



HAL
open science

Différentiation morphologique et calcul des biovolumes de *Gomphonema gracile* à l'aide du Flowcam®

Jacky Vedrenne, Jade Ezzedine

► **To cite this version:**

Jacky Vedrenne, Jade Ezzedine. Différentiation morphologique et calcul des biovolumes de *Gomphonema gracile* à l'aide du Flowcam®. 34ème colloque de l'ADLaF, Sep 2015, Bordeaux, France. pp.1, 2015. hal-02602565

HAL Id: hal-02602565

<https://hal.inrae.fr/hal-02602565v1>

Submitted on 16 May 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.

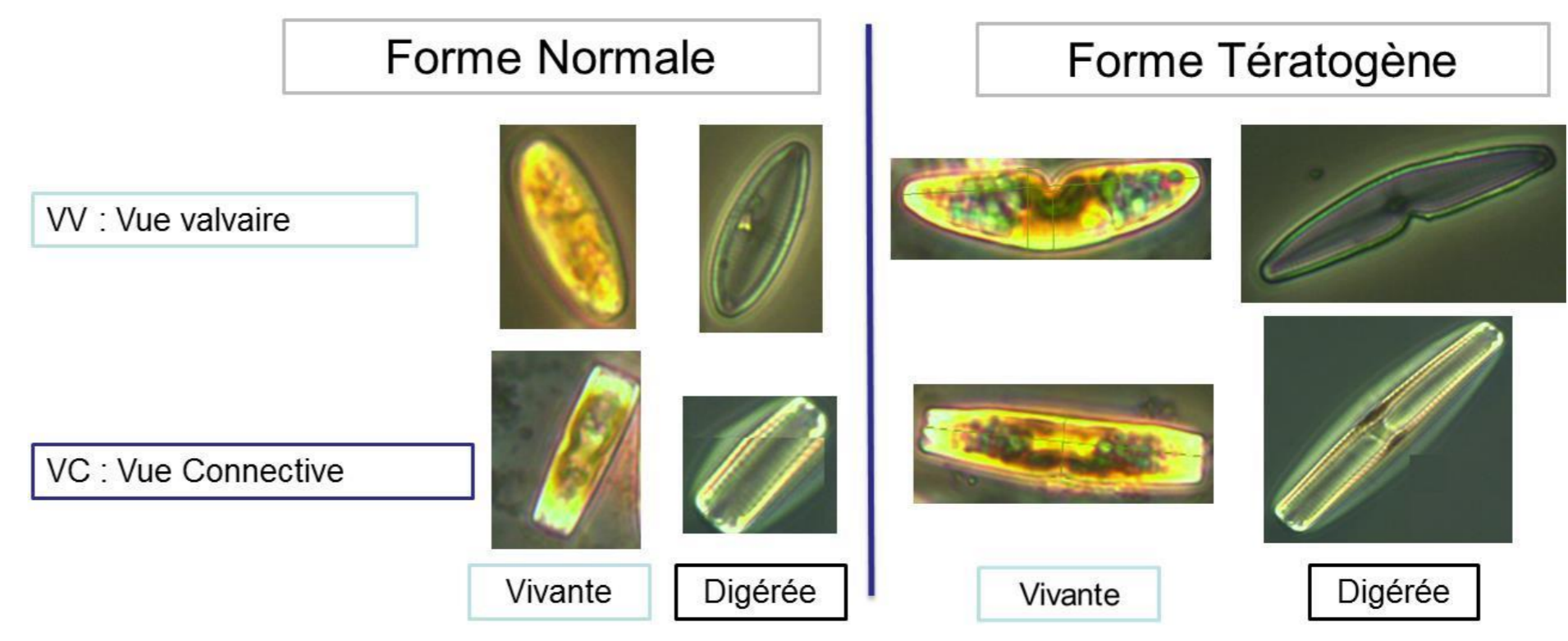
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

VEDRENNE, J, EZZEDINE, J

Les variations de taille (biovolume) et de forme des diatomées peuvent révéler des perturbations de la biocénose. Le Flowcam® (cytomètre couplé à de l'acquisition d'image + classification automatique) a été utilisé afin d'estimer les capacités de l'appareil (à deux objectifs : x10 et x20) pour déterminer les tailles et les biovolumes de diatomées.

Mesures effectuées sur cultures de *Gomphonema gracile* (GGRA) :

- sous 2 morphotypes : normale (N) / tératogène = déformée (T)
- dans 2 états : vivantes (V) / après digestion H₂O₂ (D)



Méthodes de calcul des biovolumes de GGRA :

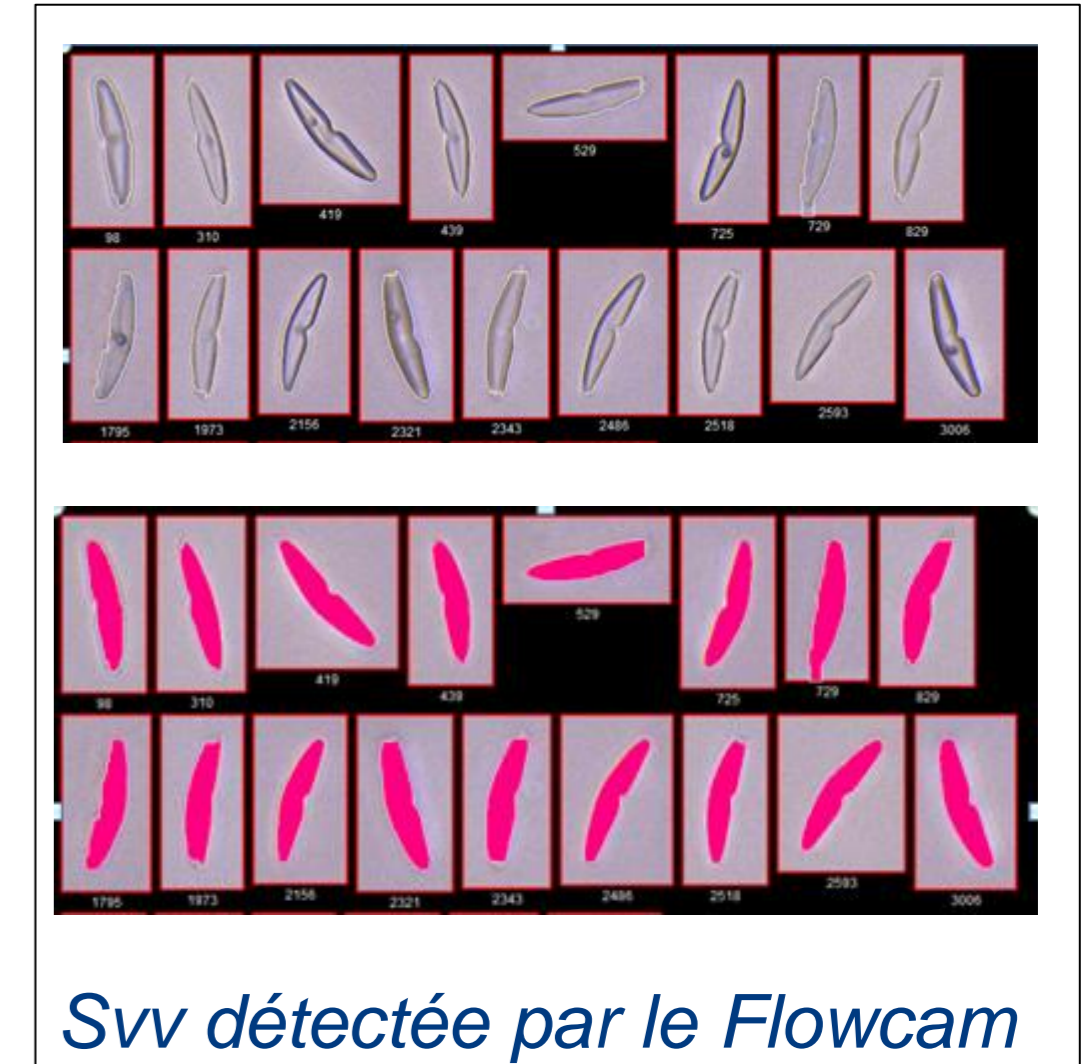
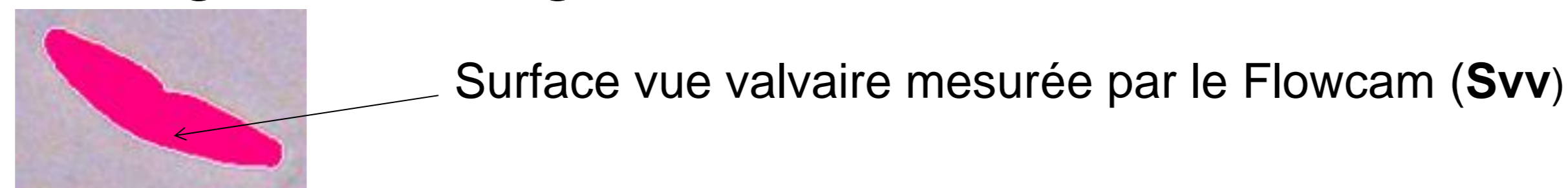
- Estimation par microscope à l'aide de formule mathématique (prisme sur base elliptique).

$$\text{Biovolume} = \frac{\pi}{4} \times (L_{vv} + L_{vc}) / 2 \times l_{vv} \times E_{vc}$$



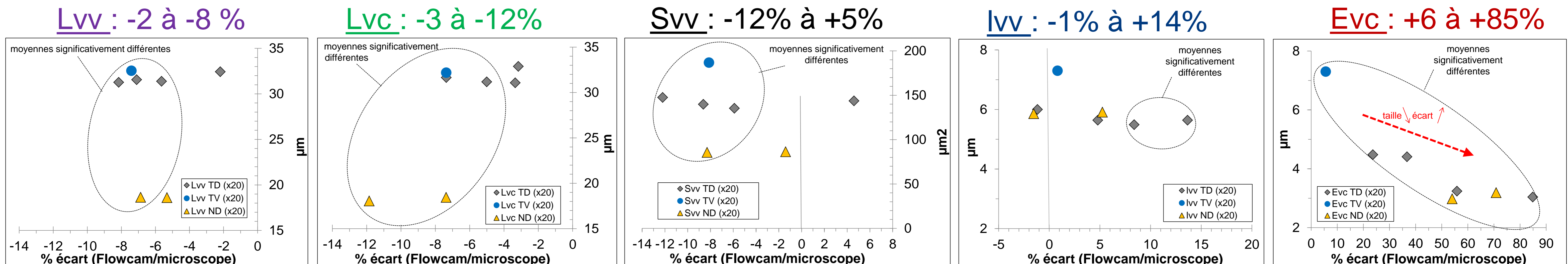
- Estimation par le Flowcam : longueurs, largeurs et surface réelle de chaque diatomée.

$$\text{Biovolume} = S_{vv} \times E_{vc}$$



Résultats des mesures au Flowcam® :

- Seulement 15% (diatomées vivantes) et 4% (diatomées digérées) présentent le bon profil et ont une bonne qualité d'image pour estimer « S_{vv} »
- Précision satisfaisante du Flowcam (x20) estimée à l'aide de 250 billes de références (19,99±0,2µm). Diamètre = 20,2±0,5µm.
- Ecart entre les mesures effectuées au Flowcam et au microscope :



Ecart entre le Flowcam (x20) et le microscope (x100) et moyennes significativement différentes entre Flowcam et microscope (p<0,05)

Avantages Flowcam / microscope

- Estimation satisfaisante de la longueur (L_{vv}, L_{vc}), Flowcam sous estime
- Surface réelle (S_{vv}) obtenue directement (pas de formule mathématique nécessaire) permettant de prendre en compte les morphologies les plus complexes, permet de s'affranchir des mesures de largeur (l_{vv}).
Mais validation nécessaire par observateur
- Gain de temps de l'estimation des dimensions si la classification automatique est mise en place
(pour 30 diatomées culture pure ~ 0h15 au flowcam contre 4h00 au microscope)
- Volume d'échantillon analysable (0,5mL) peut être augmenté sans limite pour accroître le nombre de diatomées mesurées

Compensé par

Désavantages Flowcam / microscope

- Paramétrage, mise au point et critique des images collectées fastidieux
- Filtration physique des échantillons nécessaire pour éviter obturation du Flowcam
- Présence d'exopolysaccharides dans les cultures vivantes entraînant des agrégats de diatomées
- Difficultés pour obtenir suffisamment d'individus en vue connective
- Temps passé nécessaire pour la sélection des diatomées et constitution de la banque d'images utilisée pour la classification automatique. A recommencer si dimensions des diatomées en culture évoluent.
- Impossible de retrouver précisément où ont été réalisées les mesures du Flowcam. De plus la localisation des mesures Flowcam ne correspond pas forcément aux mesures réalisées sur microscope



Conclusions

- Difficultés pour obtenir de bonnes mesures sur les petites dimensions, surtout E_{vc}. Obstacles contournés en comparant l'évolution des surfaces (S_{vv}) plutôt que le biovolume des diatomées lors des suivis des perturbations de la biocénose.
- Les mesures sur cultures pures mettent en évidence de nombreux verrous à lever pour utiliser le Flowcam® en routine sur des échantillons du milieu naturel (colmatage, débris, séparation des individus en agrégats, différenciation des individus, ...)
- Validation des images toujours nécessaire par un observateur