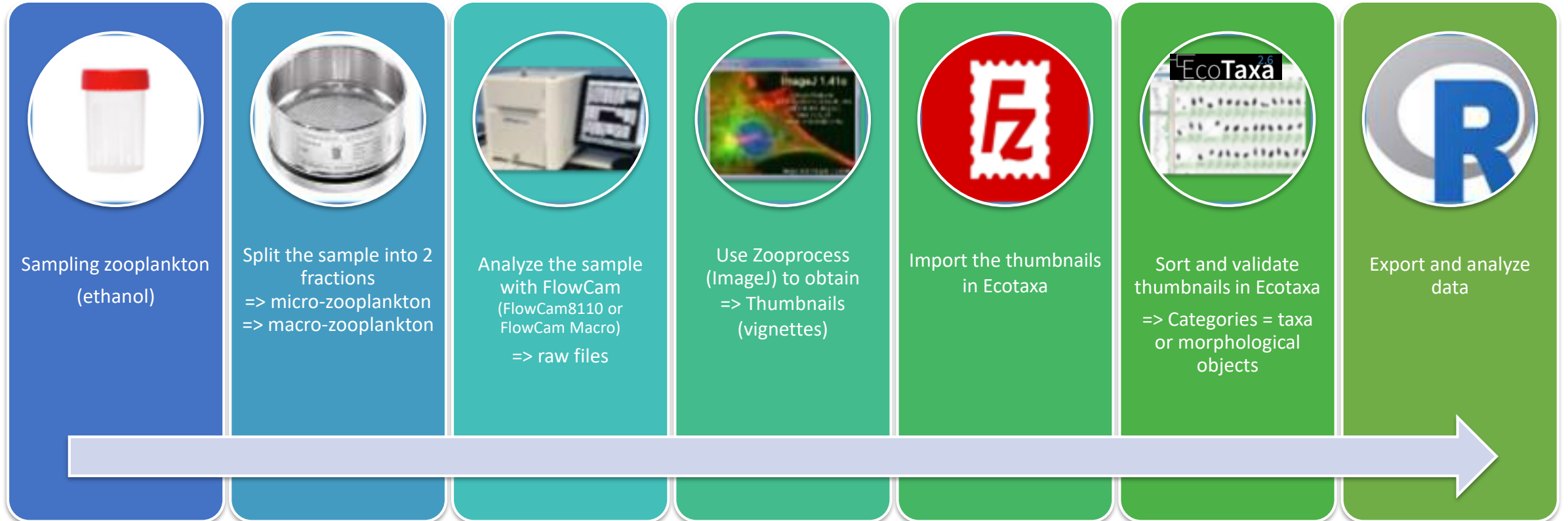


FlowCam for studying zooplankton communities in mesocosms





Projet "Mésocosmes & Macrodurée »

Ce projet explore:

les **effets de l'écrevisse de Louisiane** (*Procambarus clarkii*)
et de **son exploitation** (tentative d'éradication)

Sur:

- la **structure et la stabilité dynamique des communautés**
- le **fonctionnement des écosystèmes aquatiques.**

Ce projet implique:

UMR DECOD: Eric Edeline, Olivier Dézerald, Caroline Gorzerino, Damien Fourcy, Marc Collinet, Béatrice Porcon, Julie Coudreuse
Emilien Gagné & Mingjun Feng

UMR ECOBIO: Alexandrine Pannard

2019: Mise en place (12 mésocosmes 11m²)

2020: début du suivi

2021: début de expérimentation
introduction des écrevisses (8/12)

2023: début exploitation
(piégeage des écrevisses)

2026: fin ?

Compartiments :

Ecrevisses

Macrophytes / Périphyton / Macroinvertébrés

Phyto- et Zooplancton

Physico-chimie

Processus : Sedimentation / Decomposition
/respiration



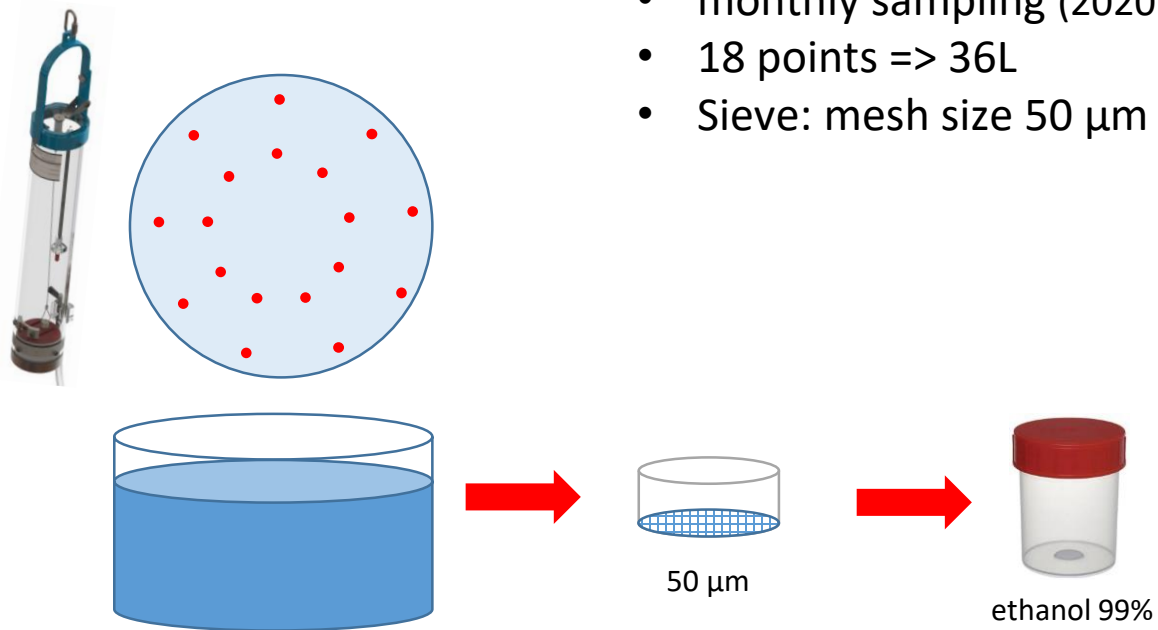
PEARL plateforme expérimentale aquatique Rennes - Le Rheu
IR LIFE (U3E, INRAE Rennes)

Zooplankton sampling

(PEARL mesocosm facilities, U3E -INRAE Rennes)

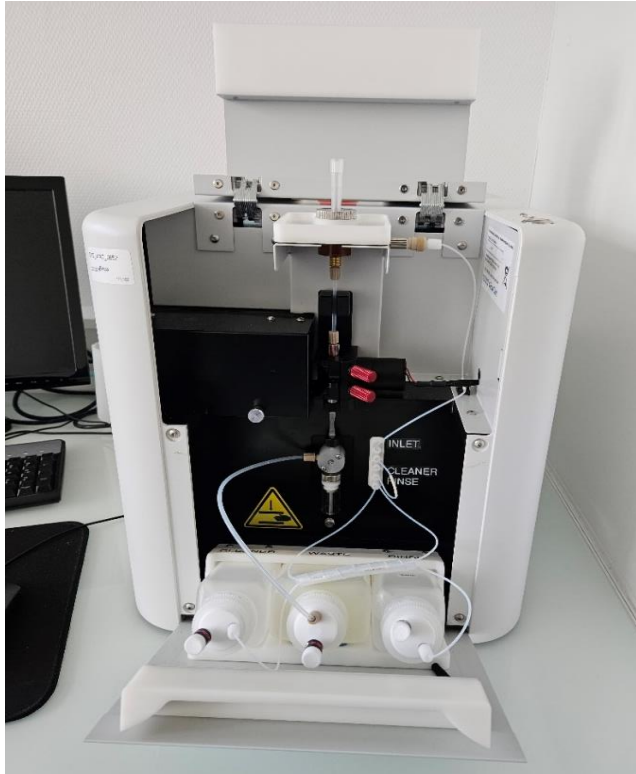


- 12 mesocosms
- monthly sampling (2020 -> 2024)
- 18 points => 36L
- Sieve: mesh size 50 μm



FlowCam analysis

FlowCam 8110: 2-300 μ m



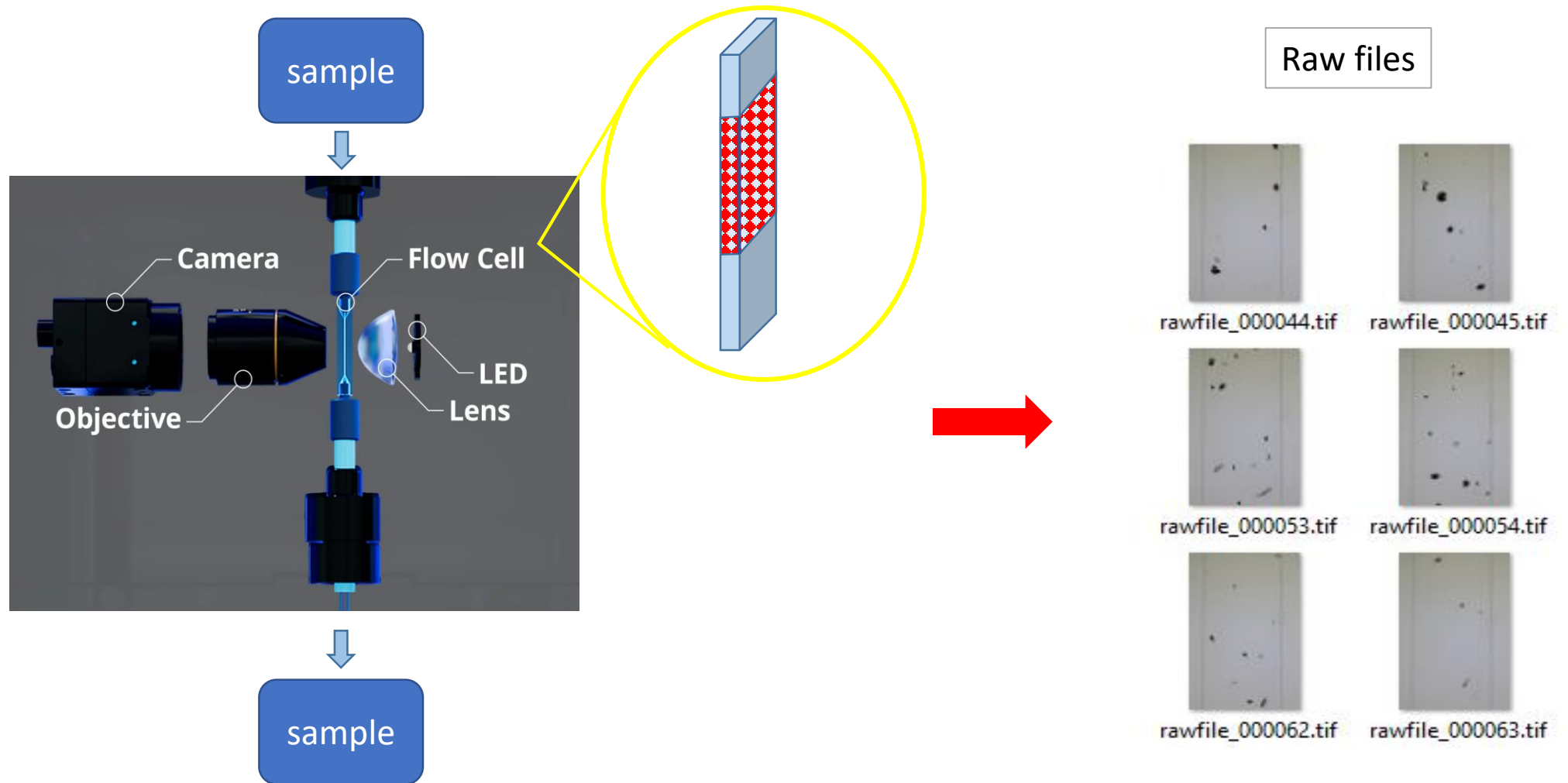
micro-zooplankton < 200 μ m

FlowCam Macro : 150 μ m -5 mm



macro-zooplankton > 200 μ m

FlowCam analysis



FlowCam analysis

The screenshot displays the FlowCam software interface, which is divided into several sections:

- VisualSpreadsheet (sample_film_M02_4.lst):** This window contains four histograms showing the frequency distribution of different parameters:
 - Edge Gradient:** Frequency vs. Edge Gradient (0.0 to 255.0).
 - Length (µm):** Frequency vs. Length (0.0 to 6000.0).
 - Transparency:** Frequency % vs. Transparency (0.0 to 1.0).
 - Diameter (ESD):** Frequency vs. Diameter (52 to 7447 µm).
- File Processing Mode:** A window with 'Pause' and 'Resume' buttons, currently displaying a black screen with the text 'Calibrating Background' in red.
- Summary Stats:** A table showing various analysis parameters and their values.
- Context Summary:** A table showing particle segmentation settings.

Count	0 of 0	Efficiency	NA	Start Time	NA
Particles / ml	NA	PPI	NA	Sampling Time	NA

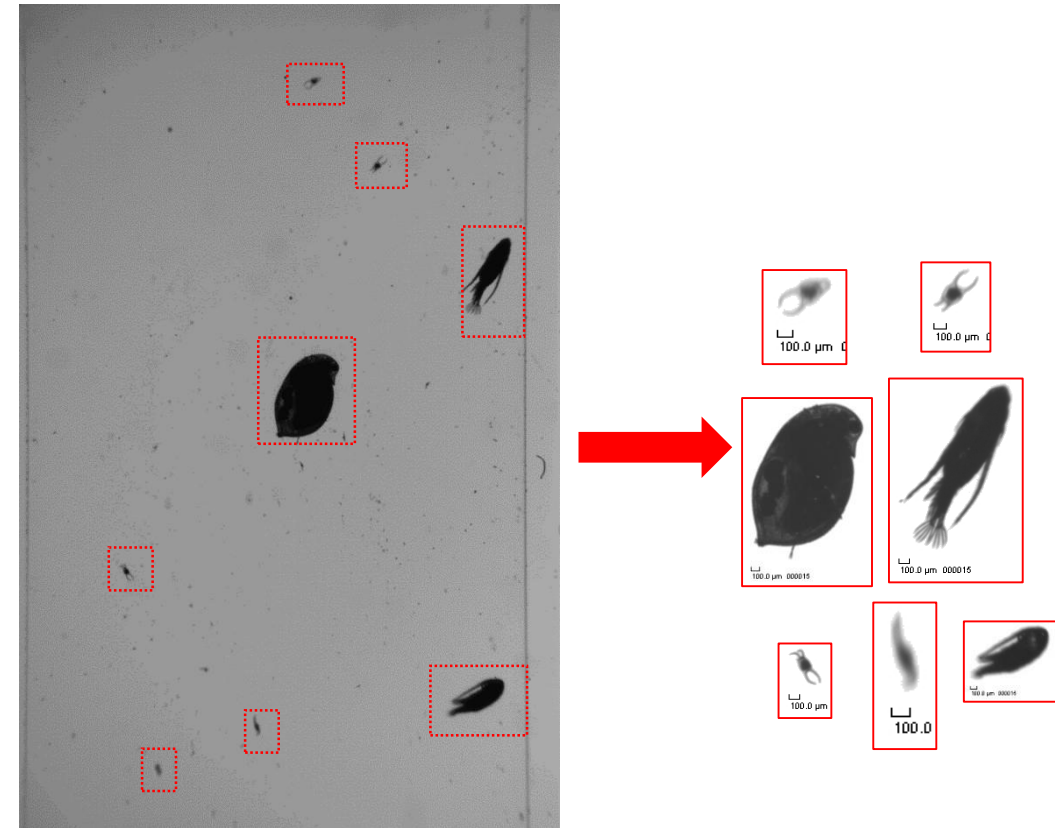
Summary Stats	Filters	Context Summary
Particle Segmentation	Dark Threshold 20.00	Light Threshold 35.00
Distance to Nearest Neighbor	2.00 microns	
Close Holes	No	
Basic Size Filter	Diameter (ABD) Min 50.00 Max 50000.00 microns	
Advanced Filter	None	
AutoImage Frame Rate	18 frames per second	
Flash Duration	900.00 microseconds	
Camera Gain	45	

The Windows taskbar at the bottom shows the system tray with the time 16:24 and date 05/07/2022. The taskbar also includes icons for VisualSpreadsheet and File Processing Mode.

Zooprocess

- ✓ suite of routines in ImageJ macro language, used to obtain zooplankton thumbnails (“vignettes”).
- ✓ developed at the Quantitative Imaging Platform (PIQv) of the IMEV (Institut de la Mer de Villefranche sur mer, France)

- Gaby Gorsky, Mark D. Ohman, Marc Picheral, Stéphane Gasparini, Lars Stemmann, Jean-Baptiste Romagnan, Alison Cawood, Stéphane Pesant, Carmen García-Comas, Franck Prejger, [Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system](https://doi.org/10.1093/plankt/fbp124), *Journal of Plankton Research*, Volume 32, Issue 3, March 2010, Pages 285–303, <https://doi.org/10.1093/plankt/fbp124>



Raw file

thumbnails

Picheral M, Colin S, Irisson J-O (2017). EcoTaxa, a tool for the taxonomic classification of images

<http://ecotaxa.obs-vlfr.fr>

Mesocosms_plankton (17209, 0, 14, 0 / 17223)

Project Filtered Filter: Taxo=Daphnia Samples=2mm_2022_06_m01_1,2mm_2022_06_m02_1,2mm_2022_06_m03_1,2mm_2022_06_m04_1

Caroline Gorzino (log out) Done

Update view & apply filter Select all Image Name Display Status All 500 20

Taxonomy filter Other filters

- living 0
- Arthropoda 0
- Crustacea 15
 - Daphniidae 8655 11
 - Ceriodaphnia 596 8
 - Daphnia - Daphniidae 49636 1 48
 - Simoccephalus 2706 5
 - Sididae 20 4
 - damaged < Cladocera 245 2
 - ephippium 140
- Copepoda < Maxillopoda 3761 7 57
 - Calanoida 15941 92 24
 - Cyclopoida 26873 6 22
 - multiple < Copepoda 1
 - nauplii < Copepoda 4073 2719
- Ostracoda 1180 4 34
- damaged < Crustacea 357
- leg < Crustacea 158
- Hydrachna 15
- Insecta 65
 - Baetidae 203 1
 - Chironomidae 1229 4
 - Coleoptera 1

The main area displays a grid of 160 microscopic images of plankton. Each image is accompanied by a taxonomic classification label (e.g., Daphnia, Daphniidae) and a sample ID (e.g., 2mm_2022_06_m12_dil_f3_6030). The labels are color-coded: green for 'Daphnia' and light blue for '< Daphniidae'. The sample IDs are also color-coded to match the labels.

Which taxa in mesocosms ?

FlowCam 8110



cladocerans: small

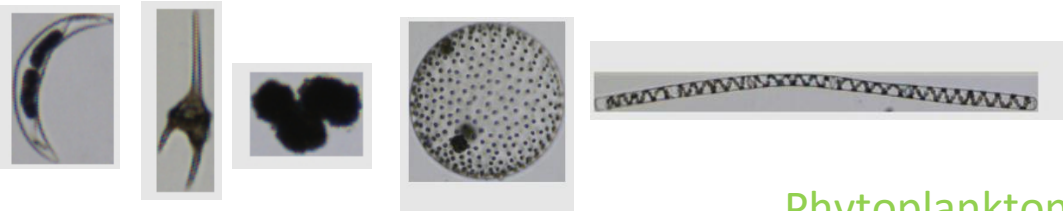


Copepods : small



Rotifers ++

Detritus

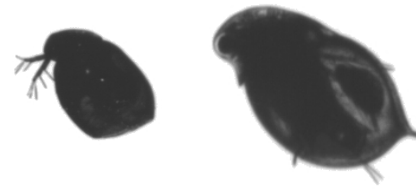


Phytoplankton +

FlowCam Macro



macroinvertebrates



cladocerans



Copepods



Rotifers



Phytoplankton

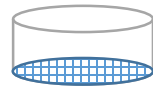


Detritus

Zooplankton sampling (PLANAQUA facilities)



- 16 Lakes (750 m³)
- monthly sampling (2015 - 2020)
- Every three months (2020 - 20XX)
- 16 points/ 3 depths => 96L
- Sieve: mesh size 50 μm

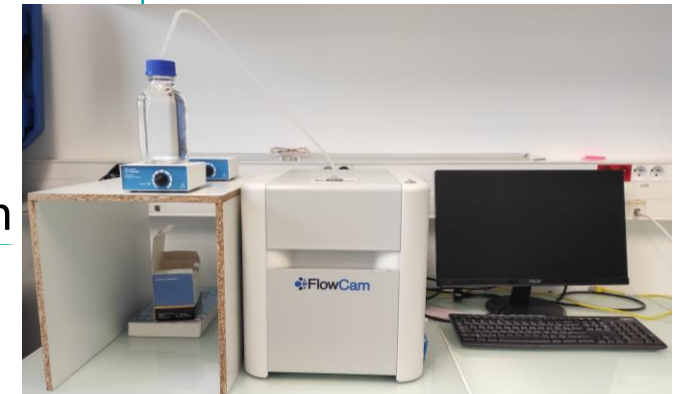


50 μm



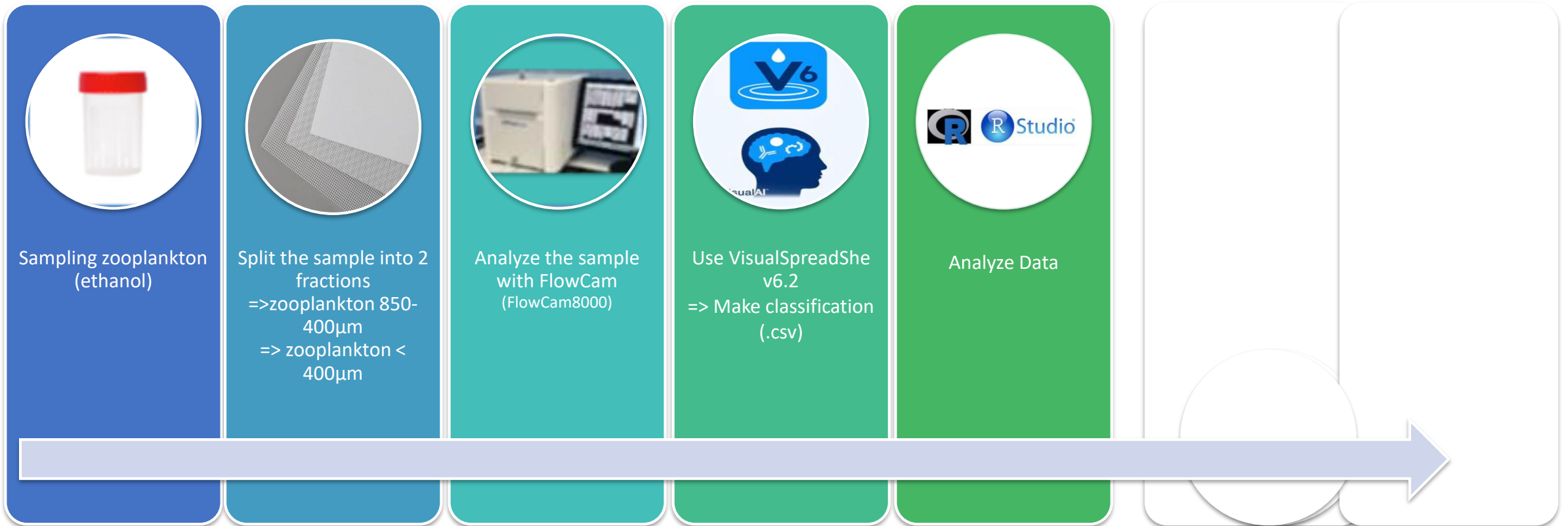
ethanol 99%

FlowCam 8000
850-400 / < 400μm



FlowCam for studying zooplankton communities in artificial lakes

(CEREEP Ecotron Idf UAR 3194)



Configuration du FlowCAM® : Etude de cyanobactéries planctoniques

Sylvia Moreira, INRAE EABX 33612 Gazinet Cestas, ISC XPO

Rapport : https://hal.inrae.fr/hal-04185668v1/file/Rapport_FlowCAM_LASHA_vf.pdf

Echantillon : lac de Parentis-Biscarrosse (40) - fixé au Lugol alcalin 0,5 %

Objectif : classification, comptage et calcul de biovolume

1 Caractérisation de l'échantillon

Objectif : configuration adaptée (cellule de passage, objectif, paramètres d'acquisition, etc.) et préparation des échantillons en amont des mesures pour éviter par ex colmatage

Méthode : Microscope optique -> composition globale, tailles (minimale et maximale), abondance

Traitement : préfiltration (toile nylon 500µm) puis concentration (x30 - ampoule à décanter -72 à 96 h) -> 3 ml

2 Configuration de l'appareil

Intérêt : optimisation l'acquisition car impacte la qualité des images capturées

Accessoires :

- Cellule FOV80 (Field Of View) à large spectre -> échantillon peu concentré
- Objectif x10

Paramètres : Mode Auto-Image (intervalle de temps défini) et 1 ml d'échantillon

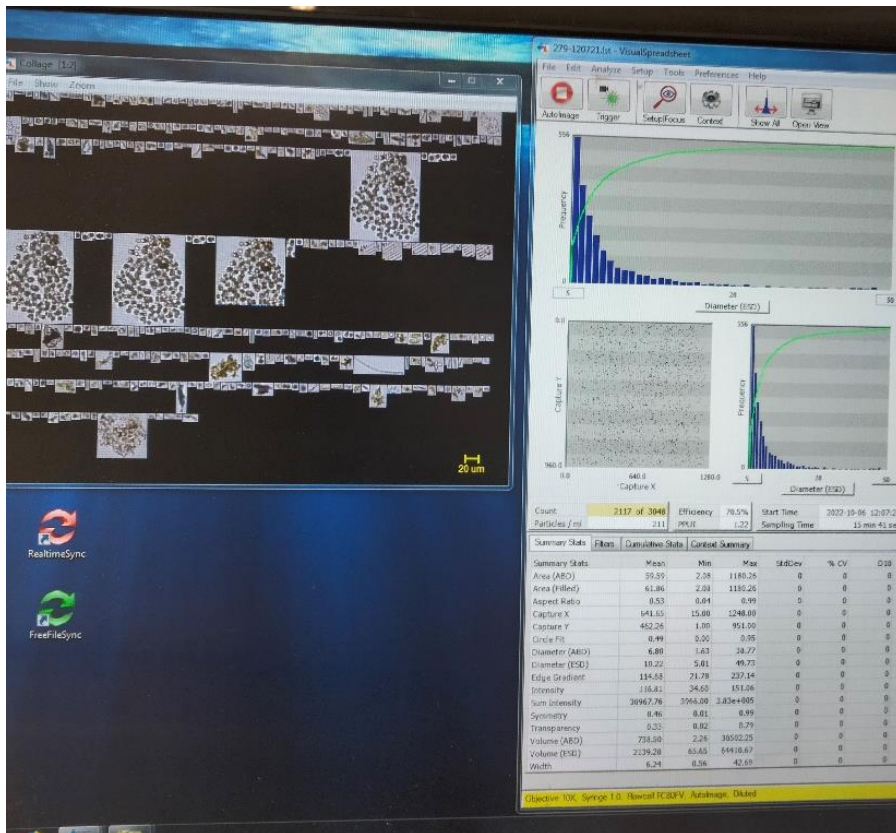
Résultat : efficacité (rapport V imagé / V total) de 65% et temps d'acquisition de 25 min

3 Acquisition puis validation des images capturées

Objectif : 1 échantillon = 1 fichier avec x images capturées -> fichier exploitable pour le traitement

Méthode :

- Nettoyage des fichiers à l'aide de filtre (détritrus, doublons, images floues, etc.)
- Distribution homogène des particules x et y
- Contour de la particule valide -> impact les données morphométries (volume, air, périmètre etc.)



4 Constitution des librairies pour auto-classification des particules

Méthode :

- Banque images de l'ensemble des échantillons
- 1 librairie= 1 taxon
- Images retenues = variabilité intrinsèque (taille, état physiologique, forme) ou extrinsèque (position du taxon, netteté de l'image)
- Sélection du filtre commun
- Définition de la chronologie des librairies du taxon (plus grand intérêt vers le moins d'intérêt)

Résultats : 24 libraires caractérisés par un filtre avec 15 paramètres.

5 Auto-classification

Constat : gros travail de tri à réaliser manuellement car beaucoup de mauvaise classification

Finalité : classification manuelle (chronophage)

6 Calcul de l'abondance et biovolume moyen des cyanos

Diamètres calculés par le logiciel *Visualspreadsheet* (Cf. rapport)

CONCLUSION

Avantages : reproductible, images et librairies manipulables et consultables, augmenter le nombre d'échantillons

Inconvénients : technicité élevé, résolution taxonomique limitée (un seul point de vue par ex), capture de particules non cibles (détritux, bulles, débris, etc.), logiciel fourni insatisfaisant pour traitement (autres logiciels : Zoo/PhytoImage par ex)