



HAL
open science

Mécatronique et deep learning au service de l'automatisation des suivis de biodiversité en forêt

Christophe Bouget, Bernard Benet, Marion Gosselin, Yann Dumas, Frédéric Archaux, Guilhem Parmain, Carl Moliard, Aurélien Sallé, Lucie Vincenot, Carlos Lopez-Vaamonde

► To cite this version:

Christophe Bouget, Bernard Benet, Marion Gosselin, Yann Dumas, Frédéric Archaux, et al.. Mécatronique et deep learning au service de l'automatisation des suivis de biodiversité en forêt. Séminaire d'avancement des projets exploratoires du MP Biosefair, MP Biosefair, Oct 2022, Orléans, France. hal-04186404

HAL Id: hal-04186404

<https://hal.inrae.fr/hal-04186404>

Submitted on 23 Aug 2023

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.

INRAE



Bioc@pt

Mécatronique et *deep learning* au service de l'automatisation des suivis de biodiversité en forêt

Bouget C., Benet B., Gosselin M., Dumas Y., Archaux F., Parmain G., Moliard C., Vincenot L., Sallé A., Lopez-Vaamonde C.

➤ Carence de données, querelles de chiffres et controverses : des besoins de suivi

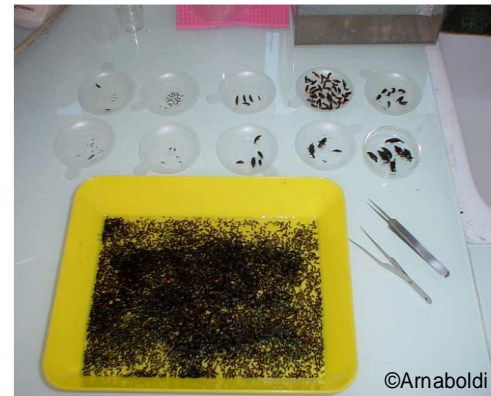
- Quels effets du CC et de la foresterie ?
- 6^e crise d'extinction majeure ?
 - quantification de l'érosion de biodiversité
- Quels effets des mesures de conservation ?
 - Suivi des espèces protégées
- Suivi des auxiliaires ?
- Biovigilance espèces invasives ?

➤ Des besoins de suivi

- déployer des suivis à larges échelles (**upscaling**)
- détecter des évolutions rapidement par acquisition de données à **haut débit** (réponse à **l'urgence**)
- déployer des suivis à moindres coûts (**moyens** humains et financiers en **baisse**)

➤ Un verrou : le handicap taxinomique

Effectifs insuffisants / pénurie croissante de taxinomistes



Zoological Journal of the Linnean Society, 2021, **XX**, 1–7. With 0 figures.

EDITORIAL

The taxonomic impediment: a shortage of taxonomists, not the lack of technical approaches

MICHAEL S. ENGEL^{1,4,*}, LUIS M. P. CERÍACO^{2,4}, GIMO M. DANIEL^{3,4,*}, PABLO M. DELLAPÉ^{4,4}, IVAN LÖBL^{5,4}, MILEN MARINOV^{6,4,*}, ROBERTO E. REIS^{7,4}, MARK T. YOUNG^{8,4}, ALAIN DUBOIS^{9,4}, ISHAN AGARWAL¹⁰, PABLO LEHMANN A.¹¹, MABEL ALVARADO¹², NADIR ALVAREZ¹³, FRANCO ANDREONE¹⁴, KATYUSCIA ARAUJO-VIEIRA¹⁴, JOHN S. ASCHER¹⁵, DÉLIO BAËTA¹⁶, DIEGO BALDO¹⁷, SUZANA A. BANDEIRA¹⁸, PHILLIP BARDEN¹⁹, DIEGO A. BARRASSO²⁰, LEILA BENDIFALLAH²¹, FLÁVIO A. BOCKMANN²², WOLFGANG BÖHME²³, ART BORKENT²⁴, CARLOS R. F. BRANDÃO²⁵, STEPHEN D. BUSACK²⁶, SETH M. BYBEE²⁷, ALAN CHANNING²⁸, STYLIANOS CHATZIMANOLIS²⁹, MAARTEN J. M. CHRISTENHUS³⁰, JORGE V. CRISCI³¹, GUILLERMO D'ELÍA³², LUIS M. DA COSTA³³, STEVEN R. DAVIS³⁴, CARLOS ALBERTO S. DE LUCENA³⁵, THIERRY DEUVE³⁶, SARA FERNANDES ELIZALDE³⁶, JULIÁN FAIVOVICH³⁷, HARITH FAROOQ³⁸, ADAM W. FERGUSON³⁹, SPARTACO GIPPOLITI⁴⁰, FRANCISCO M. P. GONÇALVES⁴¹, VICTOR H. GONZALEZ⁴², ELI GREENBAUM⁴³, ISMAEL A. HINOJOSA-DÍAZ⁴⁴, IVAN INEICH⁹, JIANPING JIANG⁴⁵, SIH KAHONÓ⁴⁶, ADRIANO B. KURY⁴⁷, PAULO H. F. LUCINDA⁴⁸, JOHN D. LYNCH⁴⁹, VALÉRY MALÉCOT⁵⁰, MARIANA P. MARQUES⁵¹, JOHN W. M. MARRIS⁵², RYAN C. MCKELLAR⁵³, LUIS F. MENDES⁵¹, SILVIO S. NIHEI⁵⁴, KANTO NISHIKAWA⁵⁵, ANNEMARIE OHLER⁹, VICTOR G. D. ORRICO⁵⁶, HIDE-TOSHI OTA⁵⁷, JORGE PAIVA⁵⁸, DIOGO PARRINHA⁵¹, OLIVIER S. G. PAUWELS⁵⁹, MARTÍN O. PEREYRA⁶⁰, LUEJI B. PESTANA⁶¹, PAULO D. P. PINHEIRO⁶⁴, LORENZO PRENDINI³⁴, JAKUB PROKOP⁶², CLAUS RASMUSSEN⁶³, MARK-OLIVER RÖDEL⁶⁴, MIGUEL TREFAUT RODRIGUES⁶⁴, SARA M. RODRÍGUEZ⁶⁵, HEARTY SALATNAYA⁶⁶, ÍRIS SAMPAIO², ALBA SÁNCHEZ-GARCÍA⁶⁷, MOHAMED A. SHEBL⁶⁸, BRUNA S. SANTOS⁶⁹, MÓNICA M. SOLÓRZANO-KRAEMER⁷⁰, ANA C. A. SOUSA⁷¹, PAVEL STOEVEV⁷², PABLO TETA⁷³, JEAN-FRANÇOIS TRAPE⁷⁴, CARMEN VAN-DÛNEM DOS SANTOS⁷⁵, KARTHIKEYAN VASUDEVAN⁷⁶, COR J. VINK⁷⁷, GERNOT VOGEL⁷⁸, PHILIPP WAGNER⁷⁹, TORSTEN WAPPLER⁸⁰, JESSICA L. WARE⁸¹, SÓNJA WEDMANN⁸², and CHIFUNDERA KUSAMBA ZACHARIE⁸³

Identification taxinomique automatique à **haut débit**, une réponse à **l'urgence**

➤ Quelles opportunités ?

Emergence de nouvelles technologies accessibles

(informatique, génomique, deep learning, capteurs multi-sources)

pour des **suivis environnementaux 2.0**

Compatibles avec logistique des suivis répétés à grande échelle
avec lourd effort d'échantillonnage ?

Pistes :

1. outils génétiques
2. outils optiques
3. (outils acoustiques)



➤ Opportunité n°1 = ADNe et métabarcoding en plein essor

Méthodes de détection et d'identification

- fondées sur la **signature génétique** des espèces
- issues de la convergence **d'innovations technologiques** autour
 - des **séquenceurs** ADN rapides (NGS)
 - des **calculateurs** informatiques accessibles

Barcoding (2003), **Métabarcoding** (principe 2009, terme 2012), **eDNA**

Carew et al. *Frontiers In Zoology* 2013, **10**:45
<http://www.frontiersinzoology.com/content/10/1/45>



FRONTIERS IN ZOOLOGY

RESEARCH Open Access

Environmental monitoring using next generation sequencing: rapid identification of macroinvertebrate bioindicator species

Melissa E Carew^{1*}, Vincent J Pettigrove¹, Leon Metzeling² and Ary A Hoffmann^{1,3}

ECOLOGY LETTERS

Ecology Letters, (2013) doi: 10.1111/ele.12162

IDEA AND PERSPECTIVE

Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding



Yinqiu Ji,^{1,2} Louise Ashton,^{2,3} Scott M. Pedley,^{3,†} David P.

Abstract

To manage and conserve biodiversity, one must know what is being lost, where, and remedies are likely to be most effective. Metabarcoding technology can characterize species of mass samples of plankton or of environmental DNA. Here, we validate

Methods in Ecology and Evolution

doi: 10.1111/j.2041-210X.2012.00198.x

Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring

Douglas W. Yu^{1,2,*†}, Yinqiu Ji^{1†}, Brent C. Emerson^{2†}, Xiaoyang Wang¹, Chengxi Ye¹, Chunvan Yang¹ and Zhaoli Ding³

MOLECULAR ECOLOGY

Molecular Ecology (2012)

NEWS AND VIEWS

OPINION

Biomonitoring 2.0: a new paradigm in ecosystem assessment made possible by next-generation DNA sequencing

DONALD J. BAIRD* and MEHRDAD HAJIBABAEI†

*Department of Biology, Environment Canada @ Canadian

combin
goods
unpre
versibl
leng
assessn
ogies, c
more r:
structu:

RESEARCH ARTICLE

Species Identification in Malaise Trap Samples by DNA Barcoding Based on NGS Technologies and a Scoring Matrix

Jérôme Morinière^{1*}, Bruno Cancian de Araujo¹, Athena Wai Lam¹, Axel Hausmann^{1,3}, Michael Balke^{1,3}, Stefan Schmidt¹, Lars Hendrich¹, Dieter Doczkal¹, Berthold Fartmann², Samuel Arvidsson², Gerhard Haszprunar^{1,3}

➤ Opportunité n°2 = capteurs optiques et deep learning au service de l'automatisation des suivis

• Perspectives d'innovation

- Convergences technologiques : mécatronique + deep learning
 - Automatiser l'échantillonnage et la discrimination

scientific reports



Deep learning and computer vision will transform entomology

Toke T. Høye^{a,b,1}, Johanna Ärje^{a,b,c}, Kim Bjerge^d, Oskar L. P. Hansen^{a,b,e}, Florian Leese^f, Hjalte M. R. Mann^{a,b}, Kristian Meissner^g, Claus Melvad^{b,d}

Edited by Matthew L. Forister, University of Nevada, Reno, NV, and accepted by Editorial Board, 2020 (received for review March 24, 2020)

OPEN Advances in automatic identification of flying insects using optical sensors and machine learning

Carsten Kirkeby^{1,2,7,8}, Klas Rydhmer^{2,7}, Samantha M. Cook³, Alfred Strand², Martin T. Torrance³, Jennifer L. Swain³, Jord Prangmsma², Andreas Johnsen⁴, Mikkel Jensen², ^{all}



Available at www.sciencedirect.com

INFORMATION PROCESSING IN AGRICULTURE 8 (2021) 27–51

journal homepage: www.elsevier.com/locate/inpa



Recent advances in image processing techniques for automated leaf pest and disease recognition – A review

Lawrence C. Ngugi^{a,*}, Moataz Abelwahab^a, Mohammed Abo-Zahhad^{a,b}

^aDepartment of Electronics and Communication Engineering, Egypt-Japan University of Science and Technology, P.O. Box 179, New Borg El-Arab City, Postal Code 21934, Alexandria, Egypt

^bDepartment of Electrical and Electronics Engineering, Assiut University, P.O. Box 71515, Assiut, Egypt

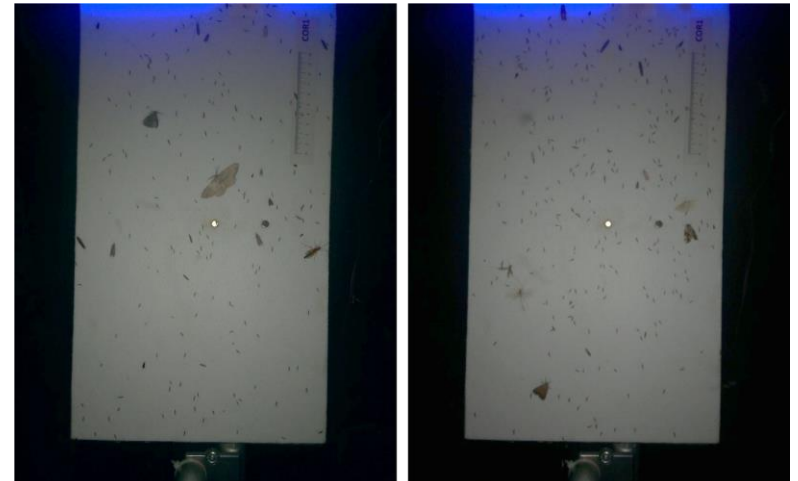
➤ Opportunité n°2 = des modèles déjà commercialisés pour le suivi d'insectes ravageurs



- Opportunité n°2 = des modèles émergents pour le suivi de la biodiversité entomologique



➤ LEPINOC, démonstrateur francilien de suivi automatisé des Lépidoptères nocturnes (*NOE conservation*)

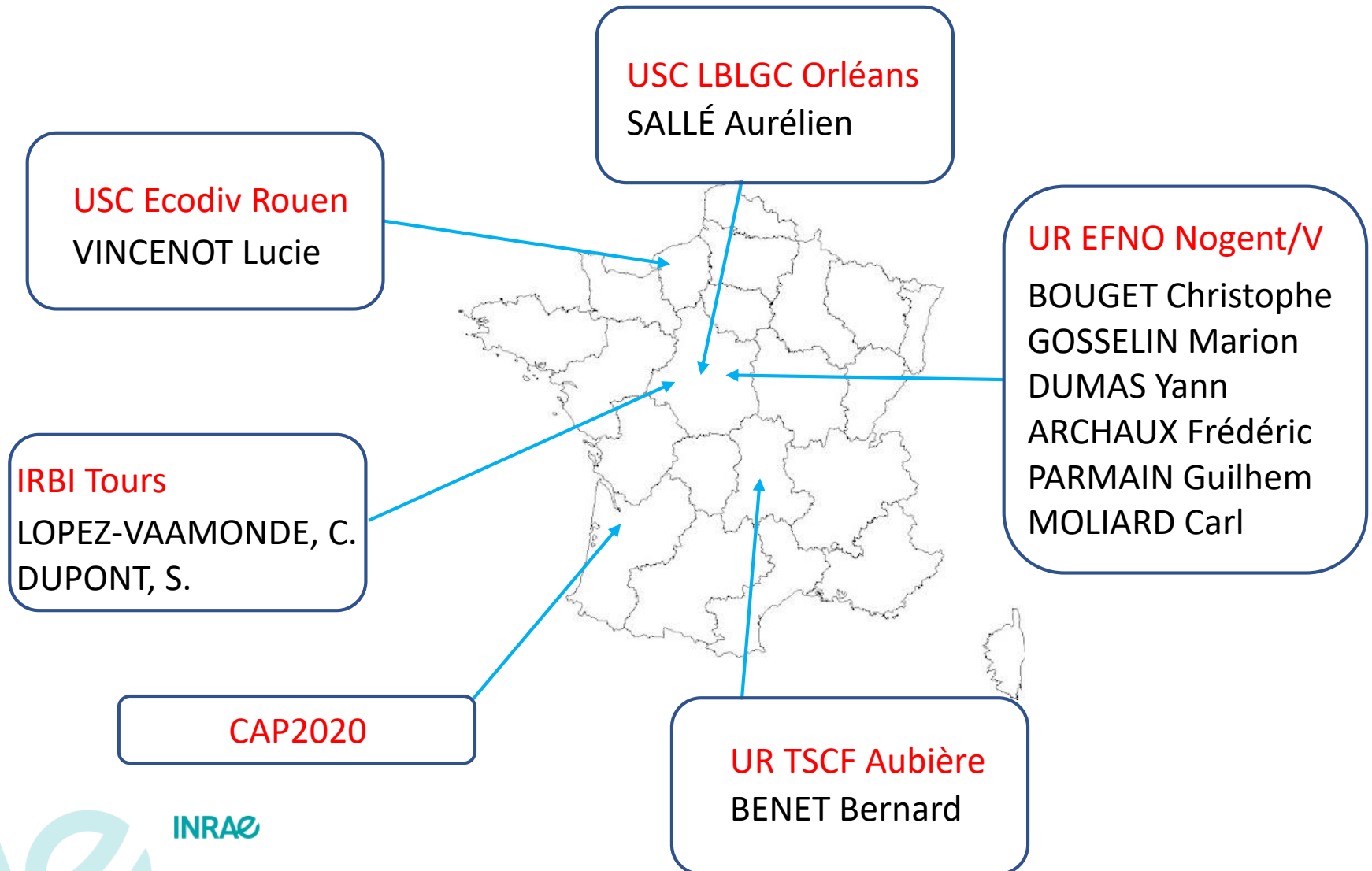


| | Boarmie | Lithosie complanule | Réseau | <i>Ethmia terminella</i> | Céladon | Livrée des arbres |
|---------|---------|---------------------|--------|--------------------------|---------|-------------------|
| Centre | | | | | | |
| Bordure | | | | | | Geometridae |

➤ Bioc@pt - 3 volets

- (i) le développement mécatronique de capteurs entomologiques forestiers sélectifs ou générique
- (ii) la mise en œuvre de capteurs de biodiversité forestière (entomologiques et bryologiques)
- (iii) les tests de classification automatique des données de ces capteurs de biodiversité par *deep learning* ou métabarcoding

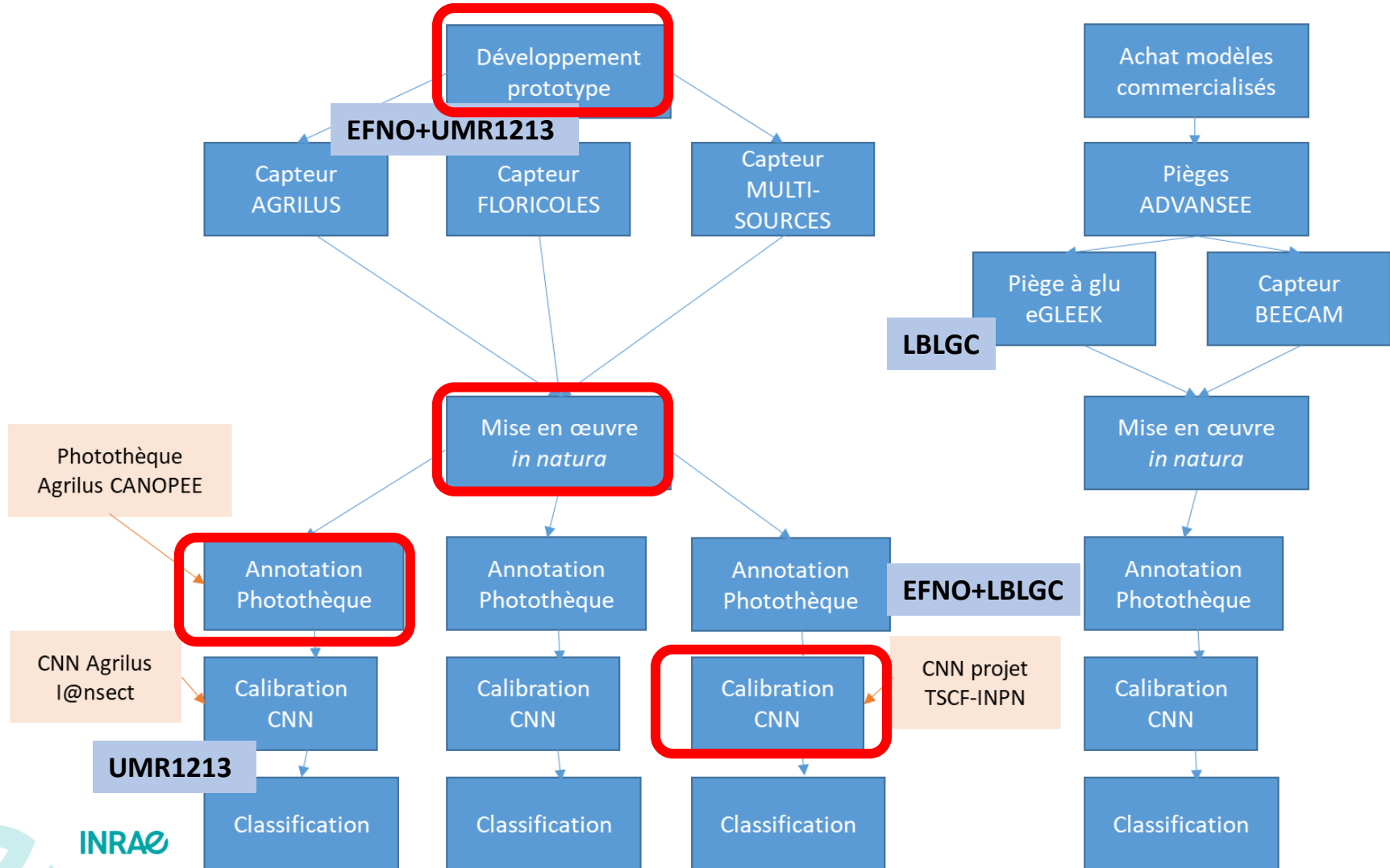
➤ L'équipe projet



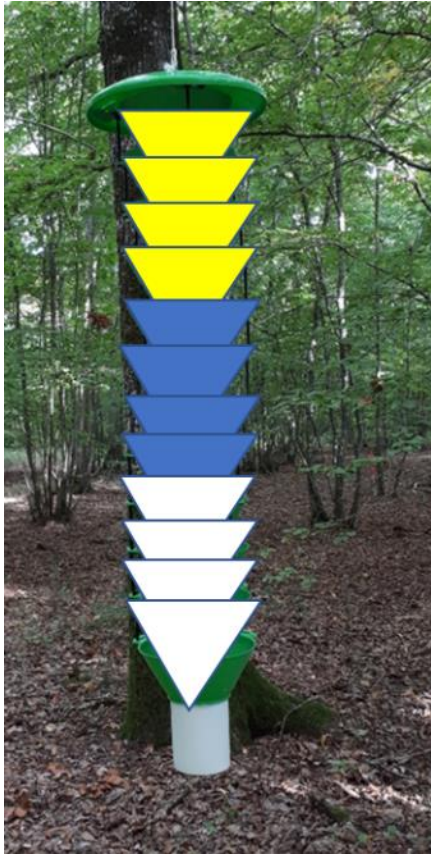
➤ Capteurs automatiques d'insectes en forêt

Développement mécatronique
et deep learning

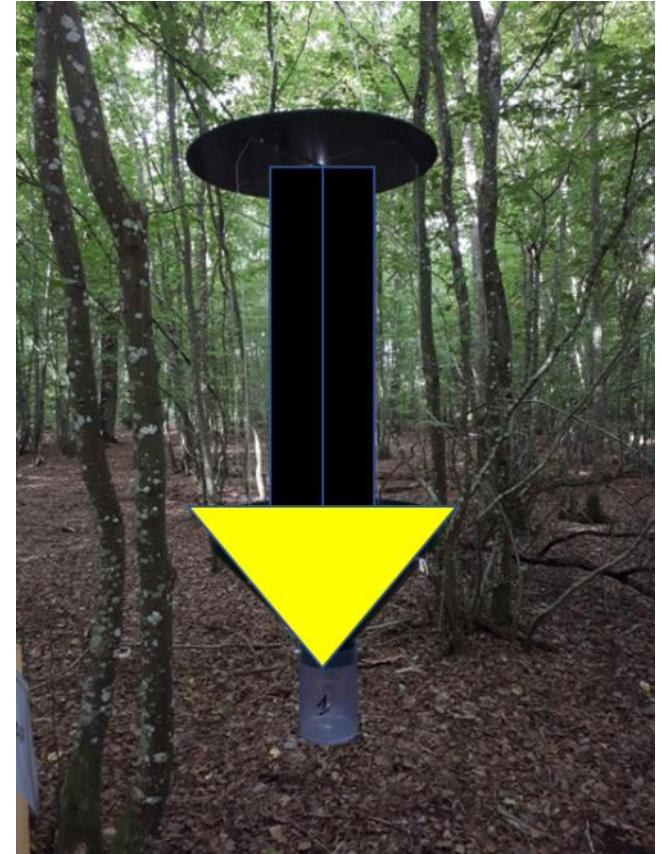
➤ Développement mécatronique et du test de capteurs entomologiques forestiers sélectifs ou génériques avec reconnaissance visuelle autonome



➤ Prototypage mécanique



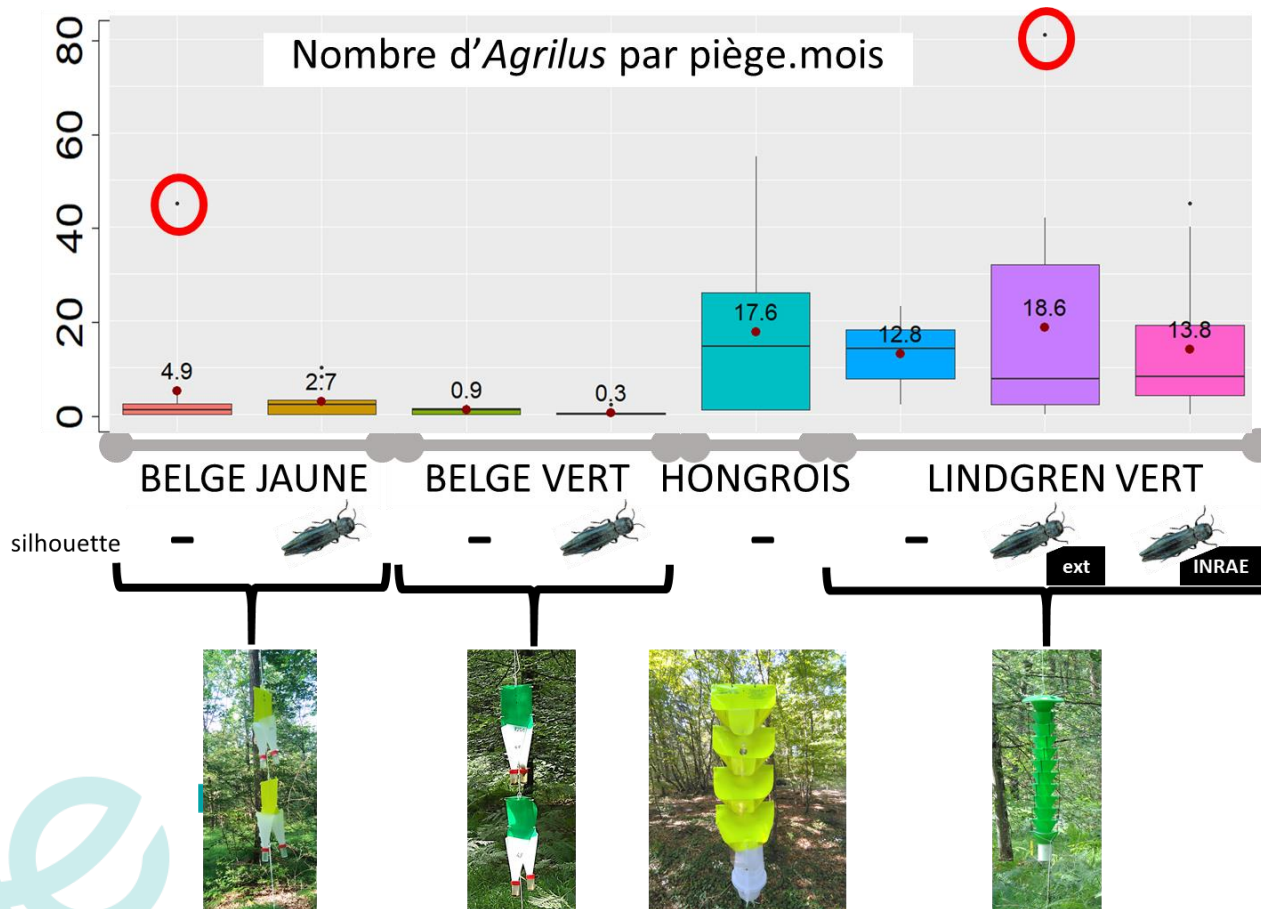
Prototype de capteur sélectif à insectes floricoles



Prototype de capteur générique des insectes forestiers volants

➤ Prototypage mécanique

Prototype de capteur sélectif à coléoptères forestiers xylophages **Buprestes** (notamment *Agilus* sp.), qui comportent des espèces invasives, ou patrimoniales ou impliquées dans des dépérissements majeurs en Europe



➤ Prototypage mécatronique

automatiques

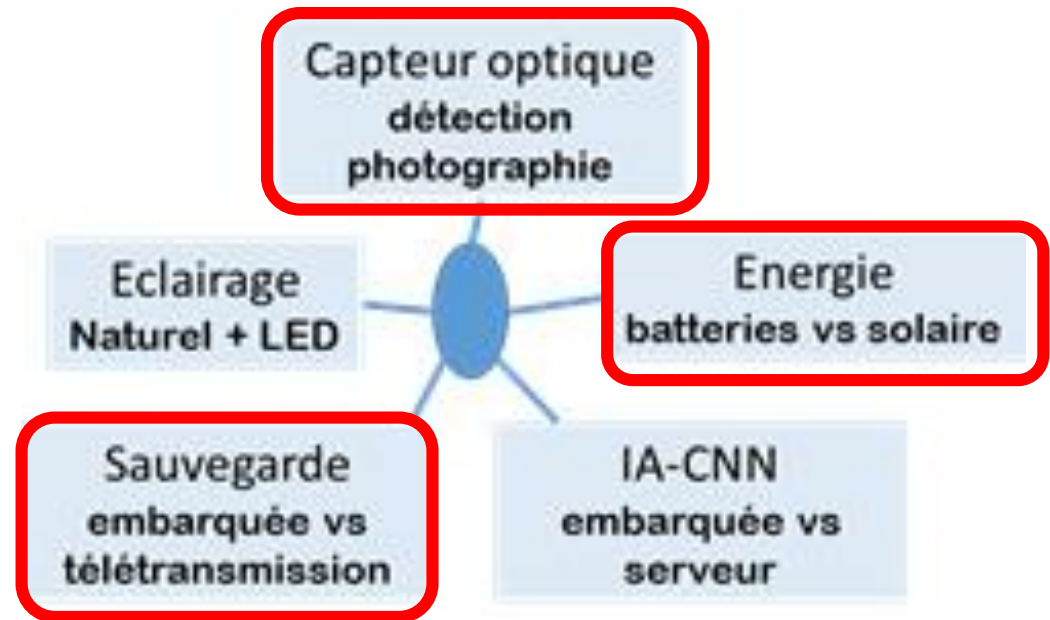
intelligents et autonomes

non intrusifs

non destructifs

fiables

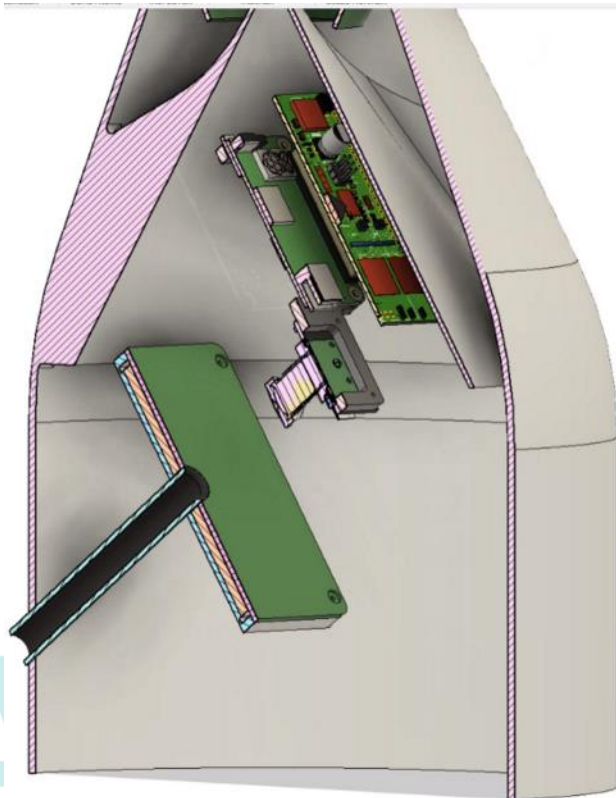
connectés



➤ Bioc@pt (MP INRAE Biosefair) Entomoc@pt (CPER région CVL)

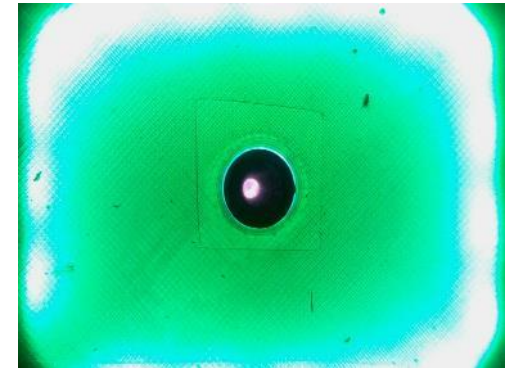
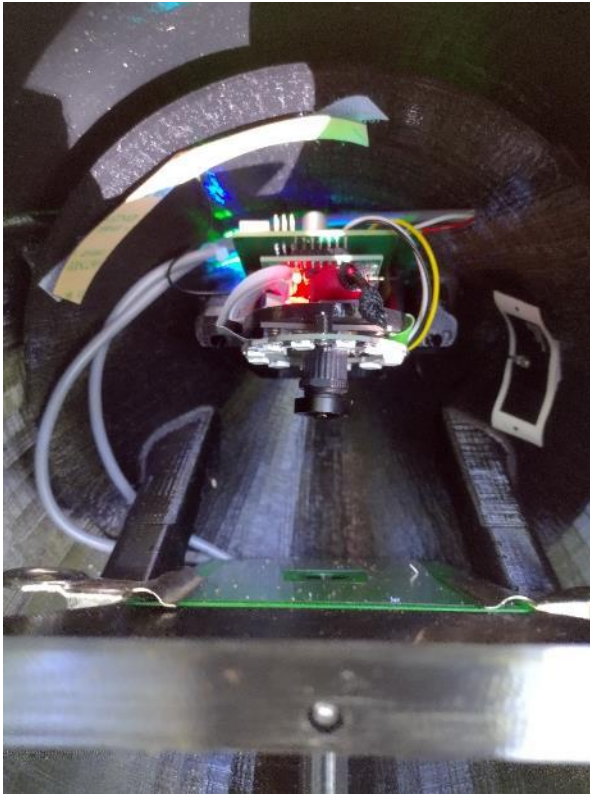
Piégeage automatique

Prototypage mécatronique



➤ Transmission des images

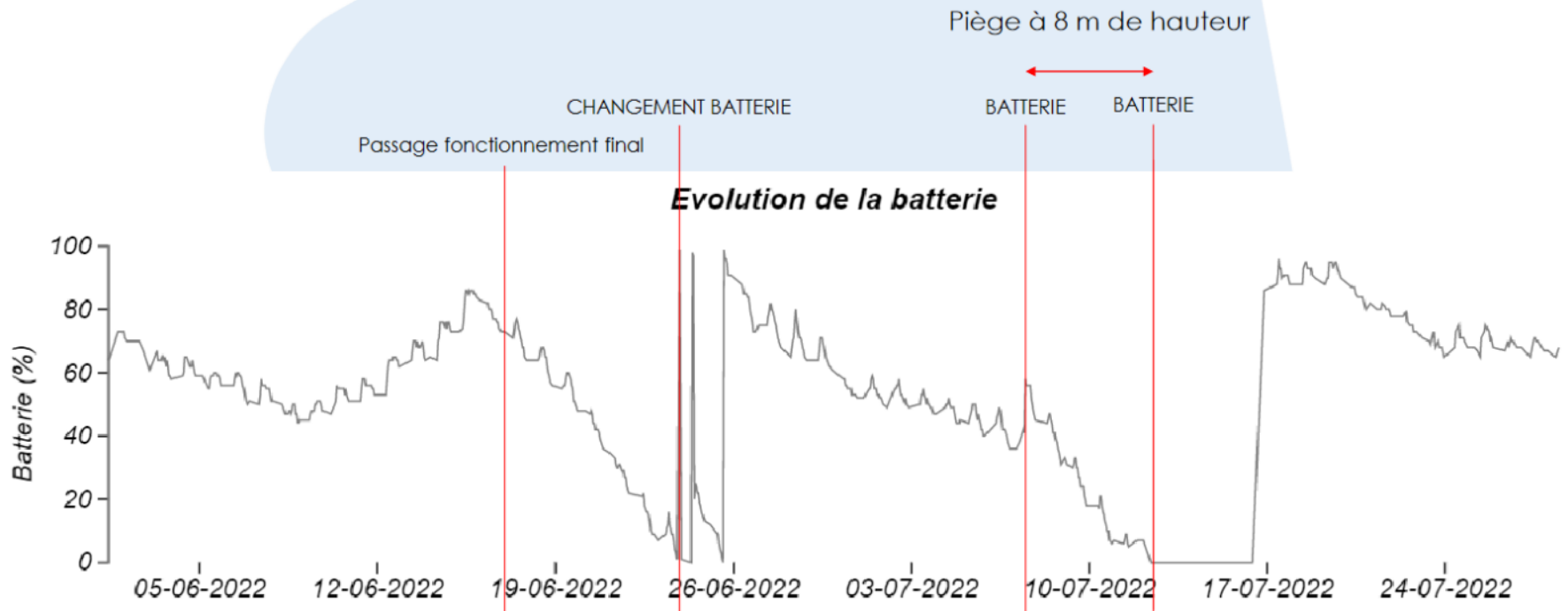
Collaboration avec



➤ Recharge des batteries

Fonctionnement final

Evolution du niveau de la **batterie du piège 246**



➤ Prototypage concurrent d'un pot INRAE

Peu de photo d'insectes dans le piège Cap2020...

Pistes d'amélioration ?

Allonger le tunnel de sortie opposé à la caméra pour éviter la mise au point au dernier plan hors piège

Ajouter un dispositif anti-sortie verticale dans le collecteur : cône inversé ? Ourlets latéraux de profondeur croissante ?

Prolonger le tuyau reliant le collecteur et la chambre photo pour obliger le passage des insectes dans l'emprise des caméras + en plan incliné de pente descendant vers la chambre photo ?

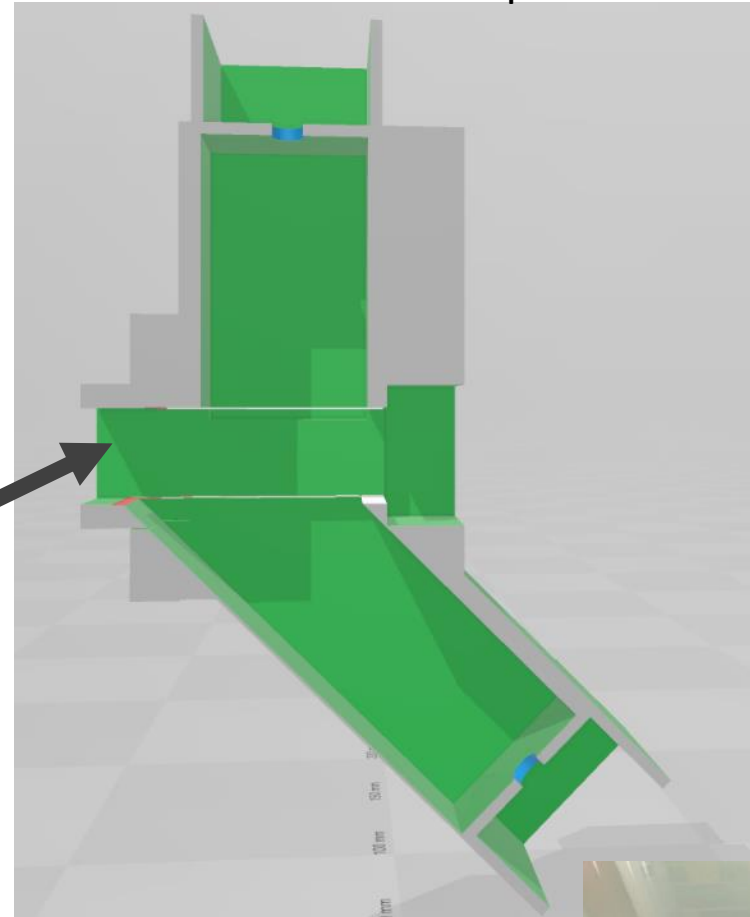
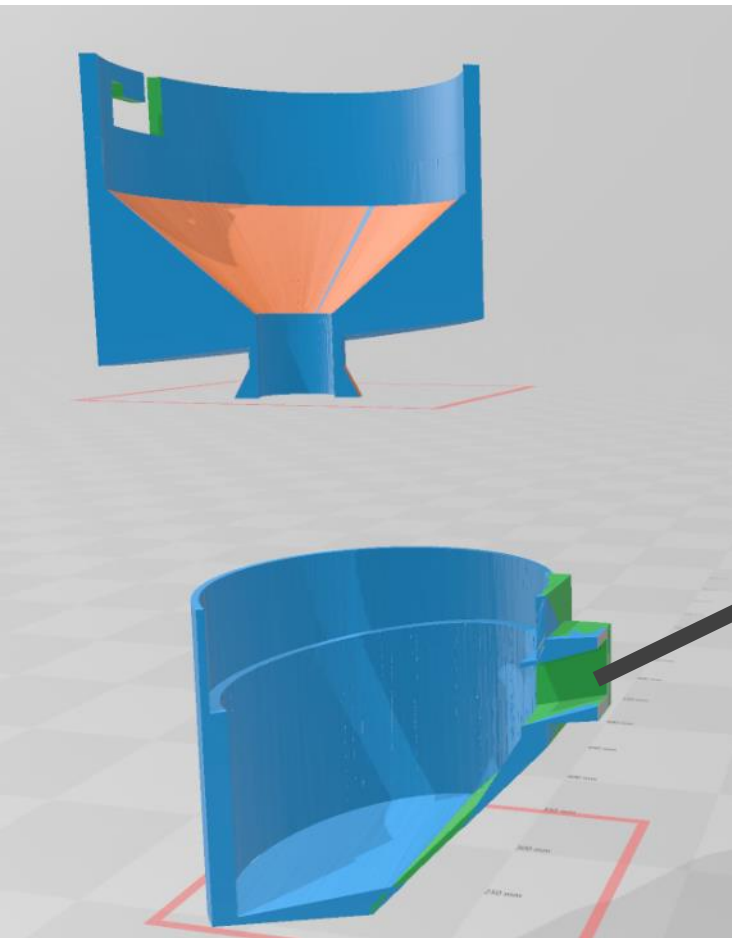
Appliquer fluon sur les parois pour éviter le déplacement à la marche sur les côtés de la chambre photo

Fond de collecteur en plan incliné de pente opposée au tunnel de sortie : eau et débris d'un côté, insectes remontant de l'autre ? Pb = insectes englués, noyés en bas de pente opposée à la sortie ?

➤ Prototypage concurrent d'un pot INRAE

Piège non léthal

Impression 3D



Collerette anti-retour
guide mieux les
insectes vers la sortie
devant le capteur

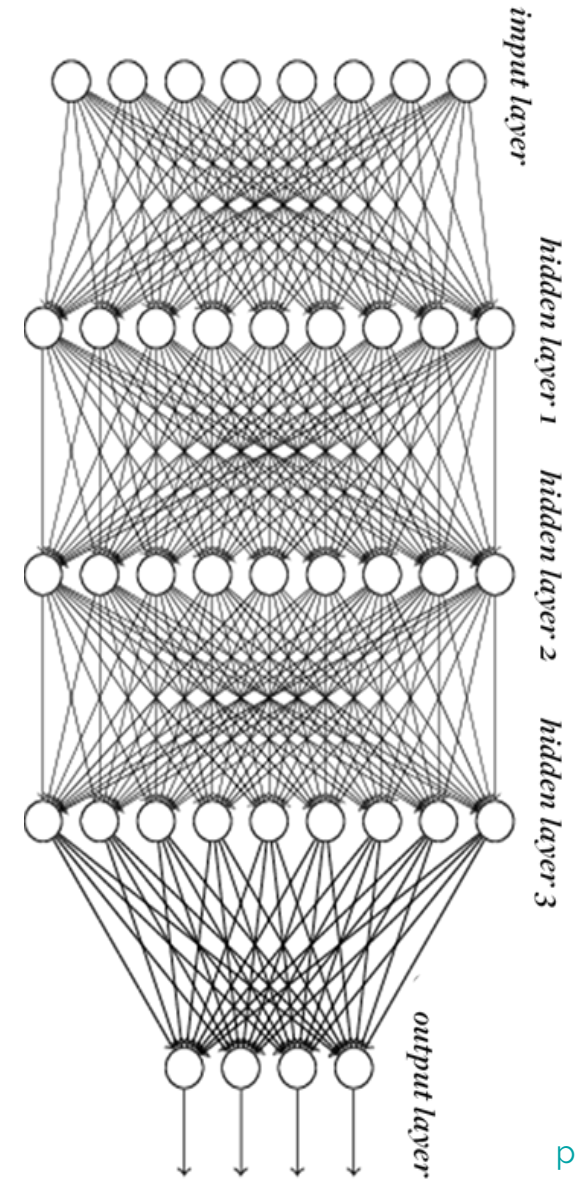
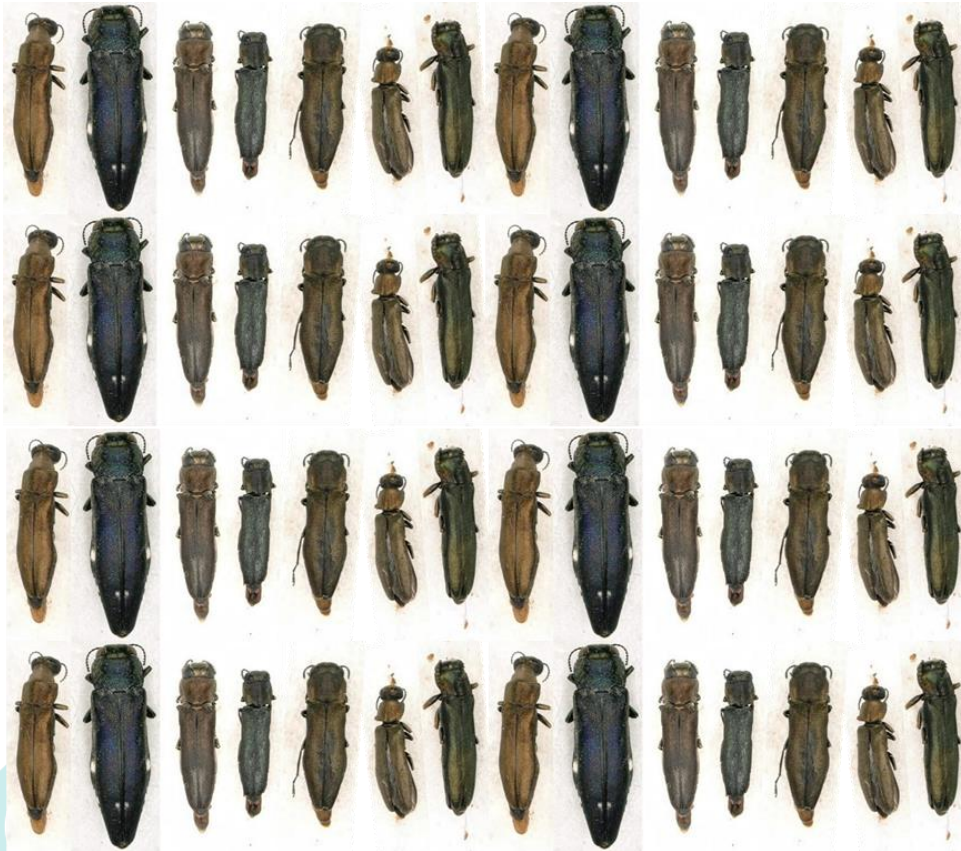
+ Micro-ordinateurs de type
RaspberryPi + caméra



➤ Piégeage et reconnaissance automatiques

Photothèques labellisées

Apprentissage du RNN



➤ Exclure les non-agriles par présélection des Agriles :
Agrilus vs extra-group (cf *Hylis*, *Salpingus*...)



| Classes | | | | | | | | | |
|---------------|----|-----|----|----|-----|-----|----|-----|----|
| Angustulus | 16 | 2 | 6 | 16 | 34 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Biguttatus | 0 | 186 | 0 | 4 | 2 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| Laticornis | 8 | 4 | 60 | 26 | 22 | 46 | 0 | 0 | 0 |
| Obscuricollis | 12 | 2 | 8 | 36 | 22 | 12 | 0 | 0 | 0 |
| Olivicolor | 24 | 2 | 12 | 20 | 108 | 8 | 0 | 0 | 0 |
| Sulcicollis | 4 | 16 | 6 | 10 | 2 | 188 | 0 | 0 | 0 |
| Hylis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 54 | 32 | 2 |
| Microrhagus | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 118 | 2 |
| Salpingidae | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 4 | 70 |

100% des agriles sont reconnus comme des agriles,
 98% des non-agriles sont reconnus comme des non-agriles

➤ Reconnaissance visuelle autonome des *Agrilus* (deep learning)



obscuricollis, laticornis, angustulus : photothèque moins fournie, score moyen de reconnaissance

$$\text{recall} = \frac{\text{Vrai Positif}}{\text{Vrai Positif} + \text{Faux Négatif}}$$

$$\text{precision} = \frac{\text{Vrai Positif}}{\text{Vrai Positif} + \text{Faux Positif}}$$

$$\text{F1 Score} = 2 \times \frac{\text{recall} \times \text{precision}}{\text{recall} + \text{precision}}$$

Reconnaissance correcte à globalement **75%**

| | sensibilité | précision | f1-score |
|--------------------------|-------------|-----------|----------|
| VGG16 Origine Training | 0.91 | 0.93 | 0.92 |
| VGG16 Origine Validation | 0.73 | 0.75 | 0.69 |

➤ Classer les photos d'Agrilus par espèce Images par angle de vue séparées/agrégées

Association des photos de dos et de profil et de ventre
: combiner les scores 1 et 2 des 3 classifications



Dos => 78%



Ventre => 77%



Côté => 78%

Sur les différentes espèces
Dos + Ventre + Côté => **80%**

➤ Classer les photos d'Agrilus par espèce

Images détourées

Recentrage = comme si les photos avaient été isolées des prises de vue du capteur en nature, ou d'une séquence vidéo

VGG16 Origine Training

| | A.ang | A.bigu | A.lati | A.obs | A.oliv | A.sulc | Hylis | Micro | Salpin |
|-----------------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|
| A.angustulus | 41 | 0 | 9 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| A.biguttatus | 0 | 98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.laticornis | 2 | 0 | 129 | 1 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| A.obscuricollis | 1 | 0 | 4 | 80 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.olivicolor | 4 | 0 | 6 | 1 | 157 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.sulcicollis | 0 | 1 | 3 | 0 | 2 | 154 | 0 | 2 | 0 |
| Hylis sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 303 | 19 | 0 |
| Microrhagus sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33 | 359 | 0 |
| Salpingidae | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 280 |

Pas de meilleurs résultats :
la taille est discriminante

Photos à large cadre



VGG16 Zoom Training

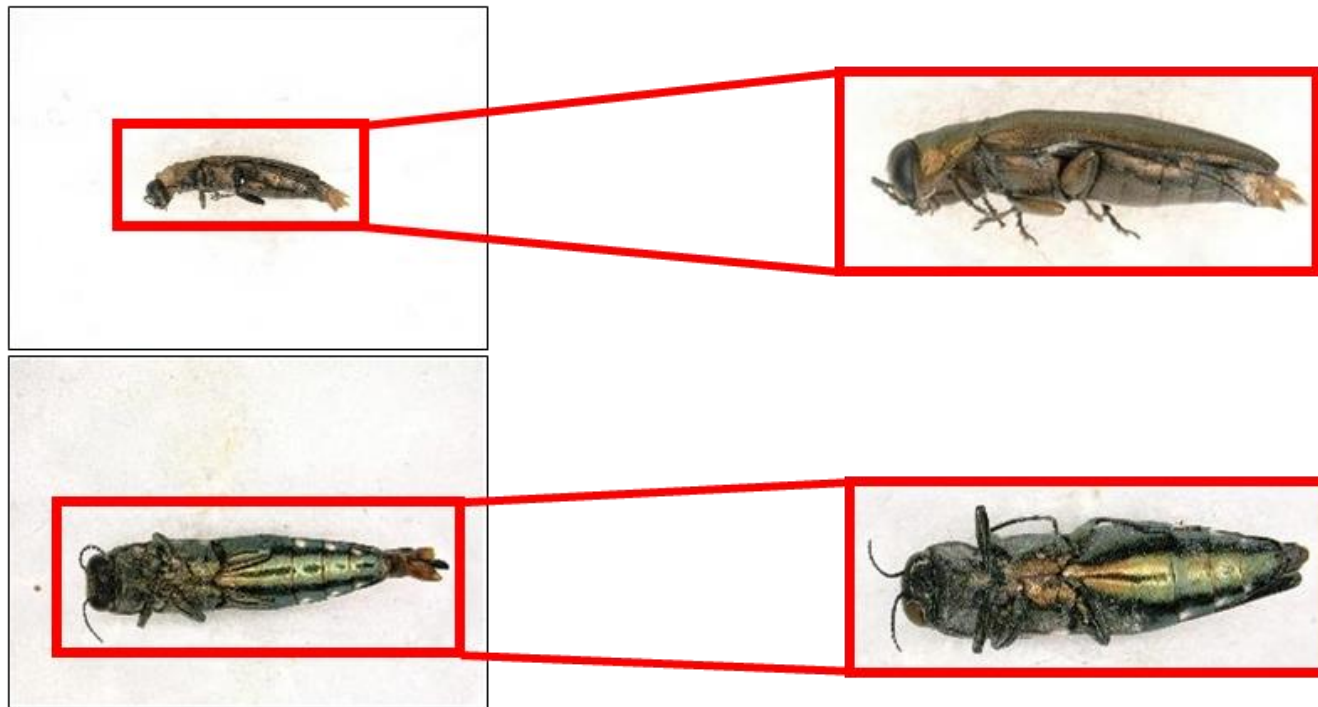
| | A.ang | A.bigu | A.lati | A.obs | A.oliv | A.sulc | Hylis | Micro | Salpin |
|-----------------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|
| A.angustulus | 39 | 0 | 6 | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| A.biguttatus | 0 | 95 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| A.laticornis | 0 | 0 | 129 | 3 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| A.obscuricollis | 0 | 0 | 8 | 81 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.olivicolor | 1 | 0 | 4 | 5 | 158 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.sulcicollis | 0 | 1 | 6 | 2 | 4 | 149 | 0 | 0 | 0 |
| Hylis sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 79 | 8 | 0 |
| Microrhagus sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 350 | 0 |
| Salpingidae | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 184 |

Photos détourées (recentrage)



➤ Classer les photos d'Agrilus par espèce
Images détourées

Images complètes vs recentrées



De 1% à 30% de précision d'identification

➤ Classer les photos d'Agrilus par espèce Images à résolution dégradée



La baisse de résolution affecte peu l'efficacité de classification

Amélioration de l'identification de -4 à +8 %
!!

| | Origine | Dégradé |
|-------------------|---------|---------|
| Olivicolor dos | 80 % | 85 % |
| Angustulus dos | 14 % | 21 % |
| Biguttatus dos | 92 % | 92 % |
| laticornis dos | 74 % | 79 % |
| sulcicollis dos | 85 % | 81 % |
| obscuricollis dos | 68 % | 74 % |

➤ Classer les photos d'Agrilus par espèce

Effets du changement de CNN

InceptionV3 vs VGG16

InceptionV3 Origine Training

| | A.ang | A.biguttatus | A.laticornis | A.obscuricollis | A.olivicolor | A.sulcicollis | Hylis | Microrhagus | Salpingidae |
|-----------------|-------|--------------|--------------|-----------------|--------------|---------------|-------|-------------|-------------|
| A.angustulus | 16 | 2 | 6 | 16 | 34 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.biguttatus | 0 | 186 | 0 | 4 | 2 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| A.laticornis | 8 | 4 | 60 | 26 | 22 | 46 | 0 | 0 | 0 |
| A.obscuricollis | 12 | 2 | 8 | 36 | 22 | 12 | 0 | 0 | 0 |
| A.olivicolor | 24 | 2 | 12 | 20 | 108 | 8 | 0 | 0 | 0 |
| A.sulcicollis | 4 | 16 | 6 | 10 | 2 | 188 | 0 | 0 | 0 |
| Hylis sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 54 | 32 | 2 |
| Microrhagus sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 118 | 2 |
| Salpingidae | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 4 | 70 |

VGG16 Origine Training

| | A.ang | A.biguttatus | A.laticornis | A.obscuricollis | A.olivicolor | A.sulcicollis | Hylis | Microrhagus | Salpingidae |
|-----------------|-------|--------------|--------------|-----------------|--------------|---------------|-------|-------------|-------------|
| A.angustulus | 41 | 0 | 9 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| A.biguttatus | 0 | 98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.laticornis | 2 | 0 | 129 | 1 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| A.obscuricollis | 1 | 0 | 4 | 80 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.olivicolor | 4 | 0 | 6 | 1 | 157 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| A.sulcicollis | 0 | 1 | 3 | 0 | 2 | 154 | 0 | 2 | 0 |
| Hylis sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 303 | 19 | 0 |
| Microrhagus sp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33 | 359 | 0 |
| Salpingidae | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 280 |

- Un réseau entraîné avec des photos de labo discrimine des photos de capteurs de terrain

Transférabilité

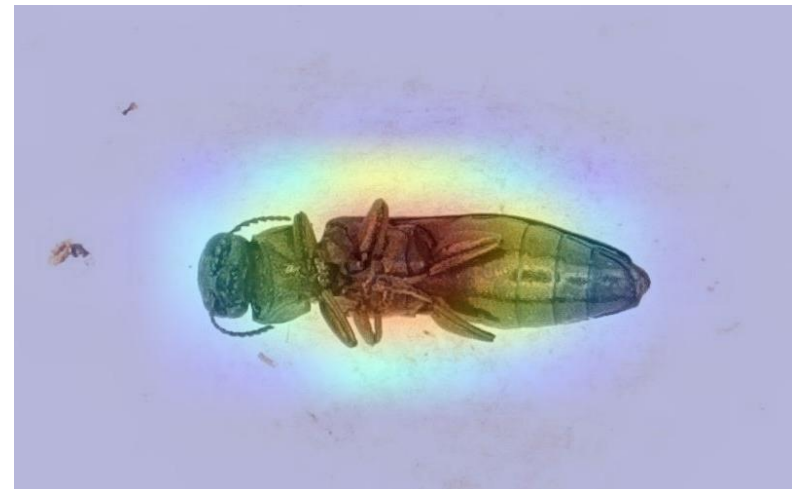
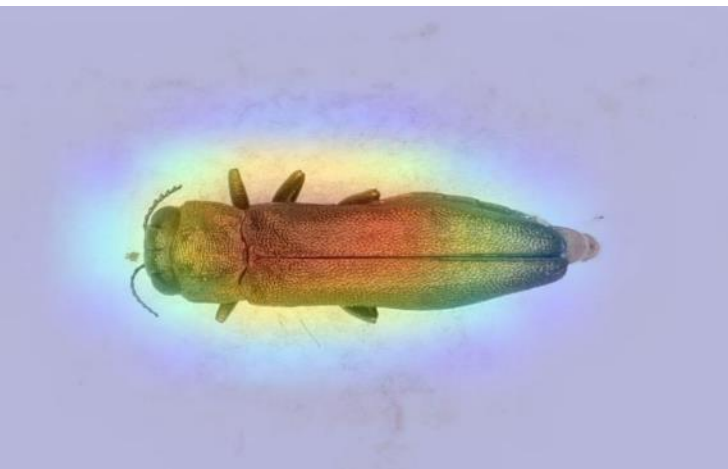


➤ Classer les photos d'Agrilus par espèce Localiser les critères de classification

Intérêt de détecter les zones discriminantes à la classification >
essayer de comprendre l'outil

Plus c'est rouge plus c'est fort !

A. angustulus



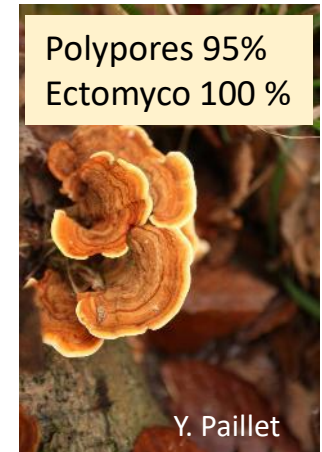
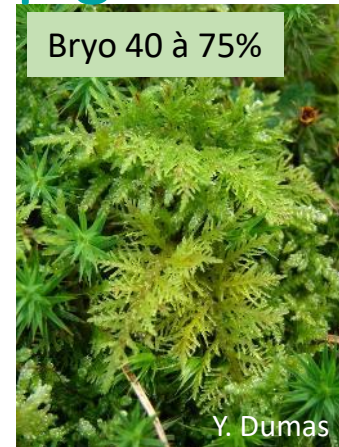
A. olivicolor

➤ Capteurs automatiques de spores de bryophytes en forêt

Métabarcoding vs deep learning sur photos

➤ 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....

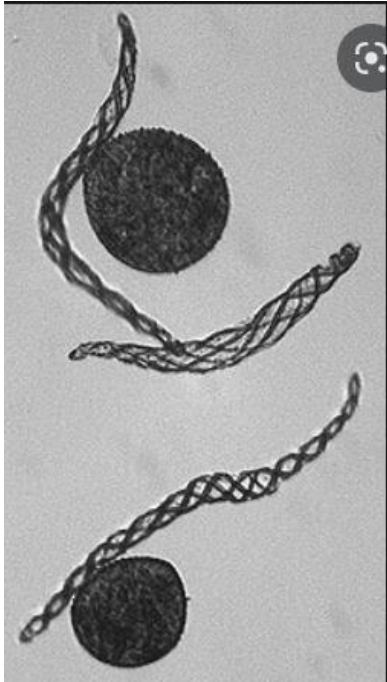
→ Suivi d'abondance des espèces communes ?

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

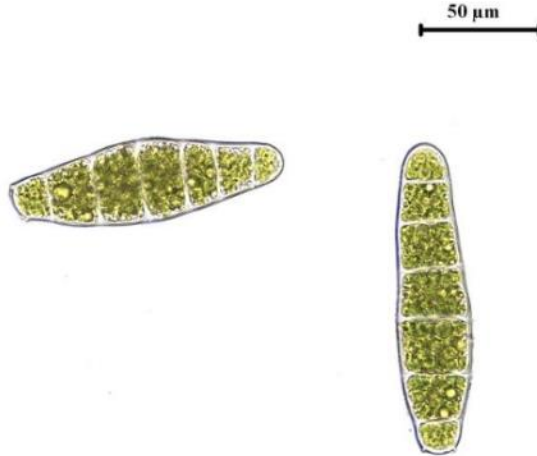


Peut-on identifier les espèces à partir des diaspores ?

➤ Diaspores

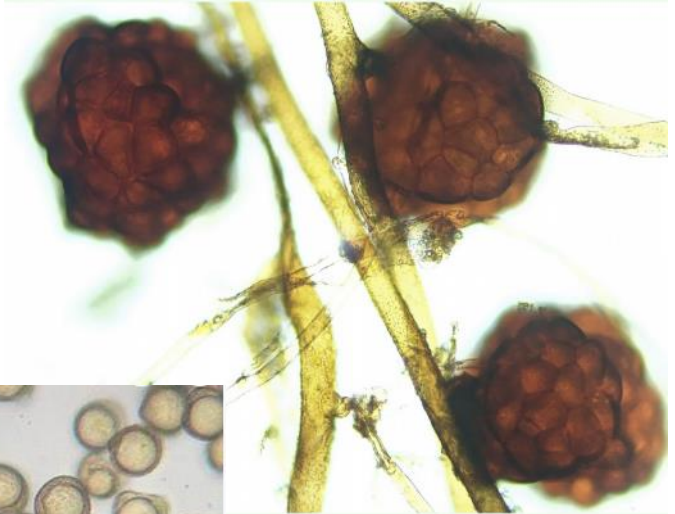


2 spores
et 3 élatères

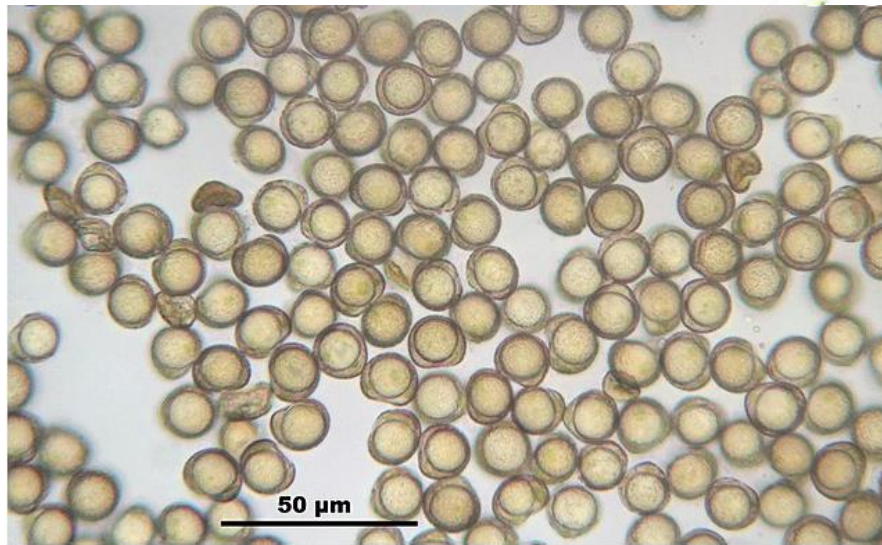


Propagules

Ptychostomum rubens (Mitt.) Holyoak & N.Pedersen, 2007 22/24 - Réf: 17787



Propagules globuleux.



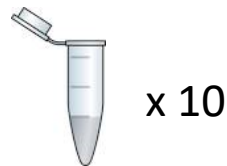
Spores

➤ Deux voies testées dans Bioc@pt sur le même échantillon

Récolte d'échantillons en forêt (Tours Grandmont)
Aspirateur de particules aéroportées



Cyclone sampler
(Burkard Manufacturing Co Ltd)
Projet Lifeplan



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

B/ test d'identification par ADNe
(métabarcoding)

➤ Test d'identification par reconnaissance visuelle



x 10

Echantillons – tests

Préparation microscopique des échantillons
→ Photographie des lames (x 500, x1000)

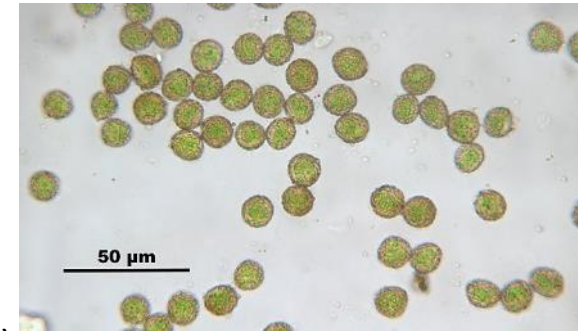


x 10



Base d'apprentissage :

- Récolte d'espèces avec sporophytes ou propagules, recherche dans les herbiers
- Photographies de spores (1 photo = de très nombreuses spores de la même espèce)
- Segmentation (1 spore par imagerie annotée)
- Algorithme d'apprentissage (réseau de neurones)



Puis : **Application de l'algorithme aux photos de lames**

→ **Livrable espéré** : Liste d'espèces + proba d'identification + abondances

➤ Test d'identification par ADNe



x 10

Echantillons – tests



Rinçage au buffer de lyse
Extraction d'ADN



Amplification

Séquençage des amplicons

Bioinformatique sur la liste de séquences obtenues



Bibliothèque de référence :

Base de données BOLD

(séquences de référence par espèce)

→ **Livrable espéré :** Liste d'espèces ou d'unités taxonomiques (OTUs)

➤ Etat d'avancement – octobre 2022

Echantillons aéropiégés

10 échantillons (collectés en mai, juin ou septembre 2021 à Tours, bois de Grandmont)

Centrifugés 2 fois 2 min à 14000 tours, dans 50 microlitres d'eau déminéralisée

Puis préparés sous lame



Photographiés au microscope numérique Keyence

- Grossissement **X 500**

- Grossissement **X 1000**

➤ Etat d'avancement – octobre 2022

Quelques spores... au milieu d'autres objets, micro- ou macroscopiques

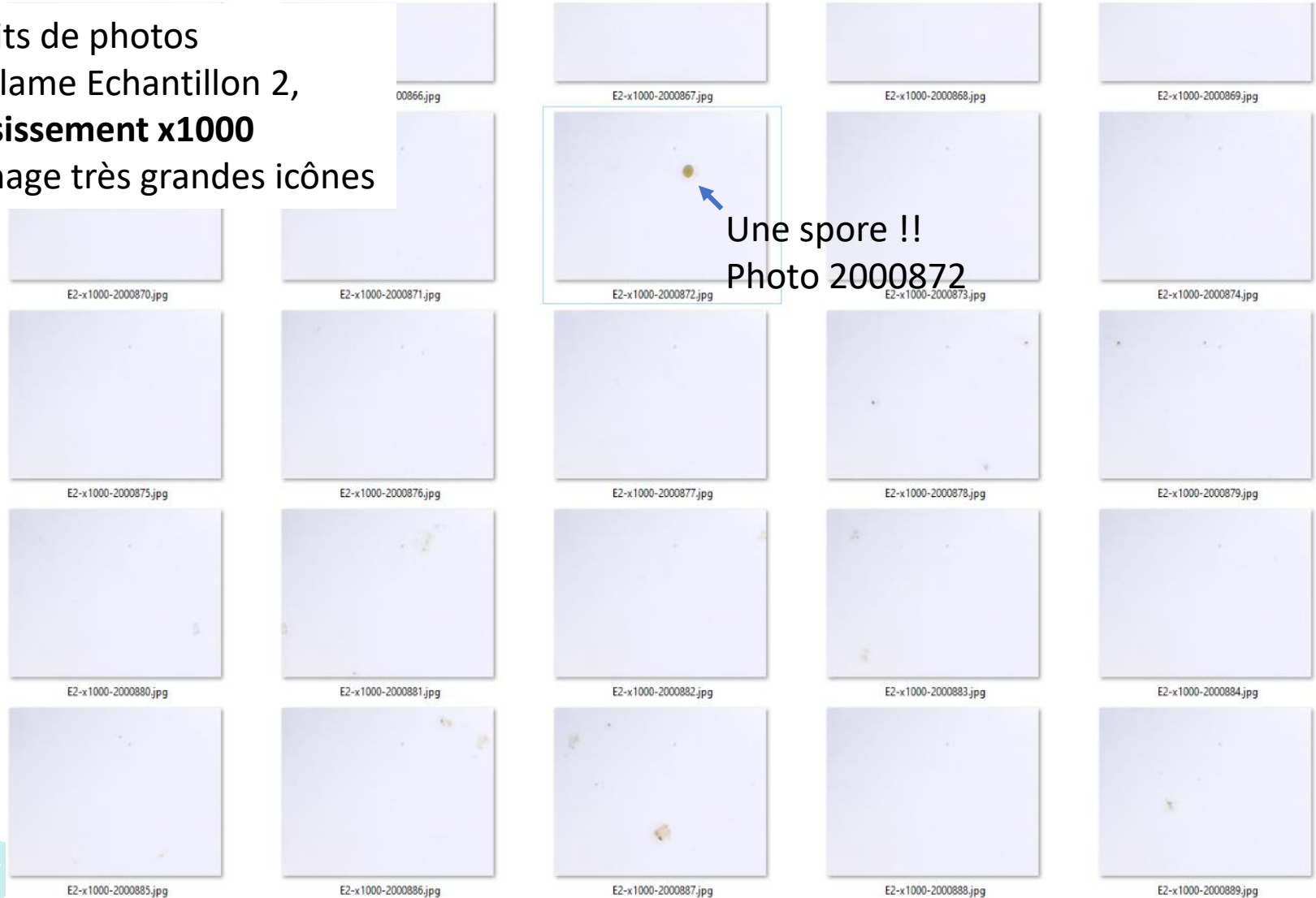
Extrait de photos
de la lame Echantillon 2,
Grossissement x500



➤ Etat d'avancement – octobre 2022

Quelques spores... au milieu d'autres objets, micro- ou macroscopiques

Extraits de photos
de la lame Echantillon 2,
Grossissement x1000
Affichage très grandes icônes



➤ Etat d'avancement – octobre 2022

Quelques spores... au milieu d'autres objets, micro- ou macroscopiques



La même (photo 2000872)

Grossissement x1000

Affichage icônes moyennes

La seule spore sur toute cette planche

➤ Etat d'avancement – octobre 2022

Reconnaissance visuelle : constitution de la base d'apprentissage

Inventaire naturaliste à Grandmont :

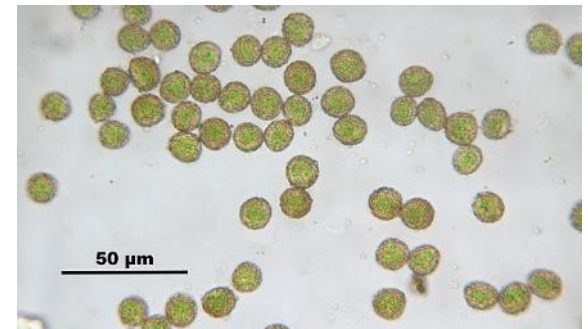
30 espèces (susceptibles de se retrouver dans les échantillons aéropiégés)

↓
Dont 19 avec échantillons fructifiés disponibles (herbier ou récolte récente de terrain)

↓
Dont 10 exploitables et exploités

+ 16 autres espèces

↓
Photos acquises pour 26 esp.
Autres acquisitions en cours



> Etat d'avancement – octobre 2022

ADNe



10 Echantillons – tests



Rinçage au buffer de lyse
Extraction d'ADN (septembre 2022)



Amplification des loci spécifiques aux champignons (septembre 2022)

Reste à faire :

Amplification des loci spécifiques aux bryophytes (novembre 2022)

Envoi des amplicons pour Séquençage (début 2023)

Bioinformatique sur la liste de séquences obtenues (2023)

➤ Difficultés rencontrées, perspectives

Imprévus, pistes à explorer

- Peu de matériel dans les échantillons aéropiégés. Recueillir à l'automne, sur sessions plus longues ?
- Photographies des échantillons : temps long, difficulté de mise au point en cas d'organites d'épaisseurs différentes sous lamelle. Mettre un filtre sur collecteur ? Concentrer l'échantillon sur une surface réduite de lamelle ?
- Composition des échantillons inconnue : pas de référence. Refaire une étude à partir d'échantillons de composition connue ?
- Base de données BOLD incomplète. Rejoindre l'initiative Fr Bold pour la compléter ?

➤ Merci de votre attention !

