



➤ Capturer et identifier les spores ?

Avancées des projets Bioc@pt et ECART

Financement par Méta-Programme BIOSEFAIR

EFNO : Marion GOSSELIN, Yann DUMAS, Kevin DARRAS

USC ECODIV : Lucie VINCENOT

PAO : Benoît LUWEZ

TSCF : Bernard BENET

➤ Suivi des Bryophytes et Champignons en forêt

- Taxons à part élevée d'espèces forestières
- Sensibles à la gestion
(dossier GNB, Rendez-vous techniques de l'ONF n°56, 2017)
- Relevés et identification chronophages
- Faible détectabilité de certaines espèces



Piéger les diaspores (particules aéroportées) ?

→ Pas toutes les espèces, mais....

→ Suivi d'abondance des espèces communes ?

→ Etude de dispersion d'espèces cibles, par rapport à des habitats sources (e.g. Réserves intégrales, forêts anciennes) ?

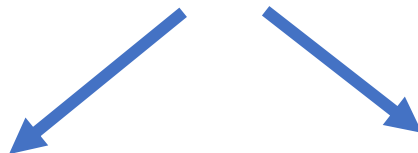
→ Etude des distances de dispersion selon les voies (sous-bois vs. supra-canopée si courants ascendants)



Peut-on identifier les espèces à partir des diaspores ?

➤ Deux voies testées dans Bioc@pt

Récolte d'échantillons en forêt (sous-bois)
Aspirateur de particules aéroportées



A/ test d'identification par
reconnaissance visuelle autonome
(IA, machine learning)



Résultats décevants
(cf. diapo suivante)

B/ test d'identification par ADNe
(métabarcoding)



Résultats différés

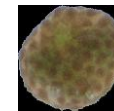
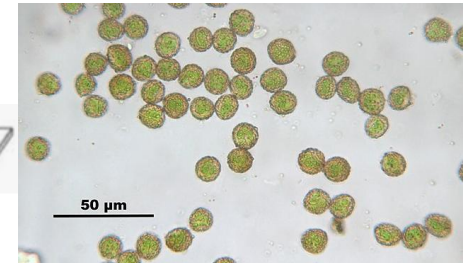


Cyclone sampler
(Burkard Manufacturing Co Ltd)
Projet Lifeplan

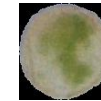
➤ Test d'identification par reconnaissance visuelle

Base d'apprentissage :

- Récolte d'espèces fructifiées, recherche dans les herbiers
- Photographies de spores (x 500, x1000)
(1 photo = plusieurs spores de la même espèce)
- **Segmentation** automatique (1 spore par imagerie annotée)
- Algorithme d'apprentissage (réseau de neurones)



Fruldila



Hypncupr



Orthanom



Fisstaxi



	Bryophytes	Champignons
Spores	54 esp.	3 esp.
Propagules	6 esp.	
Elatères	1 esp.	



Puis Algorithme d'apprentissage (réseau de neurones)

➔ Résultats décevants

➤ Résultats apprentissage Bioc@pt

	Grossissement x 1000	
%	Training	Validation
Sensibilité (Recall) moy	68 +/- 23 😞	62 +/- 27 😞
Précision moy	72 +/- 20 😞	68 +/- 19 😞
Score F1 moy	68 +/- 21 😞	60 +/- 21 😞

Nb prévisions correctes/Nb de cas positifs :
= Si espèce présente, elle est bien nommée

Nb prévisions correctes/Nb de prévisions positives
= Part des individus attribués à bon escient à l'esp.

Moyenne harm. de précision et recall

Précision élevée

ET sensibilité faible **pour des espèces très communes**

HypnCupr



=

Quand le réseau l'annonce, c'est bien elle. Mais la plupart du temps, elle est là et le réseau lui donne un mauvais nom 😞

Et confusions fréquentes entre espèces dont les spores ne se ressemblent pas.

➤ Déception mais rebond

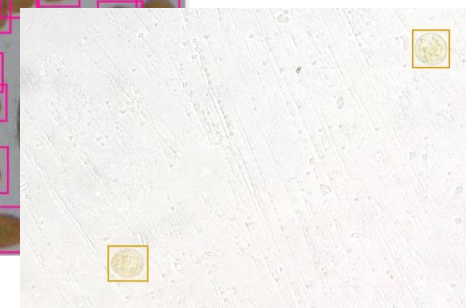
... sur de nouvelles méthodes plus prometteuses

Identification automatique :

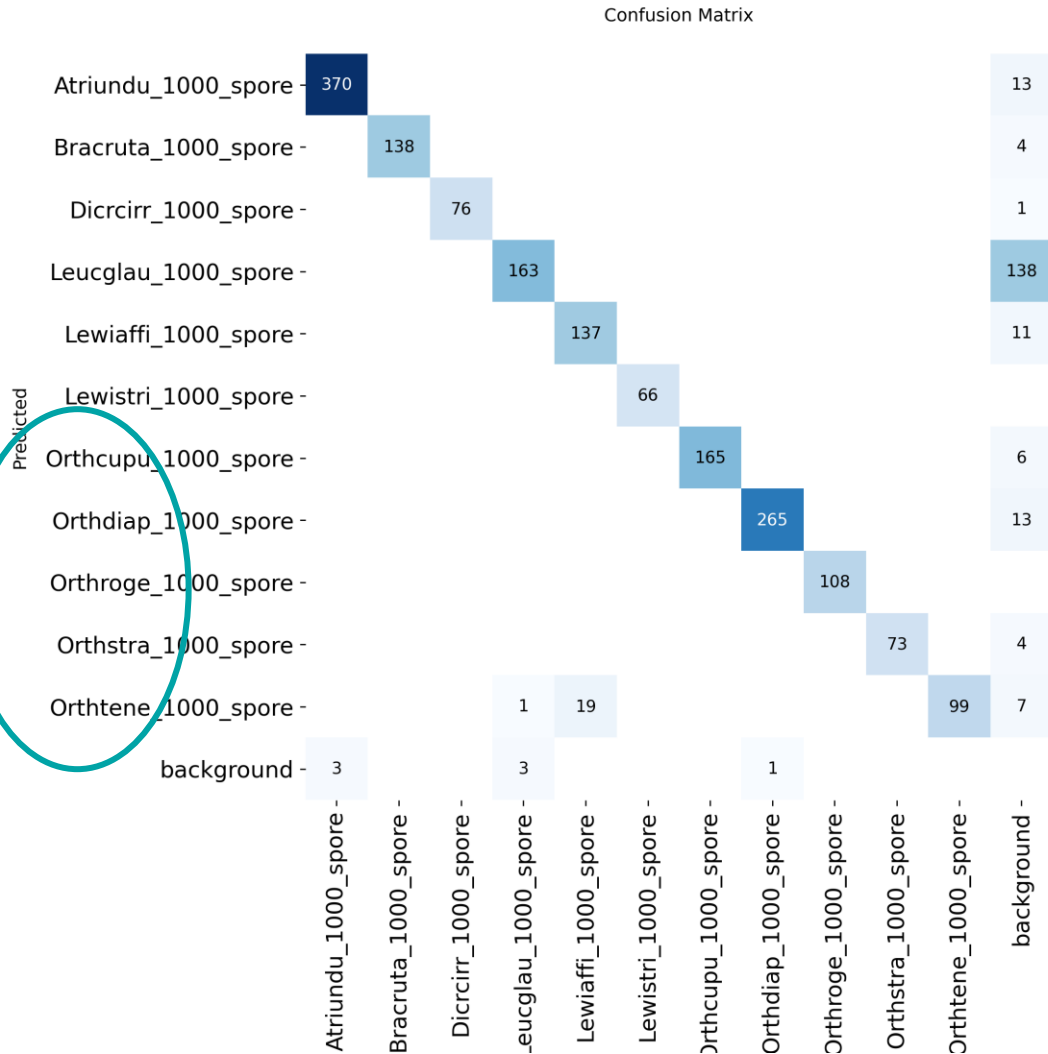
- Limite 1 = taille des spores mal prise en compte (2 catégories seulement)
- Limite 2 : segmentation automatique → pas assez d'images exploitables ; nombre inégal d'images par classes d'apprentissage
- Limite 2 = matrice de confusion mauvaise (test sur deux mélanges de composition connue, de 2 espèces)

→ Passage à une méthode de **détection objet (Yolo)**

~~Détourage automatique~~
Annoter les photographies



➤ Des résultats encourageants



Recall Précis° F1

96	99	98
97	100	98
98	100	99
54	97	69
92	87	90
100	100	100
96	100	98
95	99	97
100	100	100
94	100	97
93	100	96

Y compris au sein d'un même genre (avec des spores visuellement proches)

➤ Déception mais rebond

... sur de nouvelles méthodes plus prometteuses

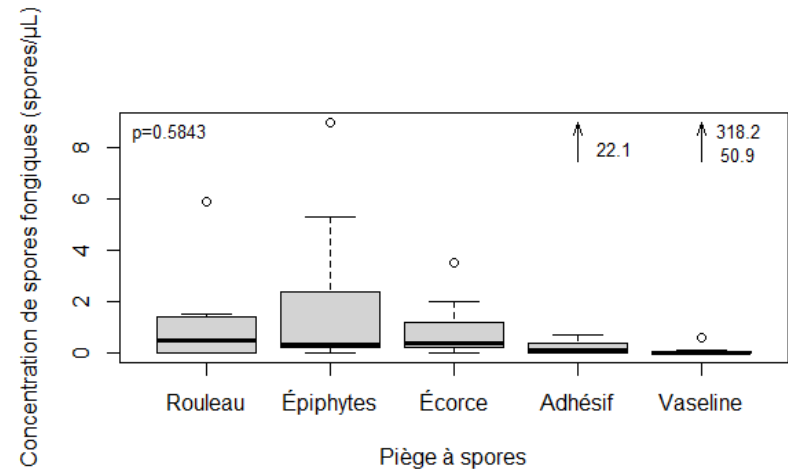
Capture de spores :

- Limite 1 = Cyclone sampler : récolte à sec. Le tourbillon d'aspiration dans les tubes eppendorf fait rentrer et sortir les spores : très peu de matériel biologique capturé
 - Limite 2 = trop peu d'échantillons de validation (mélanges de spores de composition connue)
- Test d'autres capteurs ([projet ECART](#))



➤ Méthodes de capture – 1/ capteurs passifs

Comparaison de l'efficacité de méthodes passives de piégeage de propagules fongiques aéroportées – stage M1 Isabelle Offord

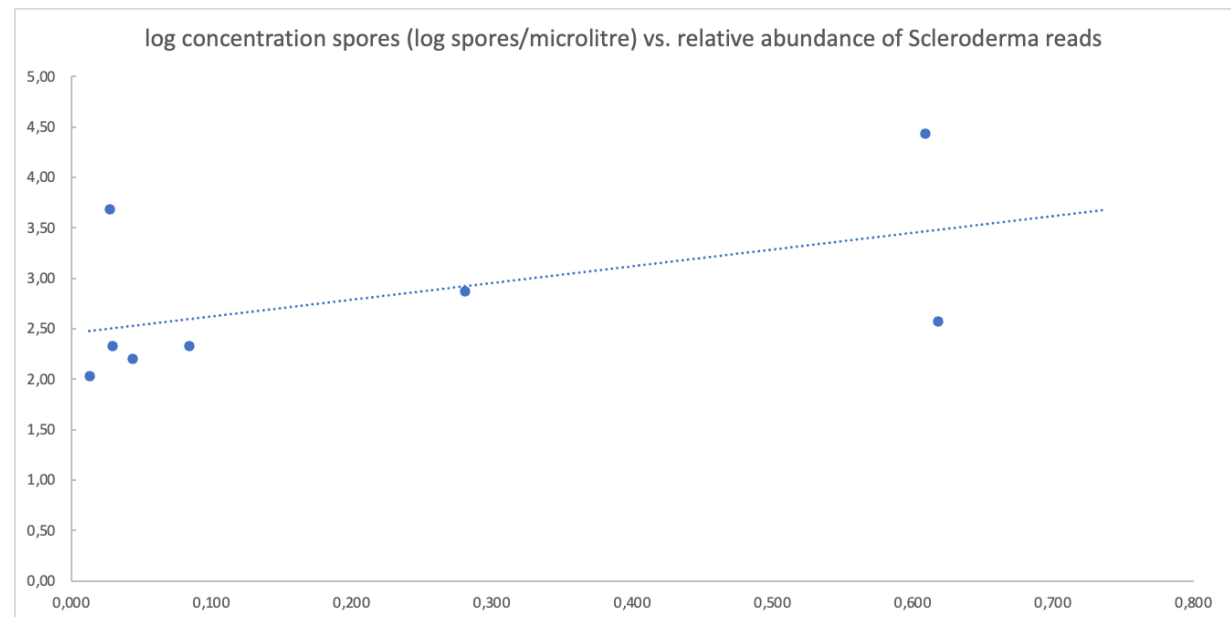


- Comptage de spores au microscope :
 - Pas de différence significative de la concentration de spores selon le type de piège (test Kruskal-Wallis), ni selon la quantité de spores introduites dans le dispositif expérimental
- Même résultat pour la concentration d'ADN total extrait
- En revanche, l'amplification PCR de l'ITS2 fongique dépend du type de piège (test Fisher) et varie selon la quantité de spores introduites
 - Les pièges naturels (mousses épiphytes et écorce) = aussi efficaces que les pièges conventionnels à adhésif et vaseline
 - Le piège à rouleau permet rarement l'amplification d'ITS2 fongique

➤ Méthodes de capture – 1/ capteurs passifs

Comparaison de l'efficacité de méthodes passives de piégeage de propagules fongiques aéroportées – stage M1 Isabelle Offord

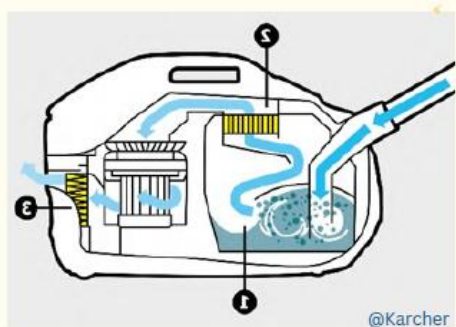
- Après séquençage :
 - On retrouve bien le taxon inoculé (ouf !) : *Scleroderma areolatum*
 - Mais... pas de corrélation entre l'abondance relative de *S. areolatum* dans les séquences et la concentration de ses spores comptées au microscopes
 - Le séquençage à haut débit à partir d'ADNe n'est pas un bon proxy pour la quantité de spores capturées par les pièges passifs dans cette expérimentation



➤ Méthodes de captures – 2/ capteurs actifs



Aspiration puissante (environ 200 m³/heure), capture dans l'eau

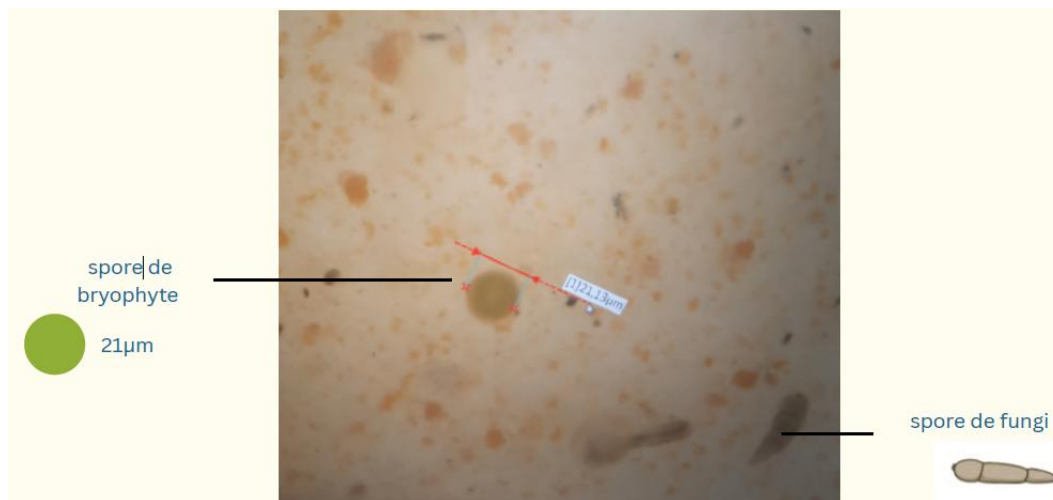


Puis filtration, et photo au microscope **directement sur le filtre**



Bon taux de capture de matériel biologique :

- 8 spores piégées en 2h le 24/02 (0.02 spores /m³)
- 5219 spores piégées en 2h le 10/03



Perspectives :

- adapter l'apprentissage IA à cette technique de capture (photos directes sur filtre)
- captures par sessions de 30 min pour ne pas saturer le filtre