

Analyse générale du dénombrement

Objektyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **17 (1964)**

Heft 2

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

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,

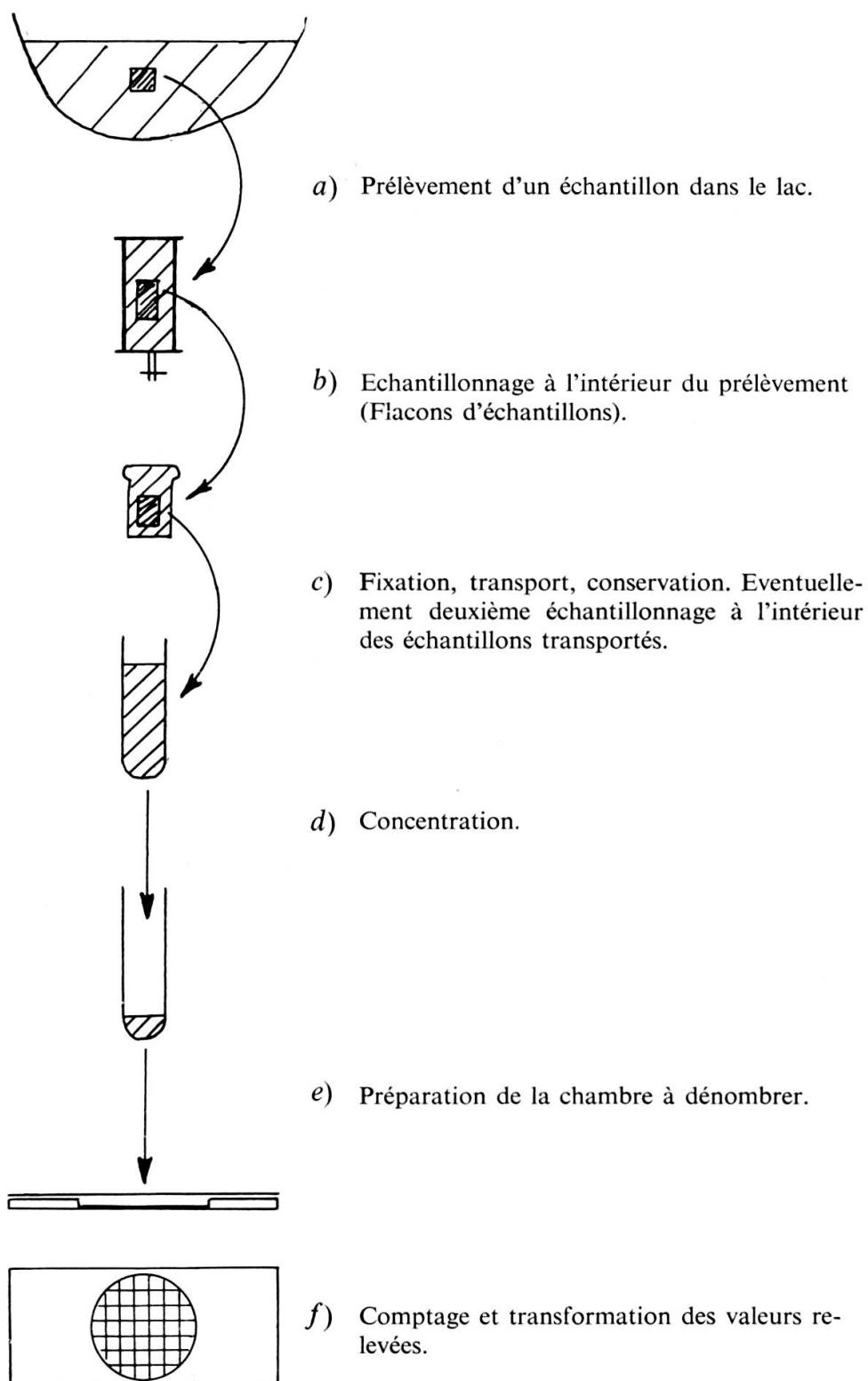


Fig. 1

Étapes de la préparation du dénombrement

- b) l'échantillonnage à l'intérieur de ce prélèvement dont on remplit un ou deux flacons d'échantillon,
- c) la fixation, le transport et la conservation de ces échantillons,
- d) la concentration * de cet échantillon, soit en entier, soit en partie, par sédimentation, centrifugation ou filtration,
- e) la préparation de la chambre à dénombrer,
- f) le comptage d'un ou de plusieurs organismes dans cette chambre.

La méthode de la chambre tubulaire selon Utermoehl permet de ramener les étapes d) et e) en une seule opération. L'étape d) peut, suivant le degré trophique de l'eau, ne pas être nécessaire. Toutefois, pour le degré trophique du Léman par exemple, la concentration est très souvent indispensable, à l'exception de certaines fleurs d'eau. Dans le cas de la méthode de filtration par membrane, l'étape d) comprend la filtration même, l'étape e) la préparation du filtre pour le comptage. Les sources de variabilité et les erreurs introduites à chaque étape sont résumées dans le tableau 1. La distribution fortuite ou non fortuite des organismes dans le milieu où s'opère un échantillonnage impose une variabilité inévitable.

L'analyse de variance permet, d'une part, d'en déterminer l'importance et la nature (fortuite ou non) et, d'autre part, de déceler les erreurs systématiques inhérentes aux techniques. Les étapes qui peuvent introduire des erreurs importantes sont celles de la fixation, du transport et de la conservation, ainsi que celle de la préparation de la chambre à dénombrer.

III. 2. PRÉCISION DÉSIRABLE DES MÉTHODES

D'après LUND, KIPLING & LE CREN (1958), « la plupart des observations expérimentales et écologiques concernent des successions de générations ou des changements de densité de l'ordre de 100%. Dans de telles recherches une méthode qui peut évaluer les densités avec une précision de $\pm 50\%$ est adéquate, et tout temps utilisé pour augmenter cette précision est largement gaspillé ». Il est évident que le temps nécessaire pour augmenter la précision coûte cher, surtout puisque l'on sait que la précision n'augmente qu'avec la racine carrée du temps utilisé. Sans vouloir augmenter la précision de l'information, l'augmentation de précision des méthodes, par contre, permet un gain appréciable du temps consacré à l'opération.

Une autre remarque concerne les 50 à 100% de précision utiles: l'étude d'un développement biologique implique presque toujours des progressions exponentielles; dans ce cas des estimations avec un coefficient de variation allant jusqu'à 100%

* La « concentration » désigne dans tout le présent travail l'action de rendre la suspension plus concentrée. La « densité » désignera le nombre d'organismes par unité de volume.

TABLEAU 1

Sources de variabilité et d'erreurs dans les différentes étapes de la préparation et du dénombrement

Etape	Source de variabilité	Source d'erreurs
a) Prélèvement de l'échantillon	Distribution fortuite ou non-fortuite des organismes (stratifications et bancs)	techniques sélectives
b) Echantillonnage dans le prélèvement	Ensemble de base distribué au hasard	agglomérations
c) Fixation, transport, conservation		perte de volume mauvaise fixation destruction sélective par le transport ou la conservation brassage incomplet effritement des colonies erreurs de pipettage
d) Concentration de l'échantillon	Variabilité au hasard à l'intérieur des limites techniques	sédimentation incomplète imprécisions dans la réduction du volume
e) Remplissage de la chambre à dénombrer	Variabilité dans les limites techniques, au hasard	erreurs de pipettage technique déficiente du remplissage de la chambre (bulles d'air par exemple)
f) Comptage	Répartition selon Poisson	dispersion irrégulière du sédiment identification difficile des organismes sélection des champs de dénombrement facteurs de conversion

peuvent suffire. Par contre, il y a des cas où une plus grande précision est souhaitable; par exemple l'étude de migrations diurnes, saisonnières ou répondant aux variations climatiques, ainsi que la détermination stratigraphique, exigent des méthodes très précises.

III. 3. REMARQUES SUR LE DÉNOMBREMENT DES FORMES COLONIALES

GILBERT (1942) constate dans le sédiment d'une chambre à dénombrer distribué au hasard, que les colonies (« occurrences ») sont également distribuées selon les lois du hasard (loi de Poisson), mais que le nombre total d'individus ne suit aucune loi

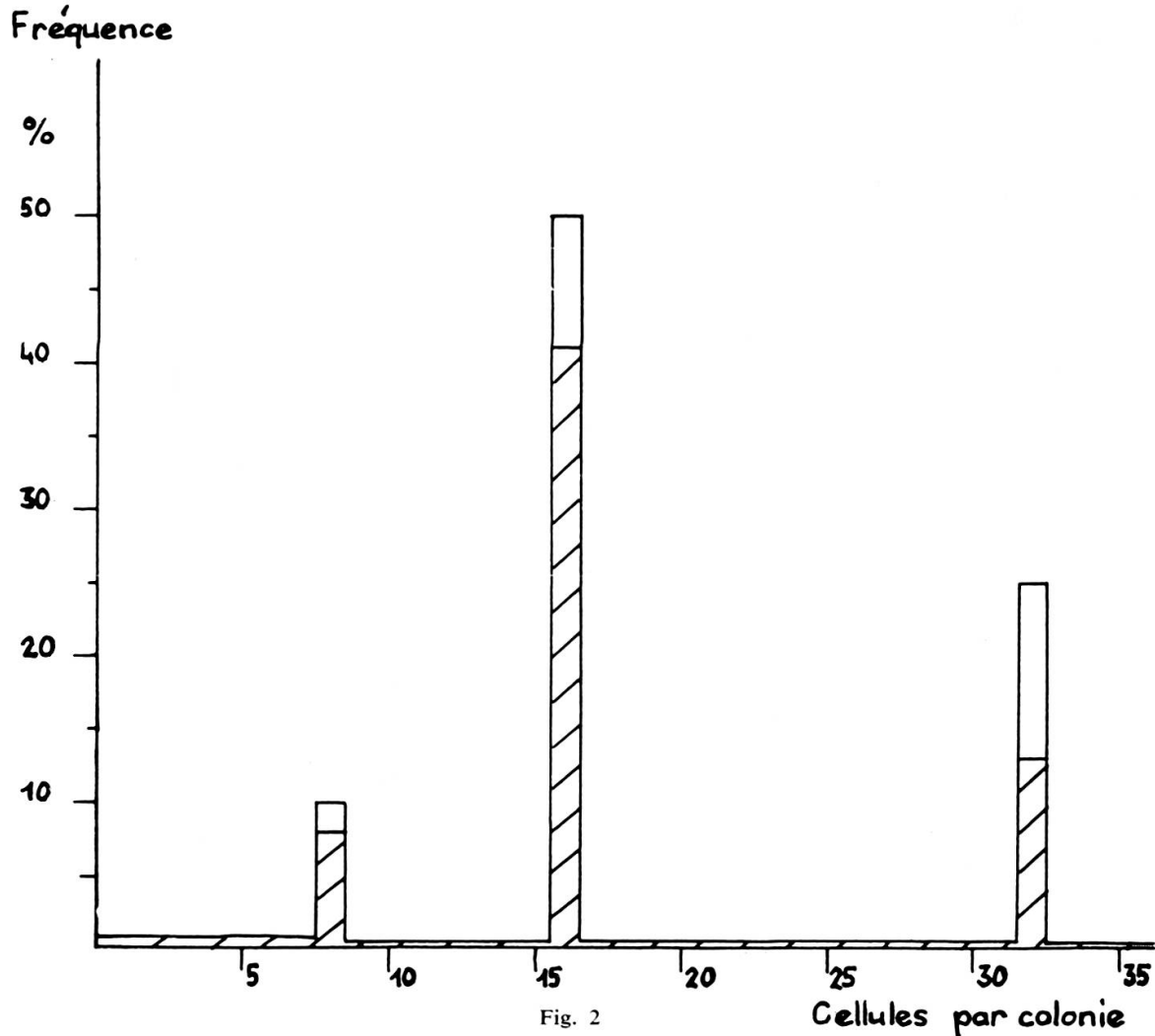




Fig. 2

Diagramme des fréquences.

Nombre de cellules par colonie de *Tabellaria fenestrata*, en période de forte croissance (dénombrement de 100 colonies)

-  Colonies en voie de division
-  Colonies à cellules semblables

prédictible. Le procédé le plus utilisé consiste en un dénombrement des colonies, et en une évaluation du nombre moyen d'individus par colonies. Toutefois, ce procédé doit être considéré avec prudence et n'est acceptable que dans certaines limites:

comme le montre le § VI. 2.4, le poids ou la forme de l'organisme influence sa distribution dans le sédiment. Il est ainsi possible que des colonies de dimensions très variables n'aboutissent que rarement à une distribution fortuite. D'autre part, la notion de « nombre moyen d'individus par colonie » est à traiter avec précaution: déjà LUND, KIPLING & LE CREN (1958) constatent pour les *Asterionella* que la courbe de fréquences du nombre d'individus par colonie est bimodale avec des sommets à 4 et à 8 cellules/colonie. Nos comptages des colonies de *Tabellaria* en période de forte croissance, indiquent une courbe de fréquence avec des sommets très élevés

TABLEAU 3

Dénombrements répétés (A et B) des cénobes d'Eudorina elegans dans quatre séries de quatre échantillons différents (chambre combinée)

Prélèvement	1		2		3		4	
Dénombrement	A	B	A	B	A	B	A	B
Série I	3	14	2	11	2	13	4	11
Série II	4	11	2	11	6	13	6	16
Série III	2	5	1	10	3	16	9	10
Série IV	2	20	7	10	1	19	4	10

à 8, 16, 32 et même 64 cellules/colonie. Les colonies avec des nombres intermédiaires possèdent des cellules de largeur distincte, en voie de division (fig. 2). Les divisions synchrones de toutes les cellules d'une chaîne aboutissent à une distribution dont la « moyenne » n'aurait que peu de sens. Ce n'est qu'au sommet du vieillissement de l'espèce qu'une désintégration des colonies provoque une répartition plus régulière des fréquences.

Par ailleurs, en dénombrant les individus par colonies, leurs dimensions sont négligées. Ce problème, qui est le même pour toutes les techniques de dénombrement des espèces à dimensions variables, a été résolu partiellement par la technique de mesure des aires de projection occupées par chaque individu (cf. STANDARD METHODS, 1955).

Une autre difficulté est celle des algues formant des cénobes. Pendant une période de croissance prolongée le cénobe augmente de volume et donne brusquement naissance à un grand nombre de jeunes cénobes. La technique de conservation des suspensions peut influencer la vitesse de dissociation des cénobes (par ramollissement de la gelée). Ce cas est mis en évidence dans l'expérience suivante: dans 16 échantillons contenant des cénobes (*Eudorina elegans*) au stade *palmella*, deux dénombrements successifs A et B sont effectués à deux mois d'intervalle. Le tableau 3 donne le nombre total de cénobes trouvés dans la chambre à dénombrer.

Le premier dénombrement *A* présente en moyenne 3,6 cénobes/chambre, le dénombrement *B* 12,5 cénobes/chambre. L'observation microscopique confirme une désintégration des colonies.

Les cellules de certaines colonies filamenteuses (Cyanophycées, Diatomées, etc.) sont difficiles à compter sans traitement préalable. Il est plus facile de mesurer ces filaments. Prenons le cas de *Melosira islandica*: les mesures faites dans quatre sédi-

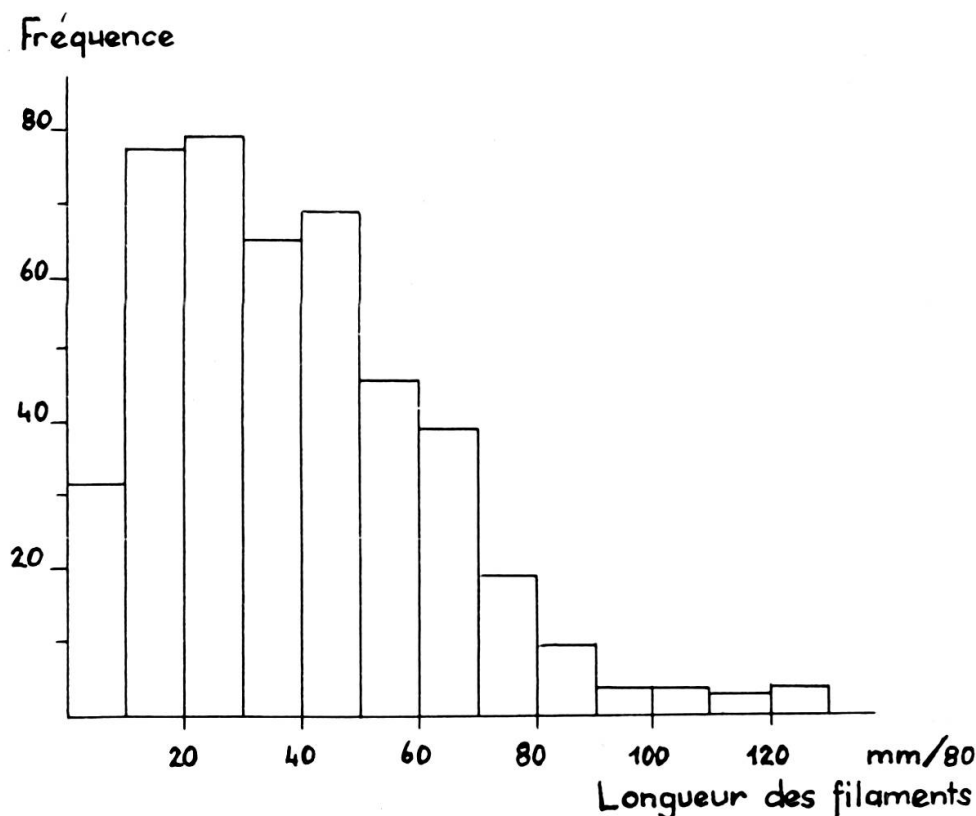


Fig. 3

Diagramme de fréquences des longueurs des filaments de *Melosira islandica*.
Somme de quatre échantillons

ments de la même pêche (452 filaments) aboutissent à une répartition des fréquences plus ou moins continue (les longueurs des filaments sont exprimées en unités micrométriques représentant 1/80 de millimètre et sont groupés en classes de 10 unités). La longueur moyenne $\bar{x} = 39,34$ unités, c'est-à-dire 0,5 mm environ (fig. 3). Il est possible qu'en période de forte croissance, la courbe soit plus étalée, accusant éventuellement plusieurs sommets.

Ces différents points montrent que l'énumération des formes coloniales présente des problèmes spécifiques qui sont à traiter suivant le but recherché. Des évaluations de production exigent des méthodes volumétriques ou gravimétriques supplémentaires (éventuellement colorimétrie, quantité d'une substance spécifique, etc.). Une

étude comparative se contente des valeurs relatives données par le dénombrement soit des colonies, soit des individus.

Dans ces dernières études, il est cependant nécessaire de connaître la résistance des colonies à la dislocation imposée par la préparation du dénombrement.

Un exemple est donné par l'expérience suivante: dans quatre suspensions de 150 ml provenant de la même pêche, un échantillon de 20 ml est prélevé et examiné par la méthode de l'ultrafiltration. Cette opération est répétée quatre fois successivement dans chaque suspension. Les résultats des dénombrements, consignés dans le tableau 4.1, démontrent que par la répétition du brassage préalable à chaque prélèvement, le nombre de colonies par millilitre augmente (cf. analyse de variance 1^o,

TABLEAU 4.1

*Résistance des colonies de Fragilaria crotonensis à l'ultrafiltration
Quatre séries de quatre prélèvements après brassage*

Dénombrement	Suspension	Nombre de brassages avant la filtration			
		1	2	3	4
1 ^o Nombre de colonies par millilitre	I	22	14	14	21
	II	19	16	21	26
	III	15	15	22	21
	IV	15	16	18	19
2 ^o Nombre de cellules dans dix colonies	I	179	154	130	162
	II	190	147	166	133
	III	180	144	142	140
	IV	192	166	152	157
3 ^o Nombre de cellules par millilitre = 1 ^o × 2 ^o	I	394	216	182	340
	II	261	235	349	346
	III	275	223	316	298
	IV	278	270	272	306

tableau 4.2) tandis que le nombre de cellules par colonies diminue significativement (analyse de variance 2^o, tableau 4.2). Si l'on multiplie les résultats des deux dénombrements, le nombre de cellules observées par millilitre est raisonnablement égal dans tous les échantillons. Cette expérience, prévue initialement pour tester la méthode de l'ultrafiltration, prouve la parfaite reproductibilité des résultats avec la méthode de l'ultrafiltration; par contre, le brassage de la suspension aboutit à un effritement partiel des colonies de *Fragilaria crotonensis*.

TABLEAU 4.2

Analyses de variance des valeurs du tableau 4.1
(la variance entre séries est partout insignifiante et n'est pas mentionnée)

Dénombrement	Source de variance	DL	Variance	$F_{\text{répétitions}}$
1° Nombre de colonies	Répétitions	3	28,92	3,4 ($p = 0,07$)
	Reste	9	8,42	
2° Nombre de cellules dans dix colonies	Répétitions	3	1306,4	9,8 ($p < 0,01$)
	Reste	9	133,1	
3° Nombre de cellules par millilitre	Répétitions	3	5498	1,98 ($p = 0,19$)
	Reste	9	2780	

La résistance à l'effritement est spécifique et doit être déterminée à nouveau pour chaque espèce, ou même pour différents stades de la même espèce. Nous avons comparé la résistance de *Fragilaria crotonensis*, d'*Asterionella formosa* et de *Tabellaria fenestrata* dans une série de 16 prélèvements d'une même pêche. Chaque prélèvement est examiné deux fois: 6 à 8 semaines de conservation et un deuxième brassage distinguent le deuxième dénombrement du premier (cf. tableau 8.1, § IV. 2.2). Les différences entre les deux dénombrements sont examinées par le test de Student (tableau 5):

TABLEAU 5

Contrôle de la différence entre deux dénombrements successifs dans seize prélèvements

	<i>Fragilaria</i>	<i>Asterionella</i>	<i>Tabellaria</i>
$t = \frac{\bar{d}\sqrt{N}}{s}$	4,53	1,67	0,78
Degré de liberté	15	15	15
p	< 0,001	> 0,05	> 0,05

Fragilaria présente une différence significative, c'est-à-dire un nombre plus élevé de colonies dans le deuxième dénombrement: *Asterionella* et *Tabellaria*, par contre, ne présentent pas de différence significative. Les colonies de *Fragilaria*

semblent donc plus fragiles et plus sujettes à l'effritement par nos méthodes de conservation et de préparation du dénombrement. Au cours de nos études suivantes du dénombrement, il a été tenu compte des corrections nécessitées par le facteur de bris des formes coloniales. Il est évident que les exemples donnés ne sont valables que dans le cadre du problème abordé et que chaque nouvelle étude exige un effort semblable.

IV. PRÉLÈVEMENT QUANTITATIF ET ÉCHANTILLONNAGE DANS LE PRÉLÈVEMENT

IV. 1. PRÉLÈVEMENT QUANTITATIF

De nombreux auteurs (ROBERT 1922, DIETERICH & STEINECKE 1955) ont constaté la grande incertitude que représente la collection quantitative du plancton par le moyen du filet. Pour un échantillonnage quantitatif l'utilisation d'un récipient de volume fixe, muni d'un mécanisme spécial d'ouverture et de fermeture, tel que la bouteille Friedinger, fournit des résultats plus valables. La bouteille Friedinger de un litre de volume s'est révélée utile dans l'étude présente.

Dans quelle mesure un litre, prélevé avec la bouteille, représente-t-il le milieu original ? Cette question pose un double problème :

- 1^o le problème technique concernant la variabilité entre prélèvements effectués dans un milieu supposé fortuit quant à la répartition des organismes,
- 2^o le problème de la dispersion fortuite ou non des organismes dans le lac ou, au moins, dans la partie choisie.

Au premier problème, on peut répondre par une analyse statistique de prélèvements répétés dans des conditions précises. Le second problème est plus délicat : le Léman, et le Petit-lac en particulier, n'est pas stagnant. BETANT & PERRENOUD (1932) ont établi des cartes détaillées des courants principaux moyens de la partie occidentale du lac de Genève. Dans les régions « pélagiques » (> 8 m de profondeur), BETANT & PERRENOUD (1932) indiquent des courants moyens de 3 cm/sec environ. Durant l'intervalle de 3 minutes (intervalle minimum entre deux prélèvements successifs avec une même bouteille), l'eau s'est déplacée. Même si les valeurs absolues fournies par Bétant et Perrenoud peuvent être sujettes à certaines réserves techniques, il en ressort clairement que deux prélèvements successifs au même endroit géographique ne se font pas dans le même volume hydrographique. Cependant, ces courants assurent dans le bassin du Petit-lac une répartition assez régulière des organismes suspendus passivement, dont l'équilibre est assuré par divers mécanismes biologiques