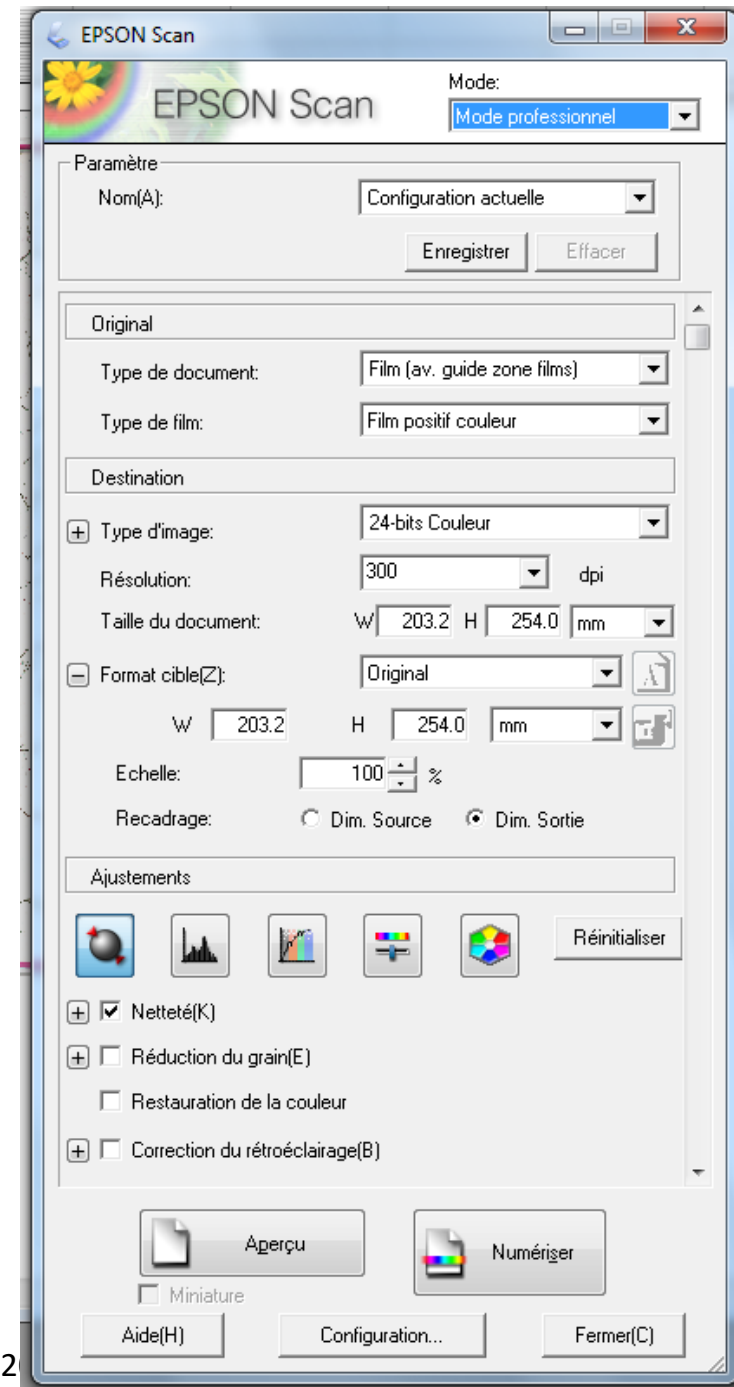
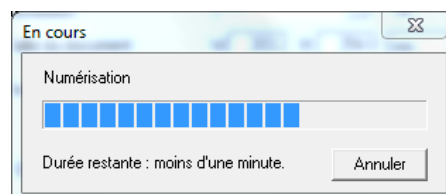
Ici sont présentés les paramètres de scan choisis lors de l'acquisition et l'analyse de racines de blé dur et de Légumineuses.

Nous avons choisi ici le mode professionnel qui permet une meilleure personnalisation des paramètres de scans et un plus large choix de paramètres.

Le type de document est le type film afin de pouvoir scanner les plaques de racines avec un double flux lumineux. Le double flux est utile pour éviter les ombres et reflets créés parfois lors de l'acquisition des images.

La résolution définie est 300dpi. Il s'agit d'un compromis entre la précision de scan et la précision de l'analyse par WinRHIZO. Si la résolution est trop importante, le logiciel analysera des résidus en plus des racines présentes sur la plaque. Les résidus sont, par exemple, des rayures de la plaque de scan. Si la résolution définie est trop faible, le logiciel n'analysera pas toutes les racines présentes sur la plaque.

Cliquer sur « Numériser » pour lancer l'acquisition de l'image. La fenêtre suivante apparaîtra alors :

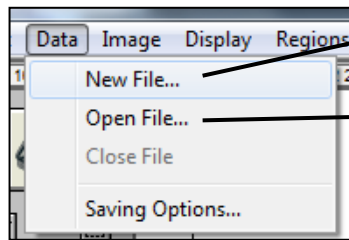


d) Acquisition et analyse d'une image

Ici sont présentées les étapes en pas à pas d'acquisition et d'analyse de l'image de la création d'un dossier d'enregistrement des données à l'analyse de l'image acquise. Cette partie comprend des rappels d'explications vues dans les étapes précédentes de ce tutoriel. Le but de cette partie est de visualiser l'enchaînement des étapes et rendre les explications plus concrètes.

I – Création ou ouverture du fichier texte d'enregistrement des données analysées

La première étape est de bien ouvrir ou créer un fichier texte (« .TXT ») d'enregistrement des données.



→ Ouvrir un nouveau fichier d'enregistrement des données.

→ Ouvrir un fichier d'enregistrement des données déjà existant.



Bien nommer les fichiers d'enregistrement avec des noms explicites et non ambigus pour un meilleur traitement des données.

Si aucun fichier d'enregistrement n'est ouvert, le message suivant apparaît lors de l'analyse de l'image :



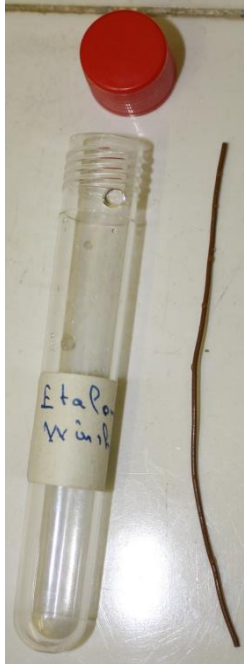
Ouvrir un fichier existant pour enregistrer les données où seront sauvegardées les données analysées.

Créer un nouveau fichier d'enregistrement de données où seront sauvegardées les données analysées.

Ne pas sauvegarder les données RUFFE analysées par le logiciel.

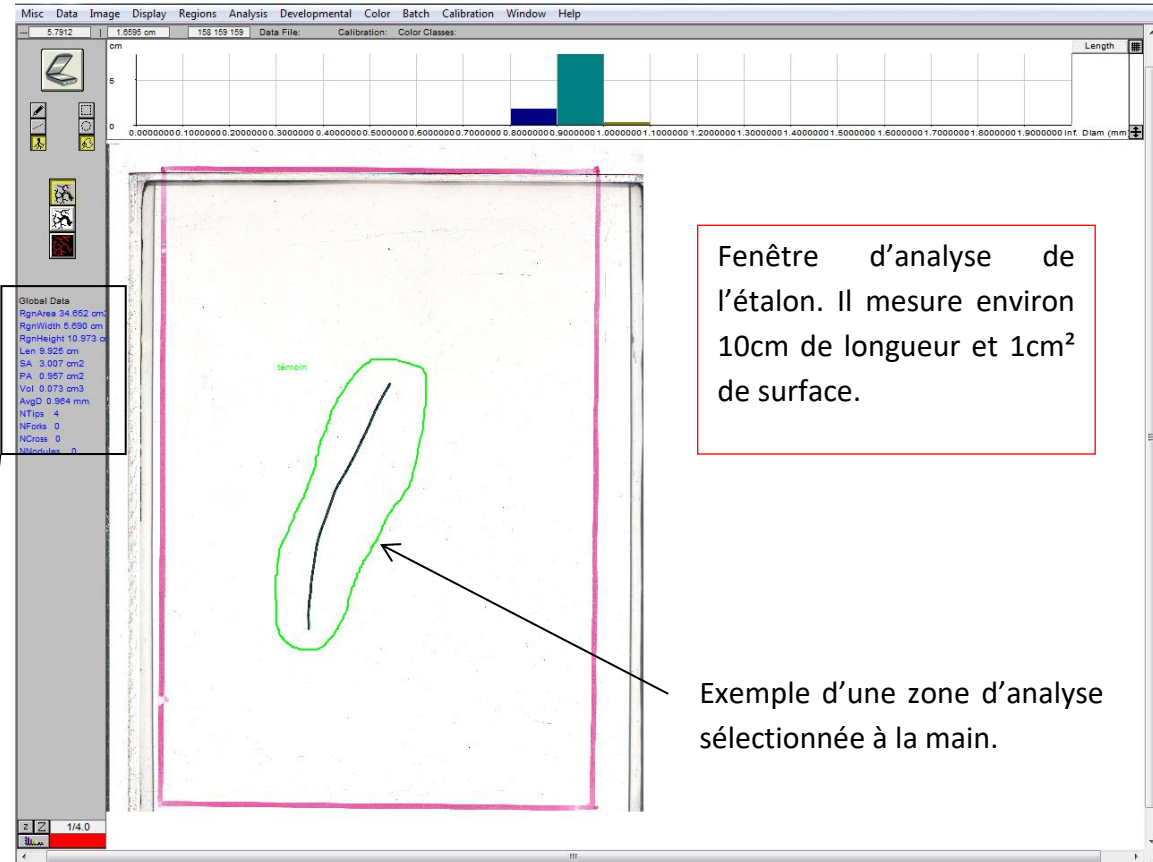
II – Etalonnage du scanner et de l'analyse avec l'étalon

Afin de vérifier que les valeurs d'analyse par le logiciel sont correctes, il est nécessaire de passer un étalon à chaque début d'utilisation du logiciel (comme lors de l'utilisation des balances avec des masses de travail). Cet étalon possède une longueur et une surface connue. Nous vérifions ainsi par son scan et son analyse par le logiciel que les variables mesurées ici sont équivalentes aux valeurs connues de l'étalon.



Etalon (à gauche) avec son récipient de rangement.

Vérification de la correspondance entre les variables mesurées et les valeurs connues de l'étalon (Cf. glossaire page 39).



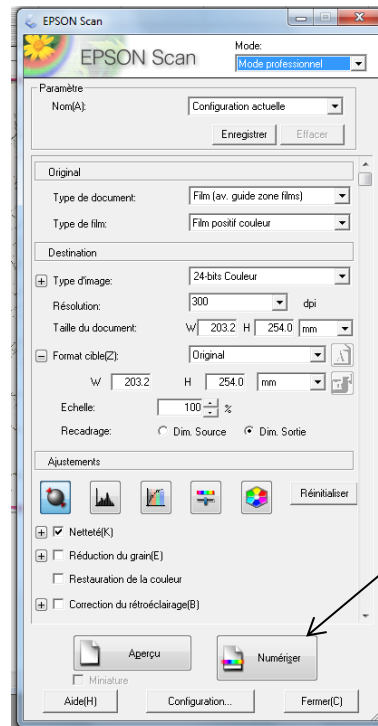
III – Acquisition d’une image

Cliquer sur le bouton

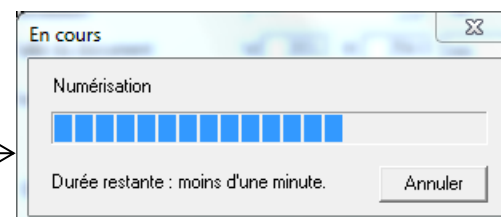


ou sur « Acquiere image... » pour lancer le scan d’une image. Deux cas de figure sont possibles :

- Les paramètres de scan sont définis avec le logiciel WinRHIZO (cf page 14), le scanner lance automatiquement la numérisation de l’image.
- Les paramètres de scan sont définis par le scanner la fenêtre suivante s’affiche :



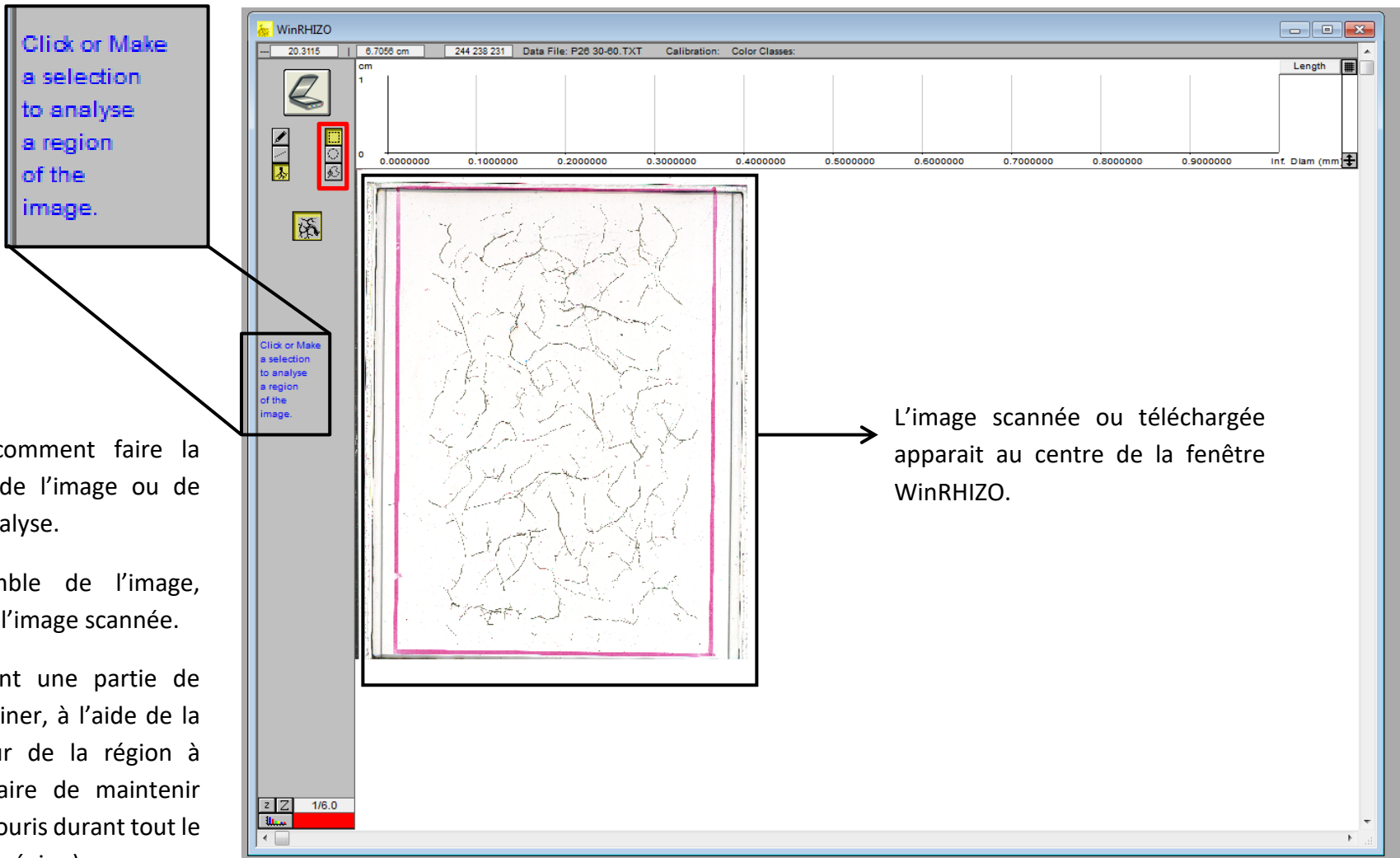
Sélectionner les paramètres souhaités (les paramètres enregistrés restent les mêmes d’un scan à l’autre). Puis cliquer sur « Numériser ».



RUFFE Lysiane – UMR AGIR – Mai 2017

IV – Analyse de l'image

Une fois la numérisation terminée (ou le téléchargement de l'image réalisé), l'image apparaît sur la fenêtre de WinRHIZO :



Ce message indique comment faire la sélection d'une partie de l'image ou de l'image entière pour l'analyse.

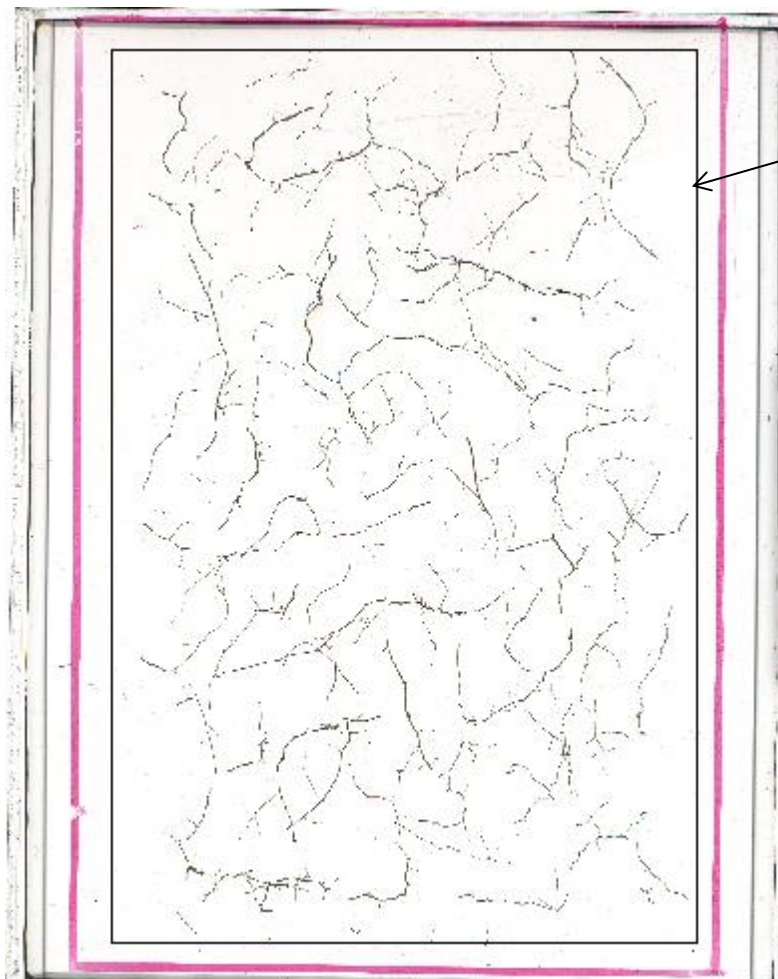
Pour analyser l'ensemble de l'image, cliquer n'importe où sur l'image scannée.


Pour analyser seulement une partie de l'image numérisée, dessiner, à l'aide de la souris, un cadre autour de la région à analyser (il est nécessaire de maintenir appuyé le bouton de la souris durant tout le temps de sélection de la région).

Utiliser le bouton suivant pour choisir la forme de la région à sélectionner (Cf. page 18).



RUFFE Lysiane – UMR AGIR – Mai 2017

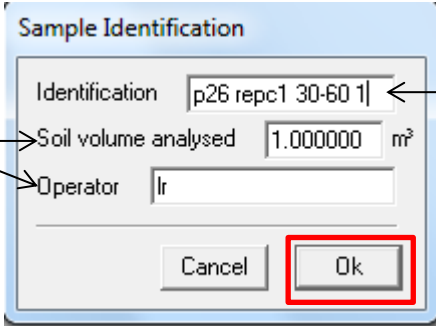


Le cadre noir correspond à la zone sélectionnée pour l'analyse. La sélection forme « rectangle » a été utilisée dans ce cas (bouton ).



Lorsque la sélection est réalisée, une fenêtre d'enregistrement des données pour la région analysée s'affiche :

Indiquer le volume de sol analysé et le nom de l'opérateur effectuant les analyses.

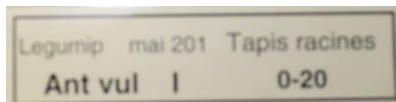


Nom de la région analysée. Ce nom apparaîtra dans le fichier « .TXT » d'enregistrement des données défini dans l'étape I (Cf. page 30).

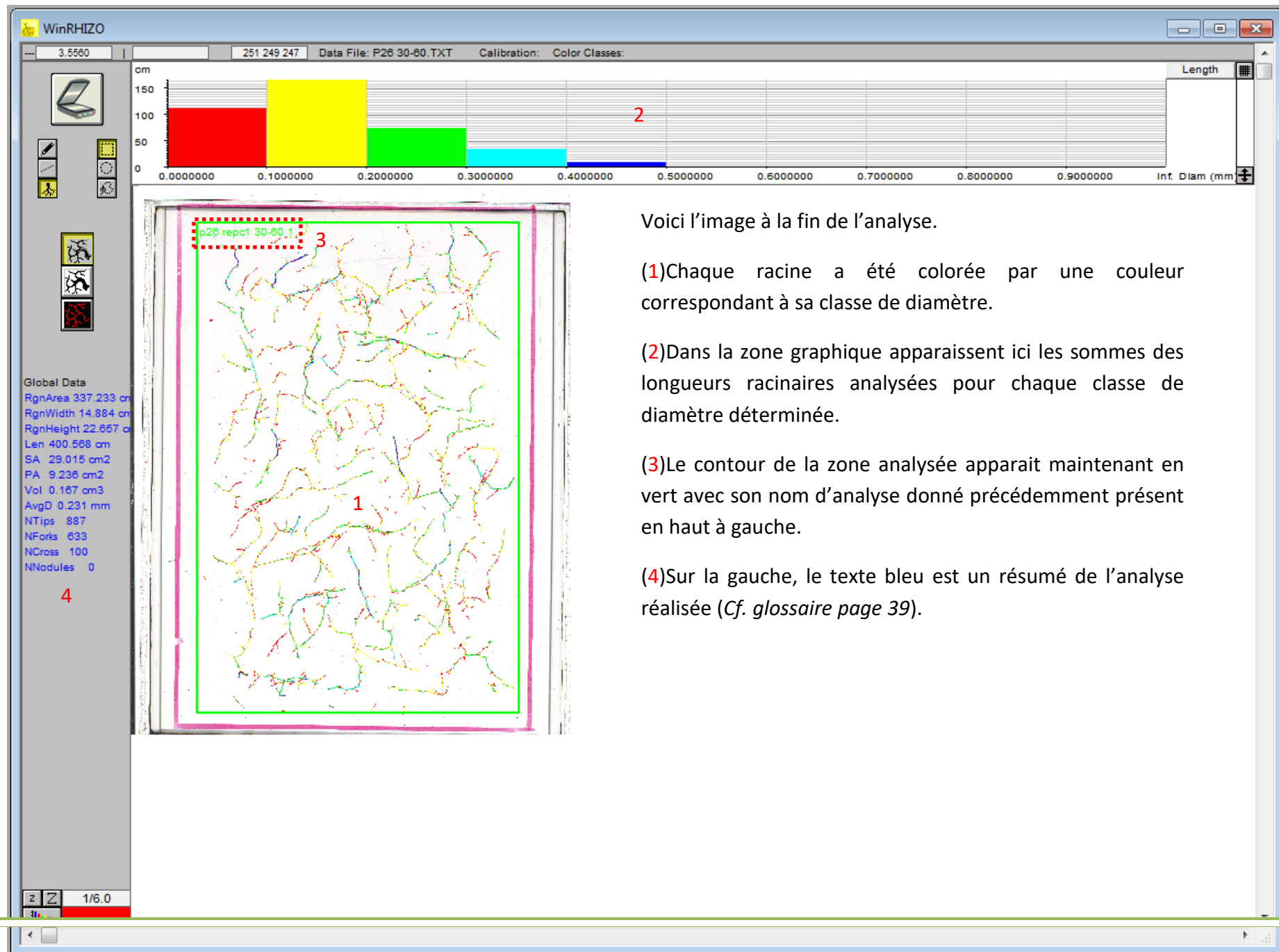
Puis cliquer sur « Ok » pour commencer l'analyse.



Bien nommer la région analysée avec un **nom explicite et non ambigu** pour un meilleur traitement des données et ne pas mélanger les données. Le plus simple est de nommer l'analyse comme le nom de l'échantillon (inscrit sur l'étiquette d'identification). Exemple : si le nom de l'échantillon est « Ant vul I 0-20 » (pour *Anthyllis vulneraria* répétition 1 dans l'horizon 0-20) nous nommerons l'analyse par le même nom : « Ant vul I 0-20 ». Si plusieurs analyses sont réalisées sur le même échantillon, il est conseillé de rajouter un indicateur pour chaque analyse ; par exemple, « Ant vul I 0-20 a » puis « Ant vul I 0-20 b », etc...



Exemple d'étiquette d'identification de d'un échantillon



Voici l'image à la fin de l'analyse.


(1) Chaque racine a été colorée par une couleur correspondant à sa classe de diamètre.

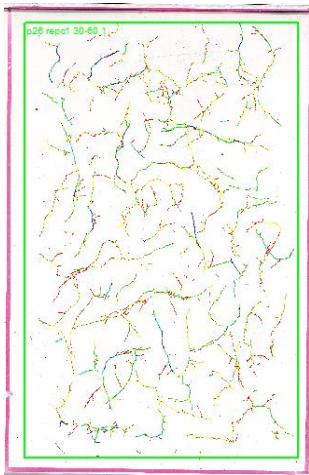
(2) Dans la zone graphique apparaissent ici les sommes des longueurs racinaires analysées pour chaque classe de diamètre déterminée.

(3) Le contour de la zone analysée apparaît maintenant en vert avec son nom d'analyse donné précédemment présent en haut à gauche.

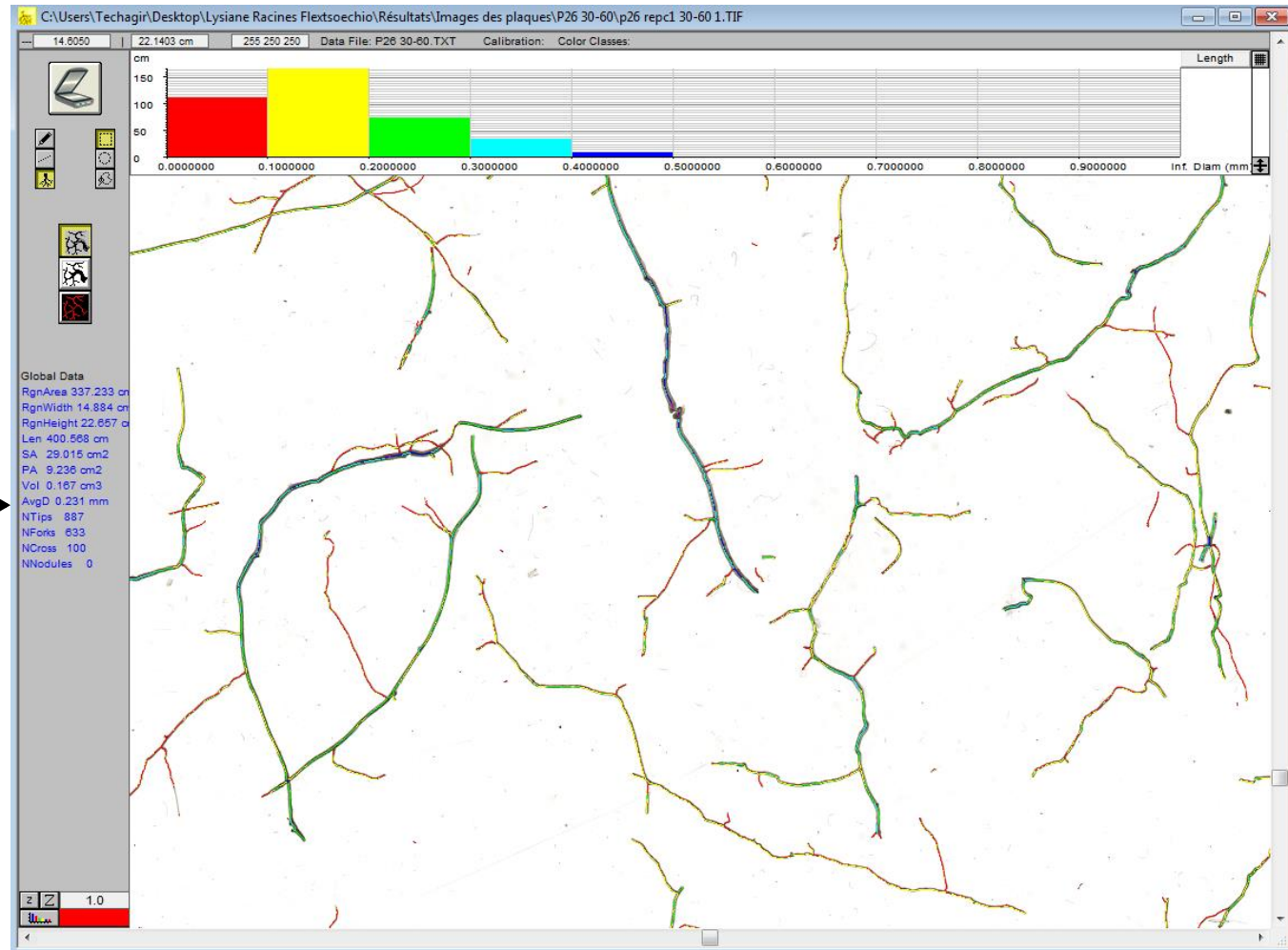
(4) Sur la gauche, le texte bleu est un résumé de l'analyse réalisée (Cf. *glossaire page 39*).



Il est nécessaire de vérifier si le logiciel analyse bien toutes les racines et uniquement les racines de la zone sélectionnée. En effet, il arrive parfois que le logiciel ne détecte pas toutes les racines, lorsque celles-ci sont trop fines ou transparentes. A l'inverse, il arrive parfois que le logiciel prenne un artefact pour une racine, comme une rayure sur la plaque ou une poussière. Dans les deux cas, cela fausserait le résultat. Pour le vérifier, zoomer avec le bouton  et regarder à plusieurs endroits si l'analyse est correcte.



Zone avant le zoom



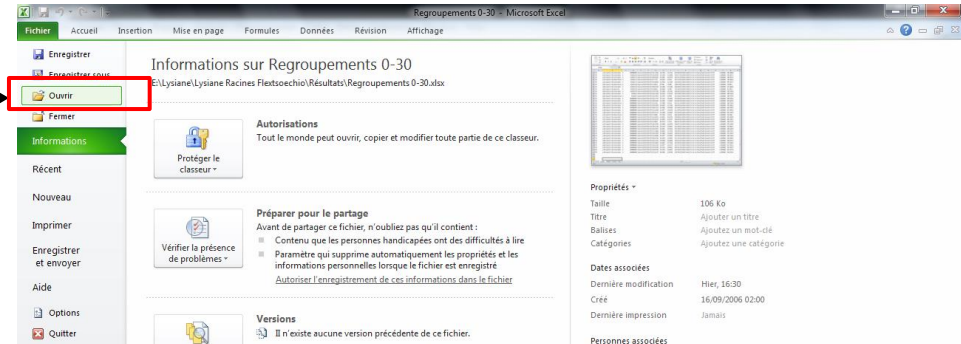
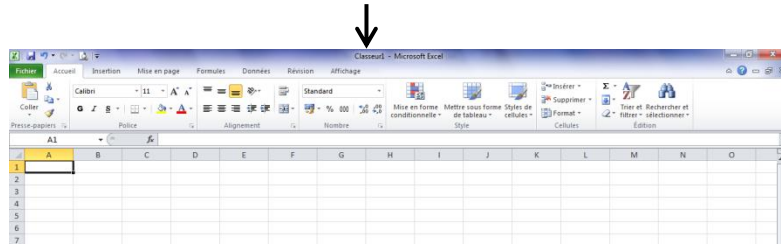
Zone après le zoom

On remarque bien ici que chaque racine a bien été détectée par le logiciel car chacune est colorée.

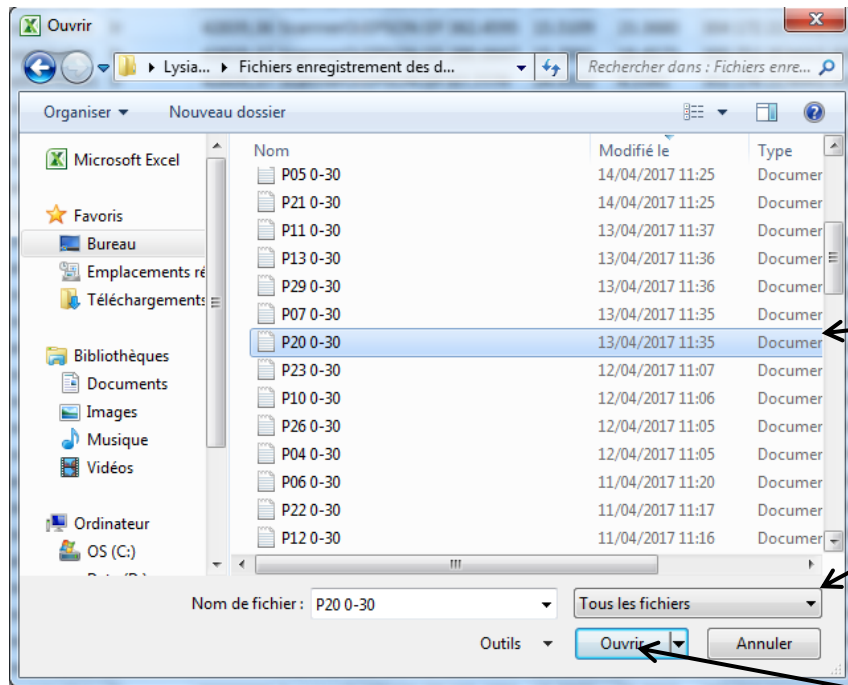
e) Exportation des données des analyses et enregistrement de l'image numérisée

I – Exportation des données des analyses avec Excel

Il est possible d'ouvrir les données analysées dans un tableau Excel. Pour cela, ouvrir un document Excel.



Puis aller dans l'onglet « Fichier » puis « Ouvrir » afin d'ouvrir le document « .TXT » où les données ont été enregistrées.



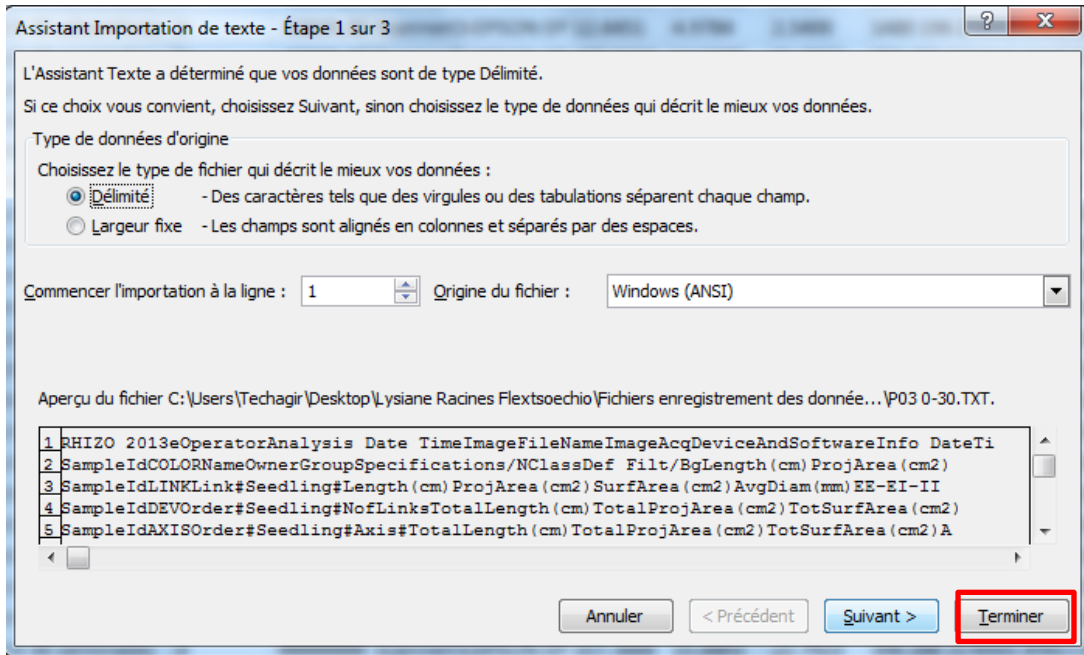
Sélectionner le fichier souhaité.



Afficher « Tous les fichiers » car les fichiers d'enregistrement des données sont disponibles en format « .TXT ». Il ne s'agit pas de fichiers Excel.

Puis cliquer sur « Ouvrir »

Lors de l'importation des données, cette fenêtre s'ouvre :

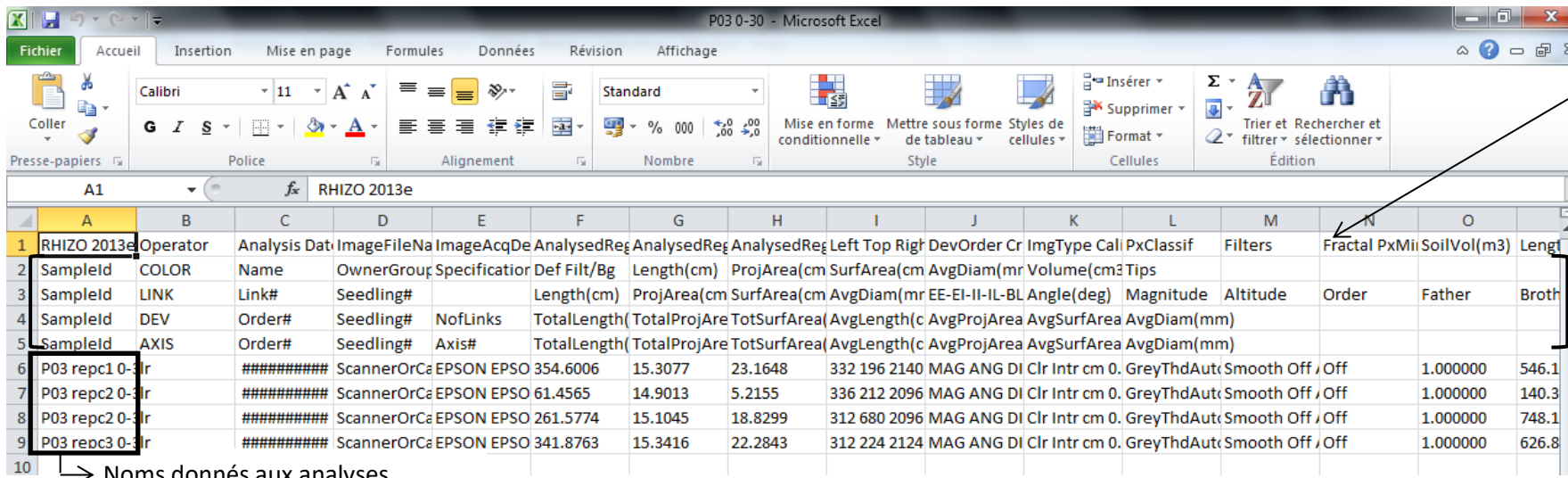


Comme les données sont enregistrées dans un fichier texte, Excel doit les transformer avant de les afficher. Les trois étapes de l' « Assistant Importation de texte » permettent de choisir divers paramètres de présentation des données comme par exemple le type de séparateur de champs, la forme des données, etc. Il est possible, mais pas nécessaire, de personnaliser l'affichage des données avant la fin de l'importation.

Cliquer sur « Terminer » pour finaliser l'importation des données dans Excel.

Remarque : pour faciliter l'exploitation des données, il est conseillé de remplacer les « . » par des « , » dans toute la feuille Excel.

Voici un exemple de données chargées sur Excel :



La première ligne correspond aux noms des mesures réalisées par WinRHIZO

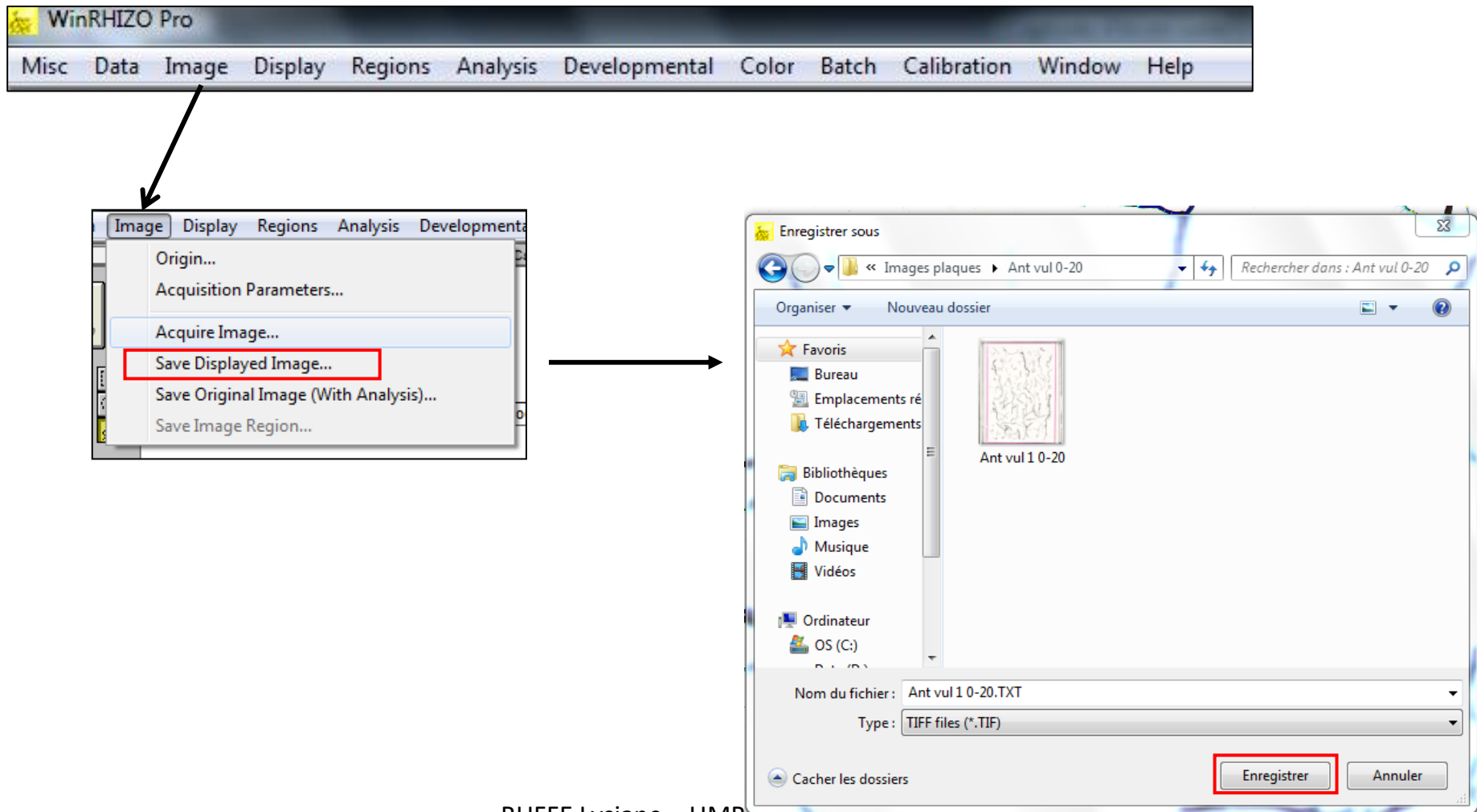
Lignes non utiles pour l'analyse des données.

→ Noms donnés aux analyses.

II – Enregistrement de l'image numérisée

Lorsqu'une image a été numérisée par le scanner, il est possible de la sauvegarder dans un fichier sur l'ordinateur. Cela peut être utile pour vérifier une analyse ou pour se souvenir de la disposition des racines sur la plaque.

Pour sauvegarder l'image numérisée, aller dans l'onglet « Image » du ruban principal puis cliquer sur « Save Displayed Image... ». Enregistrer ensuite l'image dans le dossier souhaité.



f) Manipulation des racines

La manipulation et la préparation des racines pour être scannées sont des étapes très importantes. En effet, leur disposition sur la plaque est primordiale pour une bonne analyse de l'image scannée par le logiciel. Dans cette partie seront détaillées les étapes de préparation des racines sur la plaque mais également de rangement des racines, une fois celles-ci scannées.

Matériel nécessaire et objectif

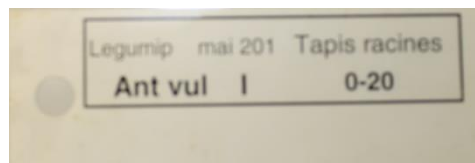
Pour pouvoir scanner des racines, celles-ci doivent être disposées sur une plaque transparente en plastique remplie d'eau. L'eau permet aux racines d'être bien étalées pour que, lors de la numérisation, chaque embranchement de racine puisse être analysé (c'est-à-dire que les racines ne restent pas collées entre elles ou ne se superposent, ce qui diminuerait la qualité de l'analyse).

Le matériel nécessaire à la préparation des plaques de racines :

- Plaques en plastique pour le scan
- Bac en plastique pour le démêlage
- Pincettes
- Eau désionisée
- Passoire
- Bac de récupération d'eau
- Papier absorbant
- Becher



Durant toute la manipulation des racines, l'étiquette d'identification doit suivre l'échantillon ! Cela permet d'assurer la traçabilité et d'éviter des erreurs lors de l'analyse et le rangement des racines.



Exemple d'étiquette d'identification

RUFF

I – Démêlage des racines

La première étape, avant la disposition des racines sur la plaque, est le démêlage de celles-ci. Démêlage car les racines, conservées au congélateur, sont souvent en paquets et emmêlées. Or, il est nécessaire de scanner chaque racine individuellement.

Pour cela, dans un bac en plastique, disposer les racines de la poche et écarter délicatement les racines les unes des autres.



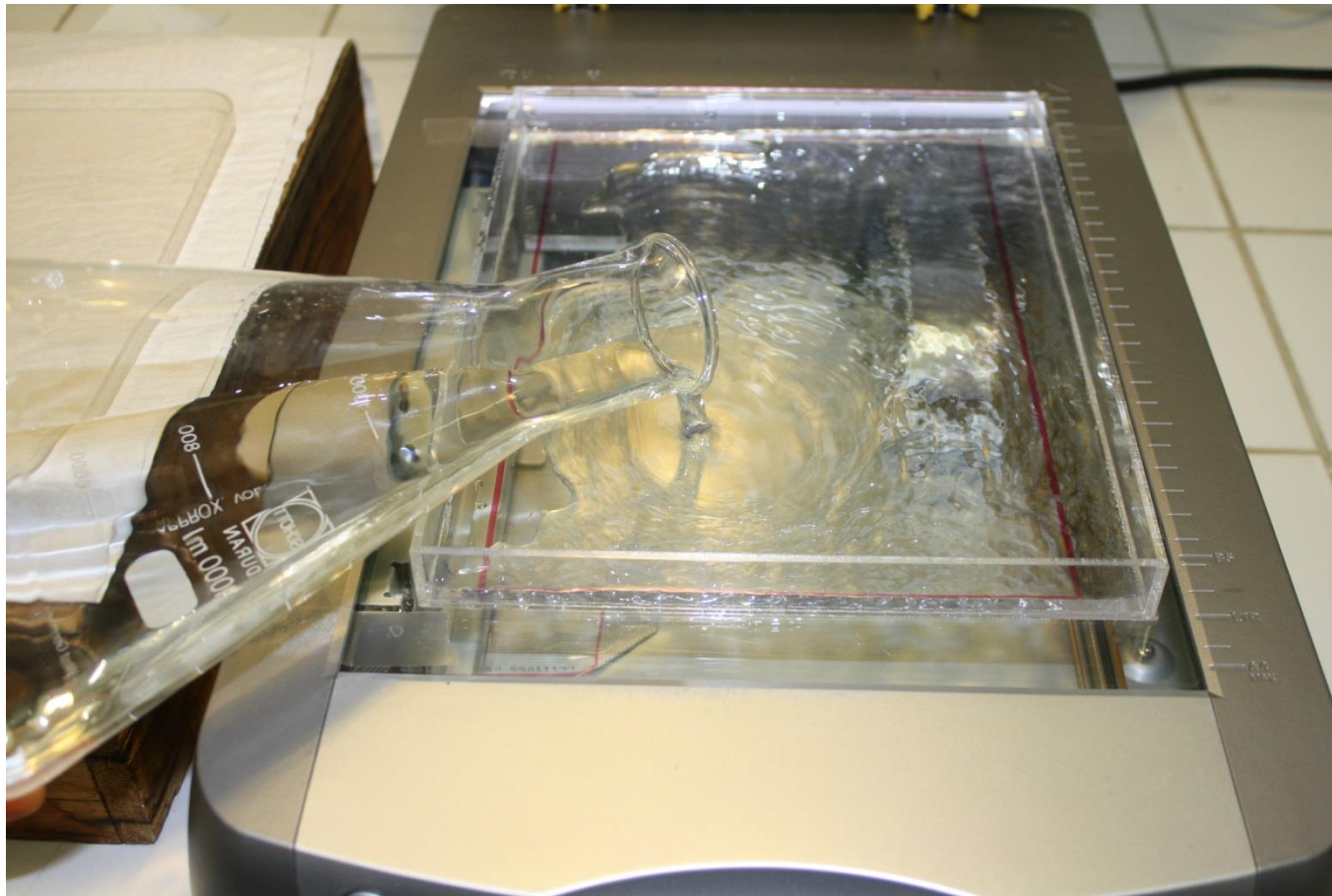
Etiquette
d'identification
qui suit
l'échantillon à
chaque étape.

Bac de
démêlage
des racines.

RUFFE Lysiane – UMR AGIR – Mai 2017

II – Disposition des racines sur la plaque

Remplir la plaque de scan (c'est-à-dire la plaque en plastique transparente) d'eau désionisée à l'aide d'un becher. Attention de ne pas renverser d'eau sur le côté car la plaque de scan est déposée directement sur le scanner. En effet, lorsque la plaque est remplie de racines, il est très difficile de la transporter sans que les racines ne se mélangent (car elle est remplie d'eau). Pour éviter un second démêlage, disposer directement la plaque de scan sur le scanner.



Déposer une par une les racines démêlées précédemment sur la plaque en plastique transparente à l'aide de la pince. **Elles doivent être bien étalées individuellement et éviter au maximum de se chevaucher.** De même, veiller à **ne pas trop surcharger la plaque** de racines pour une meilleure analyse.



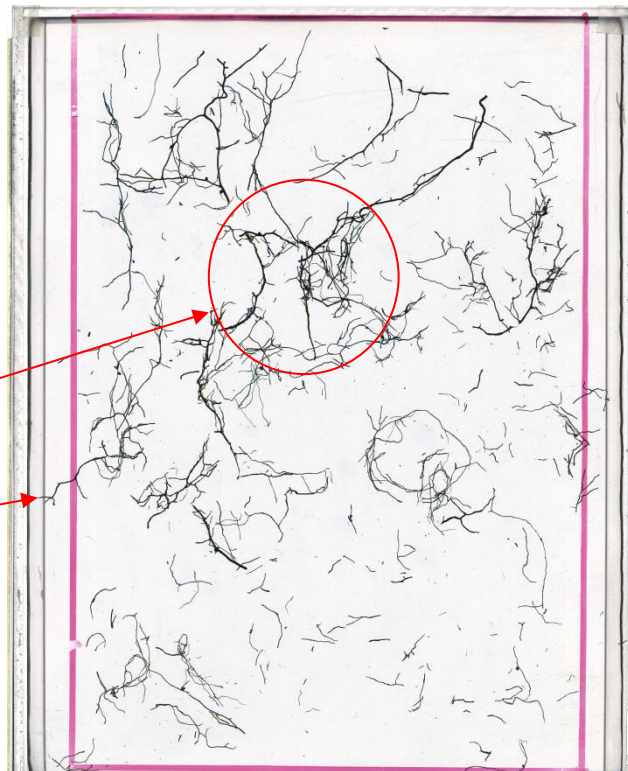
Lorsque les racines sont déposées sur la plaque, faire attention de ne pas rayer celle-ci avec la pince. Les rayures peuvent être détectées lors de l'analyse de l'image scannée par le logiciel et fausser les résultats.

Remarque : pour déterminer si une plaque est trop chargée en racines, après l'analyse, calculer $Leng/rgnArea$ (la longueur de racines scannées par centimètre d'analyse). Si la valeur est supérieure à $5mm.cm^2$ alors la plaque est trop chargée.

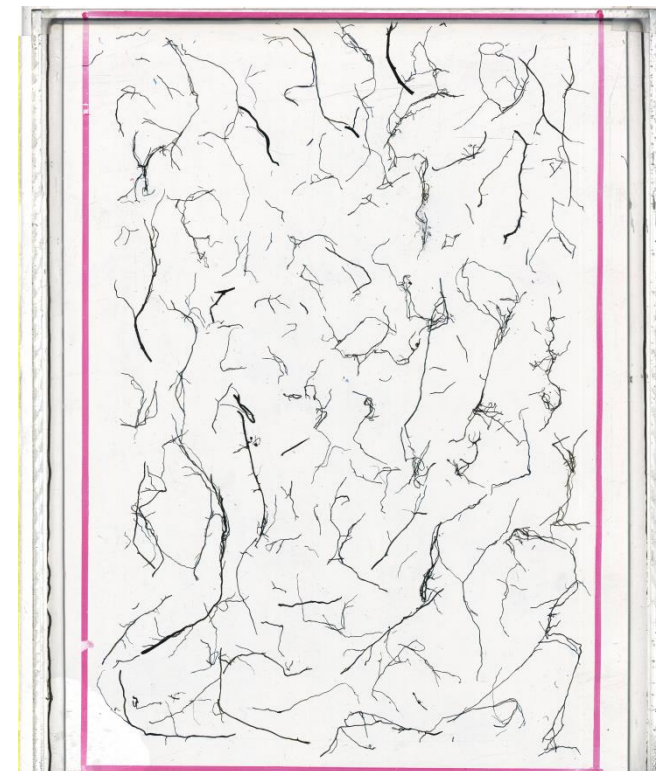
Exemple de mauvaise plaque :

Les racines se chevauchent.

Les racines sortent du cadre.

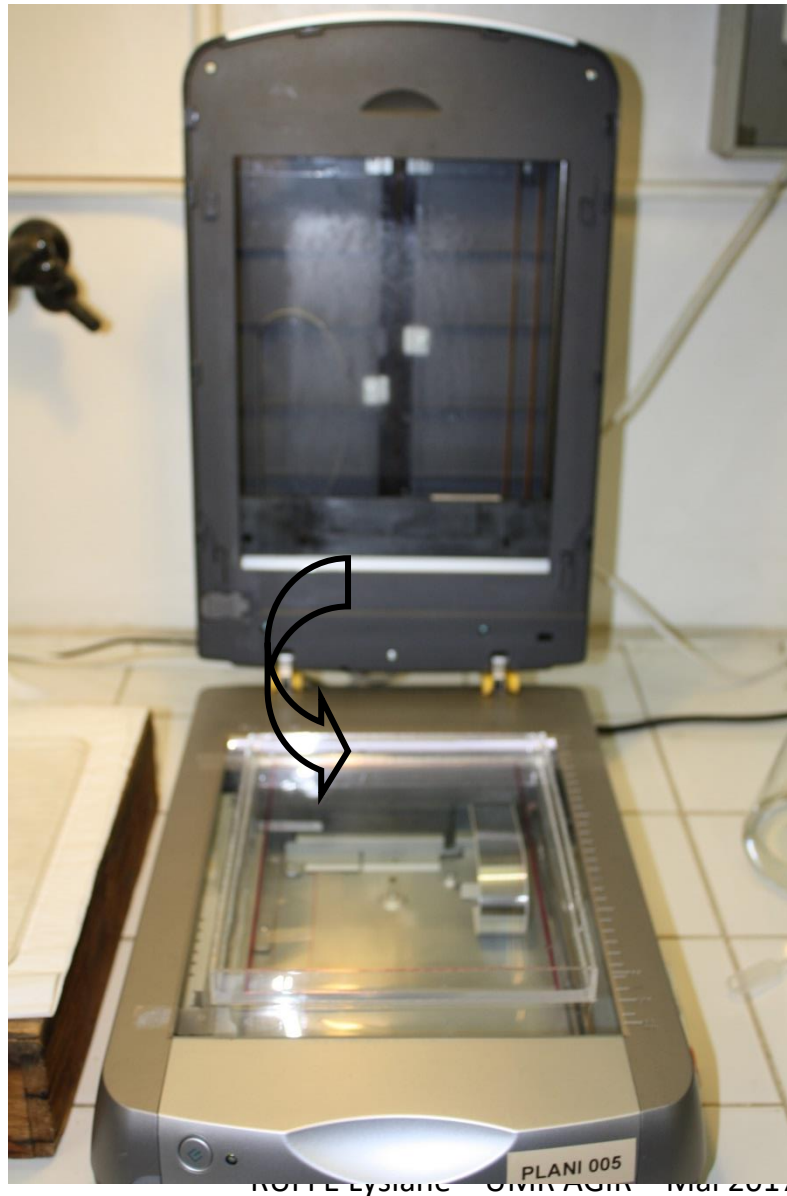


Exemple de bonne plaque :



III – Numérisation de la plaque

Lorsque la plaque est remplie, fermer le haut du scanner et lancer la numérisation (*Cf. page 25*).



IV – Rangement des racines

A la fin de la numérisation, ouvrir le scanner, prendre la plaque de scan et vider son contenu à travers la passoire :



Verser les racines dans la passoire. Bien disposer un bac de récupération d'eau sous la passoire.

Utiliser une pince pour attraper chaque racine.

Puis récupérer chaque racine et les remettre dans la poche de rangement avec l'étiquette d'identification !

Remarque : il est nécessaire de récupérer toutes les racines car les racines scannées seront ensuite pesées pour le calcul des traits racinaires. S'il manque une partie de la biomasse scannée, le résultat ne sera pas juste lors du calcul des traits.

3. GLOSSAIRE

Global Data
RgnArea 337.233 cm
RgnWidth 14.884 cm
RgnHeight 22.657 cm
Len 400.568 cm
SA 29.015 cm²
PA 9.236 cm²
Vol 0.167 cm³
AvgD 0.231 mm
NTips 887
NForks 633
NCross 100
NNodules 0



Abréviation	Signification des mesures
RgnArea	Aire de la région analysée (cm ²)
RgnWidth	Largeur de la région analysée (cm)
RgnHeight	Hauteur de la région analysée (cm)
Len	Longueur totale de racines (cm)
SA	Surface totale (cm ²)
PA	Surface totale projetée (cm ²)
Vol	Volume total (cm ³)
AvgD	Diamètre moyen racinaire (mm)
Ntips	Nombre d'extrémités
NForks	Nombres de fourches/bifurcations de racines
NCross	Nombre de croisements
NNodules	Nombre de nodules

Remarque : le logiciel WinRHIZO détermine l'ensemble des mesures grâce à deux mesures principales : la longueur (ou Length) et le diamètre moyen (AvgD). Pour mieux comprendre les calculs réalisés par le logiciel pour déterminer les mesures voici une explication rapide des calculs :

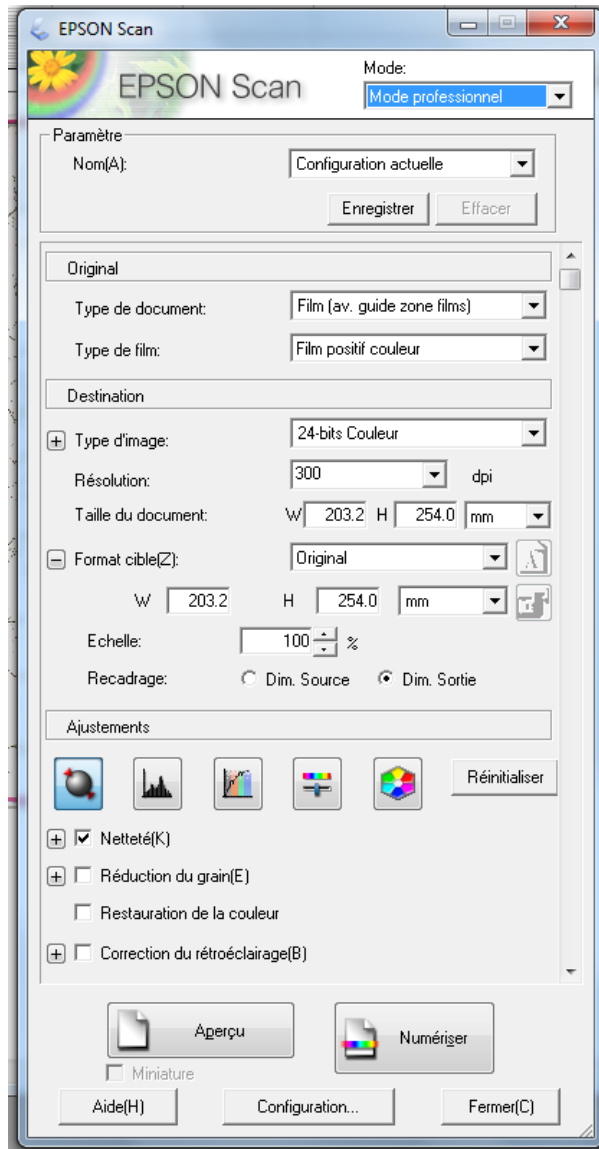
PA = Len x AvgD ⇔ Surface totale projetée = longueur x diamètre moyen racinaire

SA = PA x 3,14 ⇔ Surface totale = surface totale projetée x 3.14

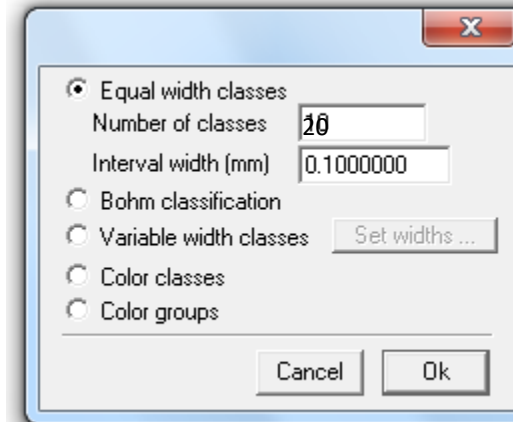
4. ANNEXE : Paramètres utilisés lors du scan et de l'analyse de racines de blé dur

Dans cette partie sont présentés les paramètres utilisés lorsque nous avons scanné et analysé des racines de blé dur.

I - Paramètres du scanner



II - Classes de diamètres



III – Paramètres d'analyse de WinRHIZO

The image displays the WinRHIZO software interface, specifically the **Analysis** menu and four associated configuration dialog boxes. Arrows indicate the flow from the menu items to their respective dialog boxes.

- Analysis Menu:** Located at the top, it includes options: **Cancel Analysis**, **Preferences...**, **Measurements...**, **Root & Background Distinction...**, and **Debris & Rough Edges Filters...**.
- Debris & Rough Edges Removal:** A dialog box with a red close button. It contains:
 - Rough edges and noise removal (Low)
 - Treat as Debris and remove objects which have:
 - an Area smaller than 1.0000 cm²
 - and
 - a Length/Width ratio smaller than 4.00
 - Buttons: **Cancel**, **Ok**
- Analysis Preferences:** A dialog box with a red close button. It contains:
 - Speed, Memory & Feedbacks: Slowest MoreMemory MaxFeedback: [dropdown]
 - When opening an analysed image: Load analysis & settings [dropdown]
 - Load display settings
 - Circular regions Initial diameter: Same as last created [dropdown] 9.0000 cm
 - Ask to save images after acquisition
 - Buttons: **Cancel**, **OK**
- Root & Background Distinction:** A dialog box with a red close button. It contains:
 - Based on color (with a small image icon)
 - Based on grey levels (with a small image icon)
 - Automatic
 - Lagarde Region size: 64 px
 - Manual
 - Value: 186 0-65535
 - Dark root on White background (with a tree icon)
 - Pale root on Black background (with a tree icon)
 - Channel: Grey Red Green Blue
 - Scale: Log
 - Fits in: 16 bits
 - Buttons: **Cancel**, **Ok**
- Measurements:** A dialog box with a red close button. It contains:
 - Overlapping (1 object) (with a root image icon)
 - Distinct Objects (with a plant image icon)
 - Diameter Interpolation
 - Root morphology Precision: Standard [fast] [dropdown]
 - Crossings detection: Normal [dropdown]
 - Link analysis [Link Settings]
 - Fractals [Fractals Settings]
 - "Color Analysis" is set in "Analysis/Root & Background Differentiation"
 - More precise Root Length per Color [& Color per Diameter Class]
 - Buttons: **Cancel**, **Ok**

Pour plus de détails et d'explications, se référer au **guide d'utilisation de WinRHIZO**.

Référence : WinRHIZO 2013. Basic, Reg, Pro & Arabidopsis For Root Measurement. Auteur : Régent instruments Canada inc. Disponible sur : www.regeninstruments.com. Support technique : techsup@regentinstruments.com

