

Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]
Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
Band: 17 (1964)
Heft: 2

Artikel: Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique
Autor: Uehlinger, Verena
Kapitel: II: Appareillage et techniques
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-739883>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 18.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

techniques de prélèvement, conservation, concentration, dénombrement et d'enregistrement des résultats complète les rares indications publiées en langue française. Trois annexes se trouvent à la fin de l'étude:

- 1° Un glossaire des termes statistiques utilisés, avec quelques remarques concernant leur emploi;
- 2° Deux systèmes de points distribués au hasard sur une surface circulaire de 25 unités de diamètre;
- 3° Quatre nomogrammes pour la conversion des résultats de dénombrement.

Pour les études méthodologiques nous avons toujours travaillé avec des suspensions de plancton provenant de pêches effectuées dans le lac Léman. Les suspensions artificielles de cultures pures simplifient parfois le problème, mais ne présentent pas l'ensemble des difficultés que comprend le mélange naturel d'un grand nombre d'espèces différentes.

Si l'augmentation de la précision d'une méthode n'est pas toujours nécessaire, il est indiscutable qu'une diminution des frais de travail obtenue par une amélioration de la technique, tout en maintenant la précision au même degré, est d'un intérêt général.

II. APPAREILLAGE ET TECHNIQUES

II. 1. APPAREILLAGES UTILISÉS

Prélèvements:

Bouteille Friedinger de 1 litre, suspendue à un câble qui est marqué à chaque mètre et qui est enroulé sur un treuil.

Transport et conservation:

Flacons cylindriques de 150 ml, avec couvercle en plastic;
Bouteilles de lait de 1 litre avec bouchon en caoutchouc.

Concentration:

- a) Mésofiltration: erlenmeyer de 1 litre, sans fond, muni au goulot d'une petite pièce de soie à blûter; ouverture des mailles = 70μ .
- b) Filtration à membrane: appareil à filtrer en verre, selon Prof. Thiessen; membranes filtrantes « grob » n° 2, Ø 35 mm, Membranfiltergesellschaft Göttingen.
- c) Centrifugation: tubes à centrifuger gradués de 15 ml: centrifugeuses Gerber de 4000 tours/minute.
- d) Décantation: éprouvettes graduées de 20 ml, Ø 12,5 mm.

Chambres à dénombrer:

- a) Selon Utermoehl: chambre tubulaire de 25 ml, chambre à plaques de 2,125 ml et chambre combinée de 50 ml, Zeiss, Oberkochen.
- b) Chambre Kolkwitz de 1 ml.
- c) Chambre Sedgewick-Rafter de 1 ml.

Microscopes:

- Microscope renversé Zeiss, Oberkochen *.
- Microscope normal Ortholux Leitz.

Compteur:

- Compteur multiple à 12 places (3 × 4) Vary-Tally.

II. 2. TECHNIQUES

Les ouvrages décrivant les différentes techniques de préparation des échantillons et des chambres à dénombrer sont peu répandus. Il nous a paru utile de donner le détail des techniques utilisées afin que les critiques énoncées par la suite puissent être basées sur des données explicites et que l'intéressé puisse profiter de nos expériences pratiques.

1) Prélèvement d'un échantillon dans le lac:

- fixer la bouteille ouverte au câble;
- faire descendre la bouteille à la profondeur désirée et l'obturer par le messenger;
- remonter la bouteille fermée et remplir les flacons d'échantillon.

2) Répartition du prélèvement dans les flacons et fixation:

- verser le contenu (ou une partie) de la pêche dans les flacons d'échantillon de 150 ml;
- ajouter aussitôt 2 gouttes de Lugol pour la fixation et 2 gouttes de Lissin, mouillant qui facilite la pénétration du fixateur.

3) Transport et conservation:

- transporter les flacons à l'abri de trop grandes chaleurs et de fortes secousses.
- En été, il est indiqué de préserver les échantillons du soleil;
- conserver les échantillons en chambre froide (à 4° C), ce qui permet de les garder durant plusieurs mois; toutefois, il est nécessaire de rajouter tous les deux mois 2 gouttes de Lugol (le formol ramollit les organismes qui s'agglomèrent ensuite facilement).

* J'adresse mes remerciements à M. E. NOVEL, D^r ès sc., chef du Service d'hydrobiologie et de microbiologie des denrées alimentaires, qui a obligeamment mis à ma disposition un microscope renversé.

Concentration et préparation de la chambre:

4) Chambre tubulaire Utermoehl:

laisser l'échantillon atteindre la température ambiante;

remplir la chambre tubulaire en versant l'échantillon jusqu'à ce que l'eau déborde, puis couvrir rapidement avec la plaque de fermeture (utiliser si possible la « Füllkammer »);

poser la chambre sur une surface absolument horizontale, à l'abri du soleil, de la forte chaleur et de la poussière;

laisser sédimenter durant 18-24 heures (par exemple de 12 h jusqu'à 8 h du lendemain);

poser la chambre complète sur le microscope renversé en évitant les mouvements rapides et les rotations.

(L'évaporation qui se produit par capillarité entre le cylindre et le couvercle peut être évitée en plaçant la chambre sous une cloche, à côté d'un verre de pétri rempli d'eau.)

5) Chambre combinée Utermoehl:

laisser l'échantillon atteindre la température ambiante;

placer le cylindre sur la chambre à plaques, en appuyant pour empêcher l'eau de s'écouler;

remplir l'appareil avec l'échantillon fixé jusqu'à ce que l'eau déborde (éventuellement avec le cylindre à remplir « Füllkammer »), puis couvrir rapidement avec la plaque de fermeture;

il est nécessaire de poser le tout avec précaution sur un support bien horizontal, à l'abri du soleil, de la forte chaleur et de la poussière; éviter également une évaporation trop forte;

laisser sédimenter durant 18-24 heures;

faire glisser la partie supérieure de l'appareil sur la plaque de verre de mêmes dimensions que la chambre à plaques, en faisant suivre immédiatement la lamelle;

poser la chambre sur le microscope en évitant les mouvements rapides et surtout les rotations.

6) Concentration en éprouvette graduée:

remplir une éprouvette avec 20 ml de l'échantillon fixé et soigneusement brassé; la poser bien verticalement sur une étagère à l'abri du soleil et de la forte chaleur;

laisser sédimenter durant 18-24 heures;

à l'aide de la trompe à vide, munie d'un siphon, enlever l'eau jusqu'au volume désiré et remettre soigneusement le sédiment en suspension (enlever un peu plus d'eau et compléter au volume désiré).

- 7) Concentration par centrifugation :
 - remplir deux tubes à centrifuger gradués de 15 ml d'échantillon fixé;
 - centrifuger pendant 10 minutes à 4000 tours/minute et laisser arrêter la centrifugeuse sans freiner;
 - laisser resédimer un éventuel remous durant 30 minutes environ;
 - à l'aide de la trompe à vide munie d'un siphon, enlever l'eau jusqu'au volume désiré (en enlever un peu plus avec le siphon et compléter ensuite au volume exact: 0,8 ml pour la chambre Sedgewick-Rafter, ou 1,5 ml pour la chambre à plaque) et remettre le sédiment en suspension;
 - transvaser avec une pipette la suspension de l'un des tubes dans l'autre et mélanger.
- 8) Concentration par filtre à mésoplancton :
 - fixer une pièce de soie à blûter sous l'entonnoir;
 - filtrer 1 litre d'eau en tenant le goulot immergé dans un récipient contenant de l'eau filtrée jusqu'à 2 cm au-dessus du filtre (on évite ainsi l'écrasement des organismes contre le filtre);
 - laver le filtre avec le filtrat dans 100 ml d'eau filtrée (l'eau distillée provoque facilement des chocs hypotoniques et est à déconseiller pour les colonies délicates);
 - centrifuger 10 ml de cette suspension pendant 5 minutes à 2000 tours-minute;
 - décanté au siphon jusqu'à 1 ml dont on remplit la chambre Kolkwitz.
- 9) Préparation de la chambre Kolkwitz et de la chambre à plaques Utermoehl :
 - prélever de la suspension concentrée 1 ml, ou 2,125 ml respectivement, avec la pipette et remplir la chambre en évitant de créer un courant circulaire dans la chambre (cf. JAVORNICKY, 1958, sur remplissage par « trop-plein »);
 - couvrir aussitôt la chambre avec la lamelle sans laisser de bulles d'air;
 - placer la chambre sur le microscope en évitant les mouvements de rotation et laisser sédimenter pendant 15 minutes.
- 10) Préparation de la chambre Sedgewick-Rafter :
 - placer en diagonale la lamelle de fermeture sur la chambre;
 - prélever avec une pipette 1 ml de la suspension concentrée et soigneusement mélangée, et l'introduire par les deux ouvertures de la chambre (cf. STANDARD METHODS, 1955);
 - amener la lamelle pour fermer la chambre et laisser sédimenter pendant 8 à 10 minutes;
 - poser la chambre sur le microscope sans la bousculer.
- 11) Filtration par membrane filtrante (ultrafiltration) :
 - préparer la membrane filtrante par une courte ébullition dans de l'eau distillée;
 - monter l'appareil en disposant sur le filtre en porcelaine un filtre de soie à blûter et par-dessus celui-ci la membrane encore humide;

connecter l'appareil avec la trompe à vide;
remplir le cylindre avec 10 ml d'échantillon fixé, à l'aide d'une pipette;
faire le vide jusqu'au moment précis de la disparition de l'eau;
rétablir la pression et éventuellement filtrer un deuxième volume de la même manière;
aspirer jusqu'à dessiccation complète;
sécher le filtre à l'étuve à 60° C durant 30 minutes (la membrane se rétrécit un peu);
supprimer les bords du filtre dépourvu de sédiment, dépassant la largeur d'une lame microscopique;
déposer une goutte d'alcool benzylique sur une lame et placer le filtre de façon à couvrir l'alcool benzylique;
déposer sur le filtre une petite goutte d'alcool benzylique;
ajouter en quantité suffisante le baume du Canada et couvrir d'une lamelle (32×24 mm);
laisser reposer la préparation pendant 24 heures au minimum (de très fines bulles d'air peuvent se former, mais se résorbent par la suite).

12) Observation au microscope normal:

L'objectif se trouve au-dessus de la chambre à dénombrer et l'observation du sédiment formé se fait à travers le couvre-objet et le liquide surnageant. Avec un bon microscope, l'observation d'organismes jusqu'à 20 μ minimum est possible (objectif 10× ou 24×, oculaire 6×, 8× ou 12×). La détermination exacte de certains organismes de cette grandeur est sujette à caution.

13) Observation au microscope renversé:

La position de l'objectif au-dessous de la préparation permet d'observer le sédiment avec de forts grossissements (jusqu'à l'immersion) dans les chambres à fond très mince (selon Utermoehl). Pour compter le nannoplancton, cette méthode est la meilleure.

14) Dénombrement dans la chambre entière:

- a) une seule espèce: Pour dénombrer un organisme, le champ visuel parcourt systématiquement toute la surface de la chambre, soit horizontalement soit verticalement. UTERMÖEHL (1927) propose, pour faciliter cette opération, un oculaire à réticule réglable dans lequel passent tous les organismes à dénombrer.
- b) plusieurs espèces: On peut compter simultanément trois espèces au maximum. Le risque d'erreur augmente fortement avec le dénombrement simultané de plusieurs espèces; il est souvent préférable de compter chaque espèce l'une après l'autre. D'autre part, il n'est pas indiqué de compter les espèces fréquentes en même temps que les espèces rares.

15) Dénombrement dans une partie de la chambre:

Lorsque certains organismes sont trop nombreux dans le sédiment, le dénombrement de la chambre entière ne peut plus s'effectuer. Dans ces conditions, l'échantillonnage peut s'obtenir de deux façons:

- a) systématiquement: en comptant les organismes qui se trouvent à l'intérieur d'une bande horizontale ou verticale, ou à l'intérieur de quatre bandes diagonales à travers le sédiment (UTERMOEHL, 1958);
- b) au hasard: en comptant les organismes faisant partie d'un certain nombre d'aires réparties sur la surface entière de la chambre.

16) Enregistrement:

- a) valeur totale: au cours du recensement, la présence de chaque individu contrôlé est marquée par une coche. Un compteur mécanique enregistre ces coches (une unité par individu) et en donne le total. Avec un compteur multiple, on peut enregistrer simultanément plusieurs espèces.
- b) répartition des fréquences: elle s'obtient en sous-divisant la surface totale de la chambre en aires ou unités de surface; soit en champs visuels circulaires, soit en unités de surface carrées ou circulaires, obtenus par un réticule oculaire ou par un réticule placé sur la chambre. L'on peut ainsi noter la fréquence des organismes rencontrés dans chaque unité, ce qui permet un contrôle statistique de la dispersion du sédiment. L'utilisation d'un compteur multiple où chaque touche représente une fréquence, permet le dénombrement rapide d'une espèce.
- c) carte de sédimentation: la surface entière est divisée en carrés (par exemple en millimètres carrés) par une fine plaque réticulée placée sous la chambre à dénombrer. Les fréquences observées dans chaque carré sont notées et reportées sur un plan complet de la préparation.

III. ANALYSE GÉNÉRALE DU DÉNOMBREMENT

III. 1. ANALYSE DES ÉTAPES

L'échantillon d'eau prélevé dans le lac subit plusieurs manipulations jusqu'au moment du comptage. Chacune de ces manipulations apporte une source de variabilité et, par défaut de méthodes parfaites, les erreurs systématiques ou non, de la manipulation même.

Toute la préparation se fait en six étapes différentes (fig. 1):

- a) le prélèvement d'un échantillon dans le lac, à la bouteille,