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: VI: Le dénombrement
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-739883

Nutzungsbedingungen
Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 10.08.2025

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

VI. LE DÉNOMBREMENT

Le dénombrement ou comptage même consiste en ceci: comptage des organismes (individus ou colonies) d'une ou de plusieurs espèces qui se trouvent dispersés sur le fond de la chambre à dénombrer (ou sur la membrane filtrante éclaircie). Cette opération comprend l'observation et la détermination de chaque individu, l'examen systématique de tout le sédiment (ou d'une partie définie de celui-ci), l'enregistrement des observations et, enfin, la transformation des chiffres obtenus en valeurs comparables à d'autres observations (fig. 4).

VI. 1. L'OBSERVATION DU SÉDIMENT

VI. 1.1. *La carte du sédiment*

Pour examiner systématiquement le sédiment, on « balaie » toute la préparation avec le champ de l'objectif. Le risque d'omettre des organismes se trouvant à la limite du champ visuel, est grand, ainsi que celui de compter deux fois ces mêmes organismes par un déplacement insuffisant de la préparation. Ce risque est fortement diminué par l'utilisation d'un réticulum disposé dans l'oculaire, qui délimite le champ d'observation à une bande plus ou moins large dans le centre du champ visuel (UTERMOEHL 1927, WHIPPLE, ocular micrometer, STANDARD METHODS 1955). Ce système permet de faire la somme des organismes observés, sans toutefois fournir une image de la dispersion des individus dans tout le sédiment. La division de toute la surface en aires d'observation fixes, au moyen d'un réticulum disposé sous ou sur la préparation, facilite la confection d'une copie ou « carte » presque fidèle du sédiment; la « carte de dispersion » peut être établie pour chaque organisme dans la chambre à dénombrer. L'emploi d'une telle grille est d'usage pour les hémacytomètres, et a été repris par JAVORNICKY (1958) pour ses études du sédiment dans les chambres à dénombrer. Suivant le grossissement microscopique utilisé, et éventuellement suivant la concentration du sédiment, la réticulation est choisie plus ou moins fine. Travaillant avec l'objectif 10× et oculaires 12×, une réticulation millimétrique est appropriée.

L'établissement d'une carte est nécessaire pour l'étude de la distribution du sédiment. Une personne travaillant seule fait bien d'observer le sédiment de façon monoculaire; un œil est libre pour l'enregistrement des résultats. (Disposer d'une aide à laquelle les chiffres sont dictés, est beaucoup moins fastidieux !)

Les répartitions de fréquences ainsi obtenues suffisent en général pour lec ontrôle qualitatif de la dispersion du sédiment dans la chambre. L'enregistrement des fréquences observées dans chaque unité de surface est réalisable, soit à la main par le système des coches, soit à l'aide d'appareils à compter (cf. fig. 4).

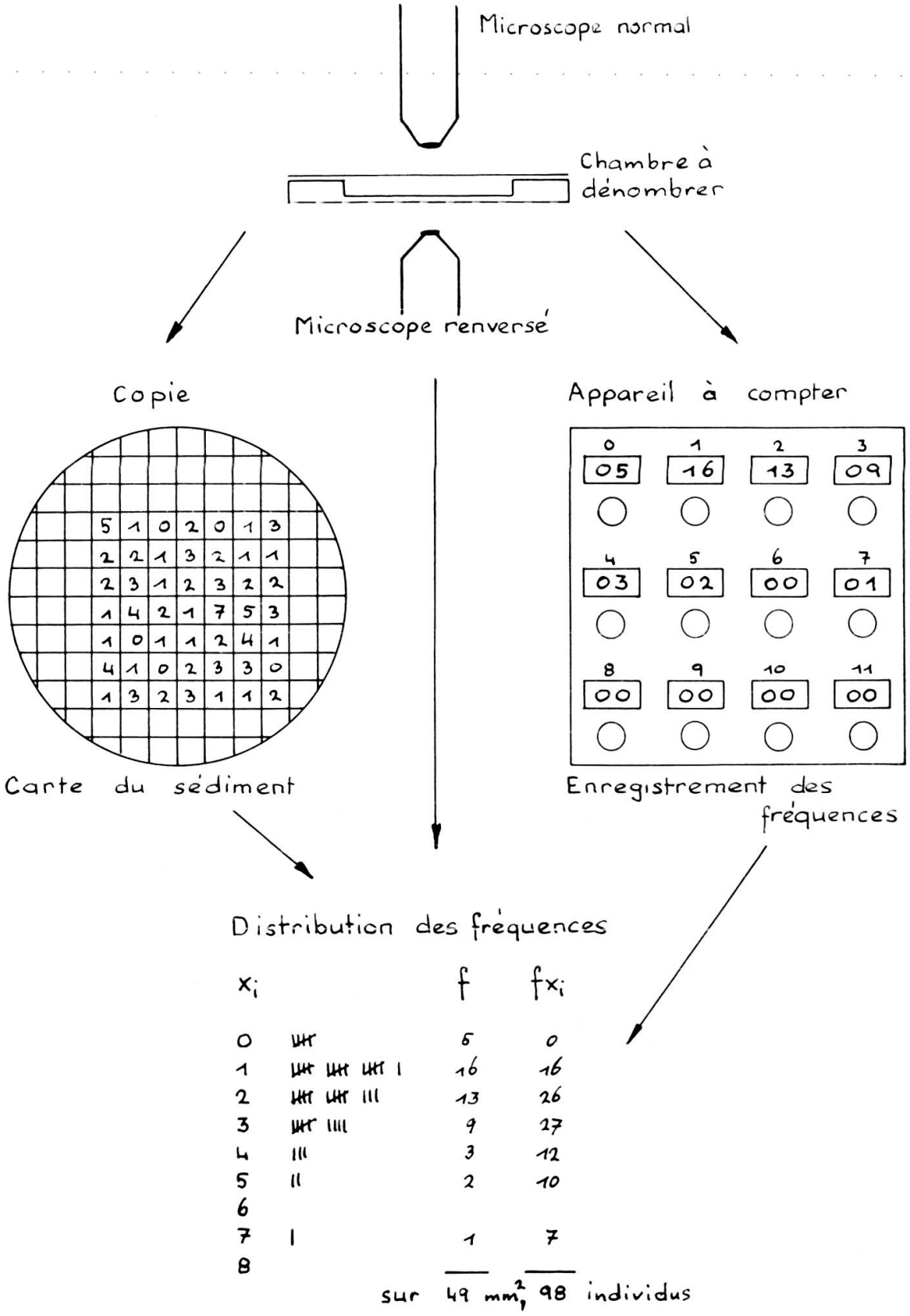


Fig. 4

Procédés de comptage

VI. 1.2. *Enregistrement mécanique*

L'enregistrement des fréquences est facilité par les appareils à compter: enregistreurs simples à un compteur pour les totaux, ou enregistreurs multiples, à plusieurs compteurs, pour les fréquences. Différentes marques se trouvent sur le marché: pour notre travail, le Vary-Tally (Veeder-Root Inc., U.S.A.) à 3×4 compteurs s'est montré un excellent auxiliaire. Les fréquences exceptionnelles, dépassant les possibilités de l'enregistreur, rencontrées par exemple dans les cas d'agglomération, seront notées à part à la main.

Du point de vue pratique, les vis du chariot de la platine sont en général disposées du côté droit du microscope; l'observateur déplace régulièrement la préparation avec la main droite et enregistre les fréquences observées dans chaque unité de surface avec la main gauche sur l'enregistreur. Si les touches du compteur correspondent toujours aux mêmes fréquences, un certain automatisme est rapidement atteint. Par le travail monoculaire, le compteur peut être surveillé sans déplacement considérable des yeux; toutefois, la détermination délicate de certains individus nécessite le travail binoculaire.

Le dénombrement d'une partie seulement de la surface, dans le cas d'une densité élevée du sédiment, implique la mesure exacte de l'aire examinée. Sans aucune réticulation ni dans l'oculaire, ni sur la chambre, le champ visuel sert d'unité de surface, après avoir été mesuré lui-même. La précision de cette méthode est incertaine, parce que:

a) les organismes se trouvant sur les bords du champ visuel sont difficiles à examiner;

b) l'erreur de mesure du diamètre est élevée au carré dans le calcul de la surface du champ, et un petit écart fausse déjà considérablement les facteurs de transformation, selon le calcul suivant.

Posons:

rayon réel du champ $= r_2$
rayon rétréci du champ $= r_1$,

alors la différence $\Delta = r_2 - r_1$.

Pour les surfaces $S_1 = r_1^2 . \pi$

et $S_2 = r_2^2 \cdot \pi = (r_1 + \Delta)^2 \cdot \pi$.

on trouve une différence $S_2 - S_1 = \pi \{ (r_1 + \Delta)^2 - r_1^2 \} = \pi (2 r_1 \Delta + \Delta^2)$.

Comme $\Delta^2 << 2 r_1 \Delta$,

on obtient $S_2 - S_1 \cong 2 \pi r \Delta \cong 6 r \Delta$.

Dans l'appréciation de la surface observée, une erreur de mesure du rayon du champ est donc multipliée par un facteur égal à six fois le rayon de ce champ.

Les aires d'un réticule oculaire ou d'un réticule disposé sous la préparation sont plus faciles à mesurer et introduisent une erreur moins importante.

VI. 1.3. *La transformation des résultats*

En dénombrant le sédiment entier, il suffit de multiplier le résultat avec le facteur de concentration, pour obtenir la densité initiale de la suspension. Ce facteur de concentration est à multiplier par un deuxième facteur, dit « de fraction », dans le cas d'un dénombrement d'une partie seulement du sédiment. Si cette partie représente une fraction relativement simple de la surface entière, le calcul est facile. Si, par contre, le dénombrement est interrompu au moment où un nombre suffisant d'organismes est dénombré (cf. § VII, VII. 2), la conversion de la fraction de surface devient laborieuse.

Des nomogrammes construits une fois pour toutes, facilitent ce travail. Les nomogrammes peuvent être construits de façon à contenir le facteur de concentration également:

en abscisse on trace la surface des édiment et en ordonnée le volume d'eau non concentrée auquel correspond la surface de sédimentation. (Cf. Annexe III,: Nomogrammes construits pour différentes chambres à dénombrer.)

Les surfaces de sédimentation des différentes chambres à dénombrer varient très fortement:

TABLEAU 20

Surfaces de sédimentation des chambres à dénombrer

Chambre à dénombrer	Surface de sédimentation
Chambre Sedgewick-Rafter	10 cm^2 = 1000 mm^2
» Kolkwitz	380 mm^2
» tubulaire Utermoehl	500 mm^2
» combinée »	500 mm^2 *2
» à plaques »	527 mm^2 *2
Filtre à membrane, monté en préparation	330 mm^2 *1

*1 La surface de sédimentation de la membrane filtrante montée en préparation (ϕ 20,5 mm) est plus petite que l'ouverture filtrante de l'appareil (ϕ 22 mm), par suite d'une contraction pendant la dessication de la membrane.

*2 La chambre à plaques a un diamètre de 25,9 mm; le cylindre de la chambre combinée est un peu plus étroit (ϕ 25 mm) pour éviter que les organismes se déposent

sur le petit bord formé dans une chambre mal ajustée, au courant de la sédimentation. Il en résulte que le sédiment est moins concentré à la périphérie de la chambre (fig. 6). On peut calculer la surface de sédimentation réelle, correspondant à la densité à l'intérieur de la chambre, en comparant une partie déterminée du dépôt (fig. 5) avec le contenu entier de la chambre, selon l'exemple suivant.

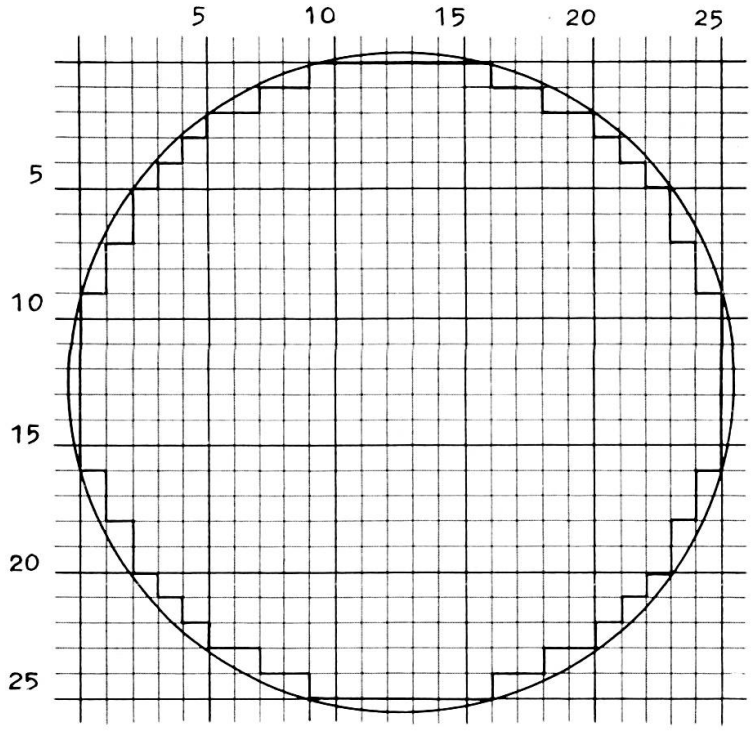


Fig. 5
Surface de sédimentation de la chambre à plaques. Quadrillage en mm².
Délimitation de 489 mm² intérieurs à la chambre.

Estimation de la surface de sédimentation correspondant au volume à sédimenter dans la chambre combinée:

Surface complète: $S_1 = 527 \text{ mm}^2$
Surface délimitée par le quadrillage: $S_2 = 489 \text{ mm}^2$.

Si a = nombre d'organismes sur 489 mm²,

et T = nombre total d'organismes dans le sédiment,

alors $\frac{T}{a} \cdot 489$ = surface réelle de sédimentation = S.

Exemple : dénombrement de *Synedra ulna* dans trois préparations de la chambre combinée, tableau 21.

La surface de sédimentation réelle de la chambre combinée peut être estimée de cette façon; nous avons adopté la moyenne de 500 mm² pour nos calculs

TABLEAU 21

Détermination de la surface de sédimentation réelle dans la chambre combinée

Chambre n°	a	T	$S = \frac{T}{a} . 489$
1	1328	1374	505,94
2	1426	1451	497,57
3	1362	1380	495,46
Moyenne du total	4116	4205	499,57

a = nombre de *Synedra* sur 489 mm².
T = nombre de *Synedra* dans tout le sédiment.

(planche II*b*). Cette valeur correspond à celle qu'indique UTERMOEHL (1958) pour la chambre à plaques. Toutefois, en remplissant la chambre à plaques avec une suspension préalablement concentrée, le fond est entièrement couvert par le sédiment, et il faut tenir compte dans les transformations d'une surface totale de 527 mm² (cf. planche II*c*).

La construction des nomogrammes à l'usage d'une méthode définie s'effectue facilement par le procédé graphique:

en abscisse la surface de sédimentation,

en ordonnée le volume d'eau avant la concentration,

la droite de conversion part de 0 et aboutit au point qui est déterminé par la surface de sédimentation totale et le volume d'eau non concentré qui lui correspond.

Exemple: au courant de la concentration par centrifugation, 30 ml d'eau sont réduits à 3 ml, dont on prélève 2,125 ml pour en remplir la chambre à plaques. La surface de sédimentation totale de 527 mm² correspond alors à un volume d'eau non concentré de 21,25 ml. Tout dénombrement partiel de la surface peut, par la droite qui relie le point 0/0 au point 527/21,25 être transformé sans calcul.

Les nomogrammes annexés en planches, pourront être directement employés par le chercheur utilisant les méthodes suivantes:

Planches II *a-d*

Nomogrammes pour	Centrifugation
	Décantation
	Ultrafiltration
combinés avec	chambre Sedgewick-Rafter
	chambres à plaques
	chambre tubulaire.

VI. 2. La répartition des organismes dans la chambre a dénombrer

Un dénombrement efficace exige une densité de l'organisme choisi située à l'intérieur de limites minimum et maximum. En étudiant une seule espèce, cette densité favorable du sédiment peut être obtenue par une concentration appropriée

Fig. 6

Partie périphérique d'une chambre combinée: amoncellement des organismes dans une zone étroite. (On remarque la zone externe pauvre en organismes, protégée par le cylindre de sédimentation moins large que la chambre.)

de l'échantillon. Par contre, le mélange de plusieurs organismes à densités très variables impose d'emblée une limitation de la surface du sédiment à examiner pour les espèces fréquentes. Le choix de cette partie dépend de la dispersion des différentes espèces à l'intérieur du dépôt. Les influences provoquant un dépôt qui ne présente pas la répartition selon les lois du hasard (phénomène fréquemment rencontré et signalé en particulier par Utermoehl 1958), sont à analyser afin de permettre une élimination des causes perturbatrices, ou de pouvoir en tenir compte dans l'appréciation des résultats.

VI. 2.1. *Tests de contrôle du sédiment*

Une sédimentation qui se ferait sans aucune influence perturbatrice externe, aboutirait à une répartition des organismes, sur le fond de la chambre à dénombrer, suivant une loi de distribution au hasard. Cette loi est caractérisée par la fonction de Poisson. La répartition selon Poisson a été très étudiée dans le cas de l'hémacytomètre et permet de contrôler le sédiment obtenu. Toute influence extérieure (par

Fig. 7
Partie centrale de la même chambre que fig. 6: densité faible des organismes dans le sédiment.

exemple des turbulences ou des courants créés pendant la sédimentation) perturbe la distribution selon Poisson et provoque une répartition imprévisible des organismes, formant soit des « nuages », soit même des agglomérations (cf. fig. 6 et 7).

Le test fréquemment utilisé pour contrôler la qualité de la distribution des organismes sur toute la surface consiste en une comparaison des fréquences observées par unité de surface, avec des fréquences théoriques calculées sur la base d'une fonction poissonienne avec la moyenne obtenue par le dénombrement. C'est le test du χ^2 *pour conformité* (cf. Annexe I). Le calcul de ce χ^2 demande passablement de travail. Un test plus rapide, se basant sur la comparaison entre la variance et la

moyenne (qui devraient être égales dans le cas d'une distribution selon Poisson) est fourni par le χ^2 *pour variance* (cf. Annexe I).

Néanmoins, il existe une différence dans l'efficacité des deux tests: le χ^2_{variance} est plus sévère que le $\chi^2_{\text{conformité}}$ (COCHRAN 1954). Une répartition jugée conforme par le χ^2 pour conformité peut, dans certains cas, être rejetée par le χ^2 pour variance. Nous avons même constaté que ceci est très souvent le cas, les distributions dans le sédiment étant fréquemment à la limite de la « fortuité ».

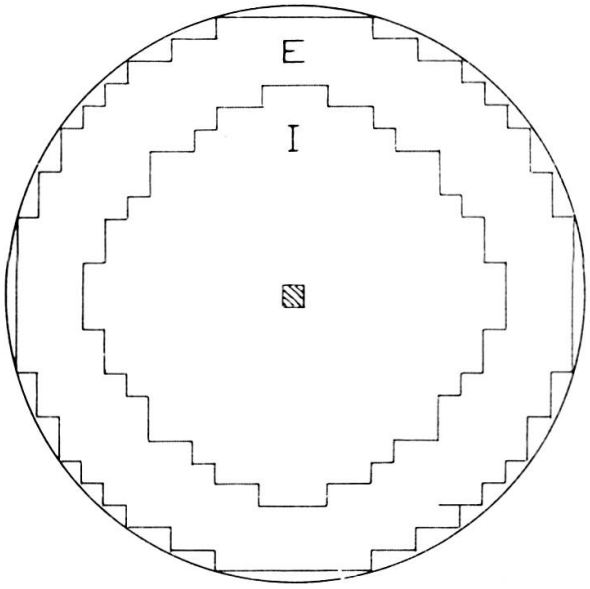


Fig. 9
Division de la chambre à plaques en deux surfaces égales:
E = partie extérieure = 244 mm²
I = partie intérieure = 244 mm².

Le χ^2 pour variance est également plus sévère que le test sur les fréquences cumulatives selon Kolmogorov-Smirnov, utilisé par JAVORNICKY (1958). Cet auteur conclut dans vingt-deux cas sur vingt-six à une bonne répartition du sédiment. Le test du χ^2_{variance} mène, dans l'exemple que cite l'auteur, au rejet de cette hypothèse (JAVORNICKY 1958, p. 303, carte du sédiment d'*Euglena* dans une chambre Kolkwitz):

5701 *Euglena* sur 1376 carrés:

Kolmogorov-Smirnov-test: $\lambda = 4{,}143$; la répartition selon Poisson est acceptée;

χ^2_{variance}-test: $\chi^2 = 1508$, avec une valeur critique de $\chi^2_{0{,}05} = 1387$; la répartition selon Poisson est rejetée.

Si la sédimentation dans une chambre à dénombrer se fait réellement au hasard, sans aucune influence perturbatrice, tous les tests, sévères ou non, mènent à l'acceptation de la répartition. Ce n'est que dans le cas où cette répartition subit déjà

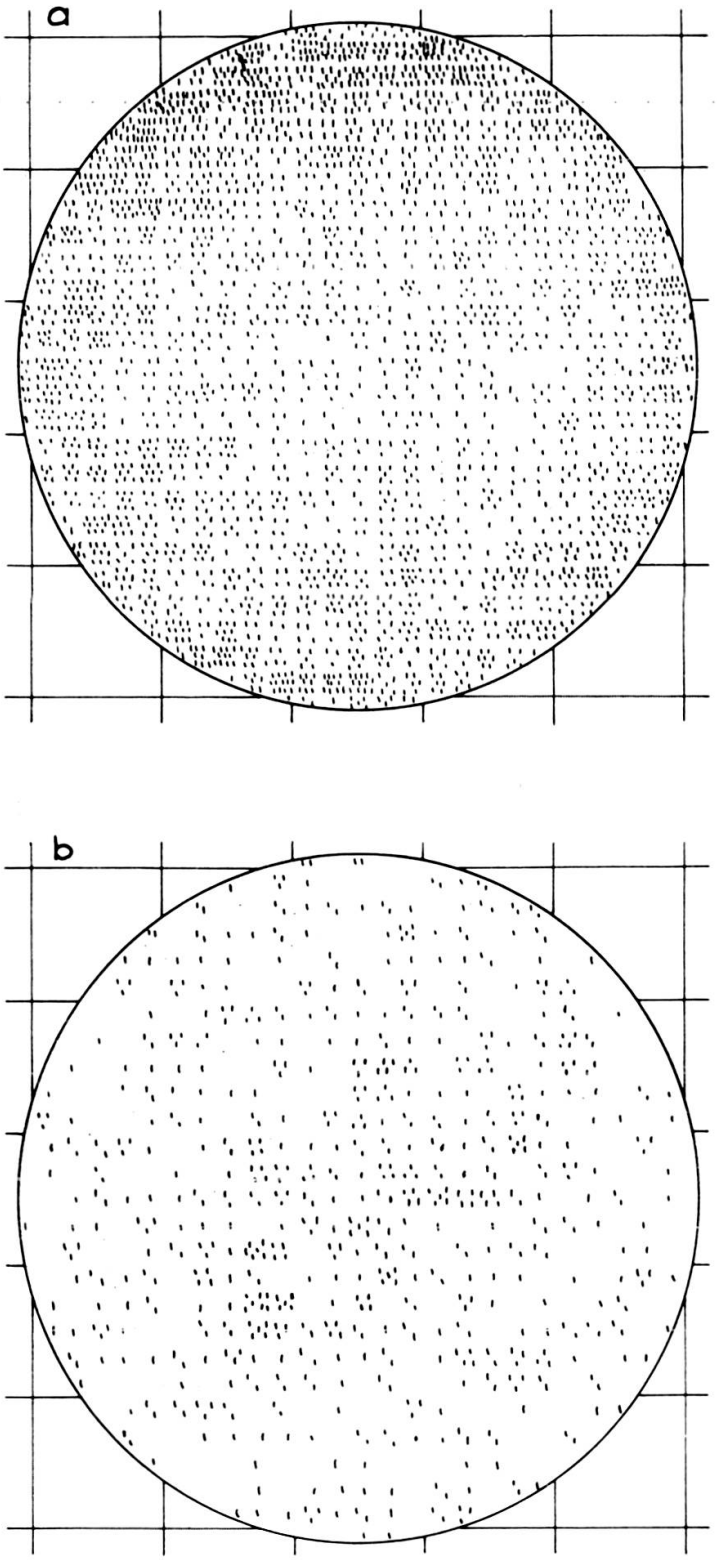


Fig. 8

Répartition des *Synedra ulna* dans le sédiment de la chambre à plaques,
8a: préparée sous forme de chambre combinée. Densité plus élevée à la périphérie.
8b: remplie à la pipette. Densité plus élevée au centre.

quelques influences externes, que notre jugement dépendra de la sévérité du test, à savoir si une répartition du sédiment « ressemble » encore suffisamment à une répartition selon Poisson, pour le travail envisagé.

VI. 2.2. *Remplissage des chambres combinées et tubulaires selon Utermoehl*

La chambre à plaques peut être remplie soit combinée avec le cylindre de sédimentation à volume fixe, soit à la pipette avec une suspension concentrée auparavant. De ces deux techniques de remplissage résultent des répartitions différentes du dépôt. Dans la chambre combinée, les organismes ont tendance à se poser en plus grand nombre vers la périphérie de la chambre (cf. fig. 6 et 7, et fig. 8*a* et *b*) tandis que le remplissage à la pipette entraîne une densité plus élevée des organismes vers le centre de la chambre. L'expérience suivante nous fournit un exemple:

Série I: Quatre préparations de la chambre combinée, dont les cartes de sédimentation sont copiées en entier pour *Synedra ulna*.

Série II: Quatre préparations de la chambre à plaques, remplie chaque fois à la pipette, dont les cartes sont copiées en entier.

Divisons la surface totale en deux parties égales (fig. 9):

I = un disque central de 244 mm^2, et
E = un anneau périphérique de 244 mm^2.

TABLEAU 22

Nombre de Synedra ulna *dans la partie extérieure* (E) *et la partie intérieure* (I) *du sédiment de la chambre combinée et de la chambre à plaques*

Sédiment de la chambre combinée			Sédiment de la chambre à plaques		
I	*E*	Total	*I*	*E*	Total
937	1192	2129	527	179	706
875	1117	1992	461	374	835
889	1283	2172	640	241	881
924	1553	2477	417	408	825
3625	5145	8770	2045	1202	3247

Les résultats (tableau 22) indiquent que la densité des organismes est très différente dans les deux types de préparations: l'anneau extérieur dans la chambre

combinée porte un plus grand nombre d'organismes que le disque intérieur. La chambre à plaques, remplie à la pipette, présente une distribution inverse des organismes. En remplissant la chambre à plaques avec une pipette, il est très difficile d'éviter les courants circulaires dus à la forme ronde de la cuvette. Au centre de la chambre ces courants sont à l'origine de l'amoncellement des organismes. Les causes du déplacement des organismes vers la périphérie de la chambre combinée sont discutées au paragraphe suivant.

VI. 2.3. *Température de remplissage*

Les parois du cylindre de la chambre combinée sont exposées aux variations de la température ambiante. Il est donc possible que des échanges caloriques provoquent des courants à l'intérieur de la chambre, pendant la sédimentation qui dure 18 à 24 heures.

Si tel est le cas, un échantillon froid versé dans la chambre combinée, présente un déplacement du dépôt plus important qu'un échantillon ramené auparavant à la température ambiante. Voici l'expérience qui peut répondre à cette question:

Trois échantillons de la même pêche sont divisés en deux lots: le premier est conservé au froid (4° C) jusqu'au moment de la préparation de la chambre combinée, l'autre est chauffé un peu au-dessus de la température du laboratoire (1 degré de différence). Les deux chambres à dénombrer contenant le même échantillon sont remplies simultanément. La sédimentation pendant 24 heures est faite à l'abri de la lumière. Dans le sédiment, quatre espèces sont dénombrées:

Synedra ulna (individus), *Eudorina elegans* (cénobes), *Codonella lacustris* (individus), *Ceratium hirundinella* (individus).

Les résultats sont résumés dans le tableau 23.

L'accumulation des organismes à la périphérie suivant le courant créé par le réchauffement du liquide le long des parois est évidente. La carte d'un tel sédiment, représentée dans les figures 11*b* et 12*b*, montre en outre que l'accumulation est la plus dense du côté du réchauffement le plus fort. Un remplissage à température trop élevée provoque les courants inverses: l'accumulation se fait au centre de la chambre (fig. 11*a* et 12*a*). En général, un laboratoire n'est pas chauffé uniformément (fenêtres, corps de chauffage, parois froides, etc.) et le sédiment sera asymétriquement déplacé suivant l'intensité des courants ascendants et descendants, provoqués par le réchauffement ou le refroidissement des parois du cylindre de sédimentation (fig. 10). En réalité, ces courants sont très faibles; les organismes se déposent malgré ces courants. Leur influence s'exerce sur la forme de la répartition des organismes dans le sédiment, répartition qui ne suit plus la loi de Poisson.

TABLEAU 23

Effet de la température de l'échantillon au moment du remplissage de la chambre combinée. Dénombrement de quatre espèces dans la moitié extérieure et intérieure du sédiment

Echantillon	Température au remplissage	Partie du sédiment	*Synedra*	*Eudorina*	*Codonella*	*Ceratium*
1	6,5° C	Ext.	918	45	59	15
		Int.	457	5	8	5
		Total	1375	50	67	20
	18,5° C	Ext.	651	35	16	6
		Int.	723	28	18	7
		Total	1374	63	34	13
2	4,5° C	Ext.	1073	61	46	14
		Int.	389	14	8	9
		Total	1462	75	54	23
	19,0° C	Ext.	512	14	13	5
		Int.	943	60	43	16
		Total	1455	74	56	21
3	5,5° C	Ext.	950	35	53	10
		Int.	475	15	11	4
		Total	1425	50	64	14
	18,5° C	Ext.	615	12	21	5
		Int.	759	52	47	10
		Total	1374	64	68	15

VI. 2.4. *Spécificité du sédiment*

Nous venons de voir que le sédiment dans la chambre combinée peut présenter une répartition non fortuite à la suite de courants thermiques à l'intérieur du cylindre de sédimentation. Le dessin que forme le sédiment dans ces conditions n'est pas nécessairement le même pour toutes les espèces présentes dans le plancton. En raison de leur poids et leurs formes variables, régissant la vitesse de sédimentation, les organismes subissent différemment l'effet de déplacement.

La comparaison de la dispersion de différentes espèces à l'intérieur d'une chambre à dénombrer peut se faire en comparant d'une part les distributions de fréquences (χ^2_{variance}) et d'autre part en étudiant les différences de fréquences à l'intérieur de parties délimitées du sédiment (tableaux de contingences, cf. Annexe I), dans notre cas, en comparant le disque central et le cercle périphérique (« Int. » et « Ext. »).

La comparaison des χ^2_{variance} pour chaque espèce est sujette à caution : ce critère dépend de la fréquence des organismes (COCHRAN 1954). En comparant deux distributions à moyenne très dissemblable, ce χ^2 n'est plus applicable.

L'application du χ^2 sur des tableaux de contingences est appropriée, même dans le cas de densités très dissemblables. En utilisant ce procédé dans l'expérience du § VI. 2.3 sur les chambres à répartition très irrégulières, c'est-à-dire sur les chambres qui ont été remplies avec un échantillon froid, nous obtenons le résultat suivant (tableau 24):

TABLEAU 24

χ^2 (contingences) pour la comparaison des répartitions de différentes espèces dans le même sédiment
** = χ^2 accusant une différence significative*

Echantillon	Degré de liberté	Comparaison		
		Synedra-Codonella	*Synedra-Eudorina*	*Synedra-Ceratium*
1. 6,5° C	1	13,06	11,89	0,60
2. 4,5° C	1	3,75	2,33	1,81
3. 5,5° C	1	7,26	0,24	0,14
	3	24,07 *	14,46 *	2,55
Total des échantillons	1	22,58 *	10,60 *	0,12
Homogénéité (= différence) .	2	1,49	3,86	2,43

Le tableau 24 révèle une concordance des répartitions de *Synedra* et de *Ceratium*; *Codonella*, par contre, est différemment répartie, étant plus concentrée encore à la périphérie que *Synedra*; le résultat de *Eudorina* est moins précis: une fois sa dispersion diffère de celle de *Synedra*, et dans les deux autres cas elle semble répartie de la même manière. Ceci s'exprime dans le χ^2 pour homogénéité qui indique si les trois préparations sont homogènes ou non. Dans le cas de *Eudorina*, ce χ^2 n'est pas encore significatif, mais il est plus élevé que chez les deux autres groupes.

Il ressort clairement de cette expérience que les différentes espèces présentent la même tendance à s'accumuler à la périphérie de la chambre, mais elles répondent avec une intensité différente aux influences des courants thermiques. Il en résulte des dispersions dissemblables pour différents organismes.

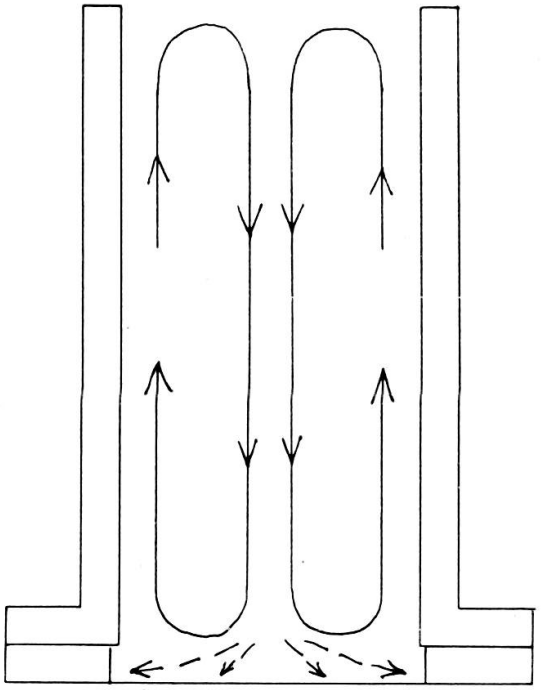


Fig. 10
Courants thermiques dans la chambre à sédimentation: réchauffement du liquide le long des parois, et déplacement du sédiment vers la périphérie.

VI. 2.5. *Le sédiment dans la chambre Sedgewick-Rafter*

Dans une chambre de forme circulaire les courants sont très difficilement évités. Par contre, la forme rectangulaire de la chambre Sedgewick-Rafter arrête rapidement les courants. La répartition des organismes dans la chambre Sedgewick-Rafter suit la loi de Poisson, ce qui a été montré par plusieurs auteurs déjà, en particulier par GILBERT (1942) qui a trouvé le procédé de remplissage qui assure une répartition correcte des organismes. Ces résultats ont été confirmés par nos propres expériences: sur dix-sept chambres contrôlées, une seule a présenté un χ^2_{variance} supérieur au $\chi^2_{0,05}$, les autres étant en général beaucoup plus petits que cette valeur critique.

VI. 3. LE DÉNOMBREMENT PARTIEL

Le dénombrement complet d'espèces à densité élevée représente un travail énorme, disproportionné par rapport à la précision qu'il peut fournir. L'extrapolation

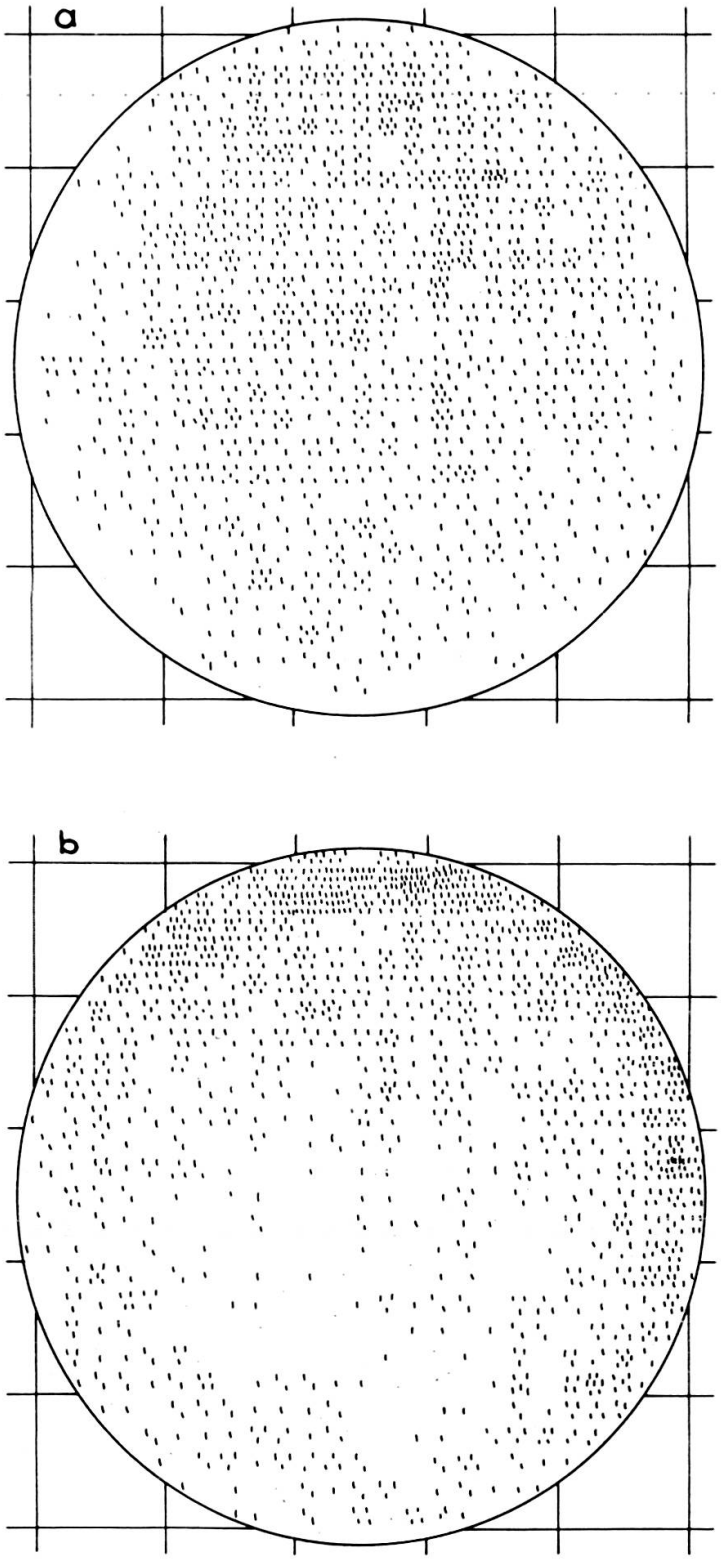
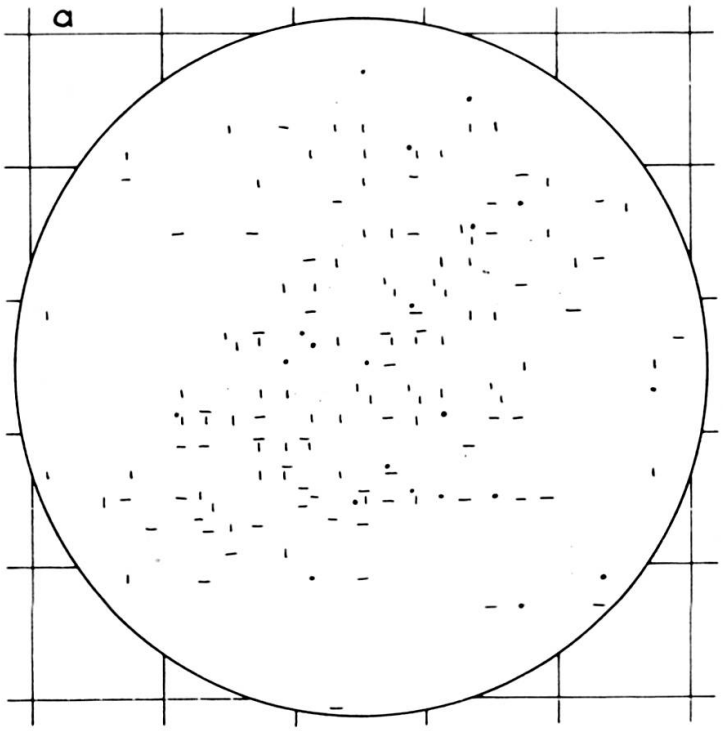


Fig. 11

Effet de la température de l'échantillon au moment du remplissage de la chambre: répartition non-fortuite des *Synedra ulna*

11 *a*: température au remplissage 19,0° C
11 *b*: température au remplissage 4,5° C.



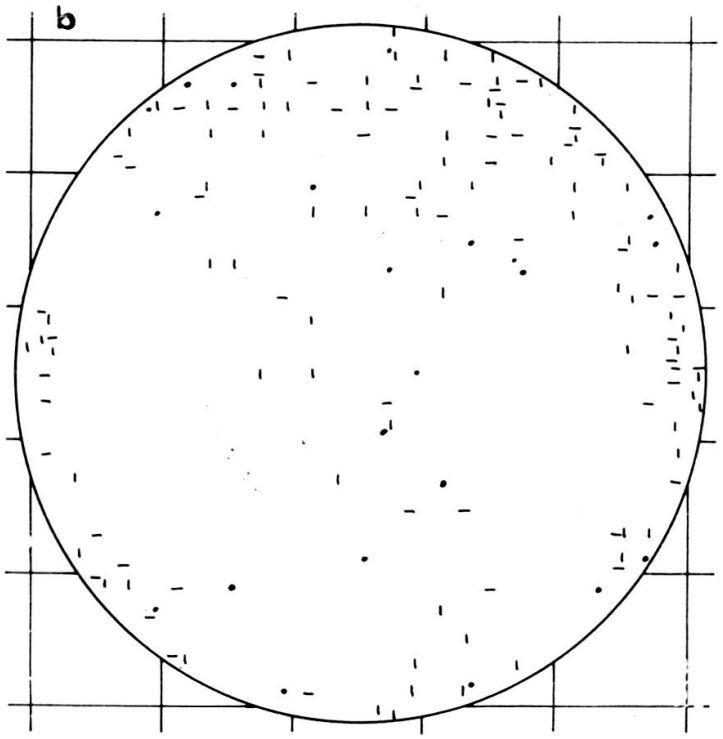


Fig. 12

Répartition non-fortuite spécifique:

12 *a*: température au remplissage 19,0 C

12 *b*: température au remplissage 4,5° C.

' = *Eudorina* — = *Codonella* . = *Ceratium*

à partir du nombre fourni par une partie délimitée de la chambre permet de réduire le travail à l'optimum utile. L'emploi d'une suspension plus diluée permettrait de se passer d'un dénombrement partiel; toutefois, la dilution porte préjudice au dénombrement des organismes moins fréquents. Dans le chapitre précédent (§ VI. 2.3) nous avons vu qu'une répartition normale selon les lois du hasard ne se réalise que très rarement dans les sédiments des chambres rondes (Kolkwitz et Utermoehl). La présence d'une telle répartition n'est jamais connue à l'avance et ne peut être obtenue à volonté. Il est donc nécessaire de choisir un système d'échantillonnage d'aires à dénombrer qui fournira des moyennes $\bar{x}$ correspondant à la moyenne réelle (moyenne fournie par le dénombrement complet de la chambre), dans n'importe quel sédiment à répartition fortuite, ou non.

Pour le dénombrement partiel, plusieurs modes d'échantillonnage à l'intérieur de la chambre sont proposés:

1° Choix d'une région jugée caractéristique. Cette méthode est soumise à des appréciations subjectives incertaines, et n'est plus valable dans un sédiment à mauvaise dispersion;

2° Choix de plusieurs régions suivant un modèle systématique régulier.

Cette méthode est mécaniquement la plus facile à réaliser.

L'échantillonnage systématique peut fournir des résultats intéressants, si les aires examinées sont choisies uniformément sur toute la surface de sédimentation, à condition que le sédiment ait une répartition fortuite. GREIG-SMITH (1957) fait justement remarquer que « dans le cas de l'échantillonnage systématique, on peut obtenir une estimation de la moyenne qui, dans certaines circonstances, dévie moins de la moyenne réelle que l'estimation donnée par l'échantillonnage au hasard; la méthode de l'échantillonnage systématique ne fournit pourtant aucune indication de sa précision et aucune possibilité d'attribuer une significativité à l'écart entre les moyennes de différentes préparations ». Il est d'usage, souvent, de dénombrer une bande horizontale ou verticale sur le diamètre de la chambre, de largeur nécessaire pour fournir un nombre suffisant d'individus. UTERMOEHL (1958) propose de choisir quatre bandes dans le sens des diagonales. Cette méthode peut parfois fournir une moyenne suffisamment correcte. Pour des critères de comparaison, cette moyenne est toutefois trop incertaine: il est impossible de lui attribuer une variance statistiquement valable, et elle souffre d'uniformité de représentation (la moitié des diagonales se trouve dans une zone centrale représentant seulement un quart de la surface totale !).

3° Choix de plusieurs aires de dénombrement suivant un système d'échantillonnage au hasard.

A l'aide d'une table de nombres disposés au hasard, on détermine d'avance certains points dispersés sur toute la surface, points autour desquels sera délimitée

une petite région à examiner (soit un champ visuel, soit un carré d'un réseau). Cette méthode permet d'évaluer, outre la moyenne, la variance qui nous donne la précision de cette moyenne. Une comparaison entre différentes moyennes devient ainsi statistiquement possible, conduisant à un jugement valable de la significativité des écarts.

VI. 3.1. *Comparaison de différents systèmes de dénombrement partiel*

Afin de comparer les systèmes de dénombrement partiel proposés au paragraphe précédent, et de déterminer leur précision ainsi que leur efficacité, nous avons procédé à l'analyse de cinq modes différents d'échantillonnage à l'intérieur de divers sédiments de chambres combinées Utermoehl.

Modes d'échantillonnage :

La surface totale de la chambre à plaques selon Utermoehl est divisée par un quadrillage en 527 mm^2, dont 489 sont des carrés entiers (cf. fig. 5). L'unité de surface est de 1 mm^2. Le quadrillage comprend 25 lignes et 25 colonnes numérotées de 1 à 25 respectivement. L'examen de 100 carrés a été décidé sur la base des principes discutés au § VII. 2. Ces 100 carrés sont disposés dans la carte de diverses manières:

a) sur une bande horizontale, comprenant 4 lignes de 25 mm^2 (fig. 13*a*);

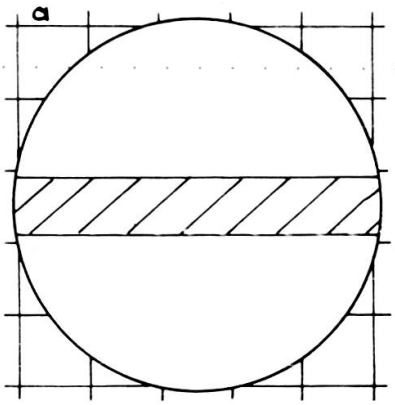
b) sur une bande horizontale de 2×25 mm^2 et une bande verticale de 2×25 mm^2 (fig. 13*b*);

c) quatre fois 25 carrés situés à proximité des quatre diagonales de la surface;

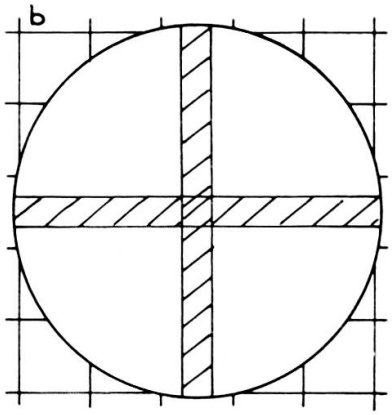
d) selon un système de 5×20 carrés choisis au hasard de la manière suivante: dans les tables de FISHER & YATES (1953) des « Random Numbers », on examine les quatre premiers chiffres de chaque valeur des colonnes; les deux premiers chiffres donnent l'indice de la ligne du réseau, les deux chiffres suivants indiquent la colonne de ce réseau. Les carrés dont les indices tombent à l'intérieur du réseau, calqué sur un papier transparent, sont encadrés et numérotés au fur et à mesure. Une feuille transparente peut contenir 20 carrés. Ces indices sont encore utiles, indépendamment de l'établissement d'une carte, pour le dénombrement direct du sédiment, opéré par un mouvement des vis millimétriques de la platine. Disposant de la carte du sédiment, nous avons pu superposer la feuille transparente à la carte et lire ainsi les nombres présents dans les carrés fixés à l'avance. L'enregistrement chronologique des fréquences permet par la suite une analyse séquentielle. « Système *A* » (fig. 13*d*);

e) selon un système analogue à celui mentionné sous *d)* que nous appellerons « Système *B* » (cf. Annexe II);

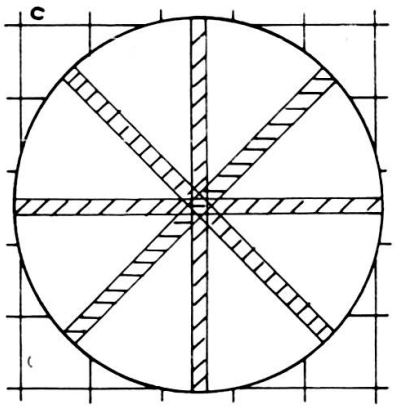
f) pour le contrôle des moyennes de l'ensemble de base, le sédiment entier est compté.



13 *a*: Bande horizontale.



13 *b*: Bande horizontale + bande verticale.



13 *c*: Quatre diagonales.

Fig. 13 *a-c*

Dénombrement partiel: choix des aires à dénombrer selon des procédés systématiques. Délimitation de 100 mm².

Sédiments dans la chambre combinée :

A partir d'une suspension planctonique de base, deux séries de trois chambres combinées identiques sont soumises à l'analyse:

1° trois sédiments à distribution aussi fortuite que possible, obtenus par une préparation très soigneuse de la chambre. Le sédiment dans ces chambres est presque fortuitement distribué (χ^2_{variance}, tableau 25.1);

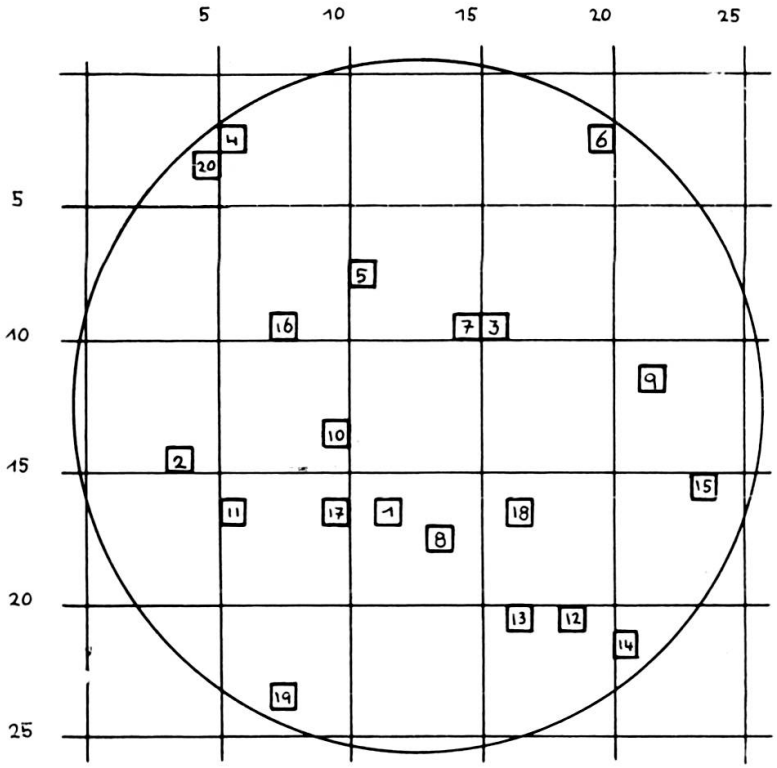


Fig. 13 *d*

Dénombrement partiel: choix des aires à dénombrer selon un système au hasard. Délimitation des 20 premiers mm².

2° Trois sédiments avec une très mauvaise distribution du plancton, obtenus par un remplissage de la chambre combinée avec un échantillon froid de 4° C (cf. § VI. 2.2). La mauvaise distribution des organismes s'exprime par les χ^2_{variance} qui dépassent largement la valeur critique (tableau 25.2).

Les sédiments des chambres à dénombrer ne se conservent que quelques heures au maximum. Aux fins de dénombrements répétés dans la même préparation, nous copions la carte du sédiment de *Synedra ulna* de chaque chambre. Les différents modes d'échantillonnage sont ensuite superposés à ces cartes. Ce procédé élimine au surplus les erreurs personnelles de détermination qui se présenteraient dans la répétition des dénombrements sur la préparation même.

Dénombrements :

Dans chaque sédiment ou carte, les cinq modes d'échantillonnage fournissent une moyenne $\bar{x}$ de *Synedra* par carré du réseau. Les tableaux 25.1 et 25.2 présentent les valeurs de $\bar{x}$ pour les chambres des deux séries.

TABLEAU 25.1

Nombre de Synedra/*mm*² *dans le sédiment à distribution fortuite de trois chambres combinées, après différents dénombrements partiels (100 carrés du réseau)*

Mode de dénombrement partiel	Préparation *I*	*II*	*III*
a) horizontal	2,40	2,81	2,47
b) horizontal + vertical	2,77	3,25	2,76
c) en diagonales	2,64	3,15	2,89
d) au hasard (système *A*)	2,50	2,74	2,50
e) au hasard (système *B*)	2,52	2,77	2,76
f) total de la chambre (= moyenne réelle)	2,75	2,90	2,76
$\chi^2_{variance}$ pour toute la chambre ($\chi^2_{0,05}$ = 551)	624	692	697

TABLEAU 25.2

Nombre de Synedra/mm², *dans le sédiment à distribution non-fortuite de trois chambres combinées, après différents dénombrements partiels (100 carrés du réseau)*

Mode de dénombrement partiel	Préparation *I*	*II*	*III*
a) horizontal	1,83	1,49	1,69
b) horizontal + vertical	1,91	1,90	2,21
c) diagonales	2,08	1,82	2,05
d) au hasard (système *A*)	2,32	2,21	2,46
e) au hasard (système *B*)	2,72	2,52	2,48
f) total de la chambre (= moyenne réelle)	2,75	2,91	2,85
$\chi^2_{variance}$, pour toute la chambre ($\chi^2_{0,05}$ = 551)	1736	1592	970

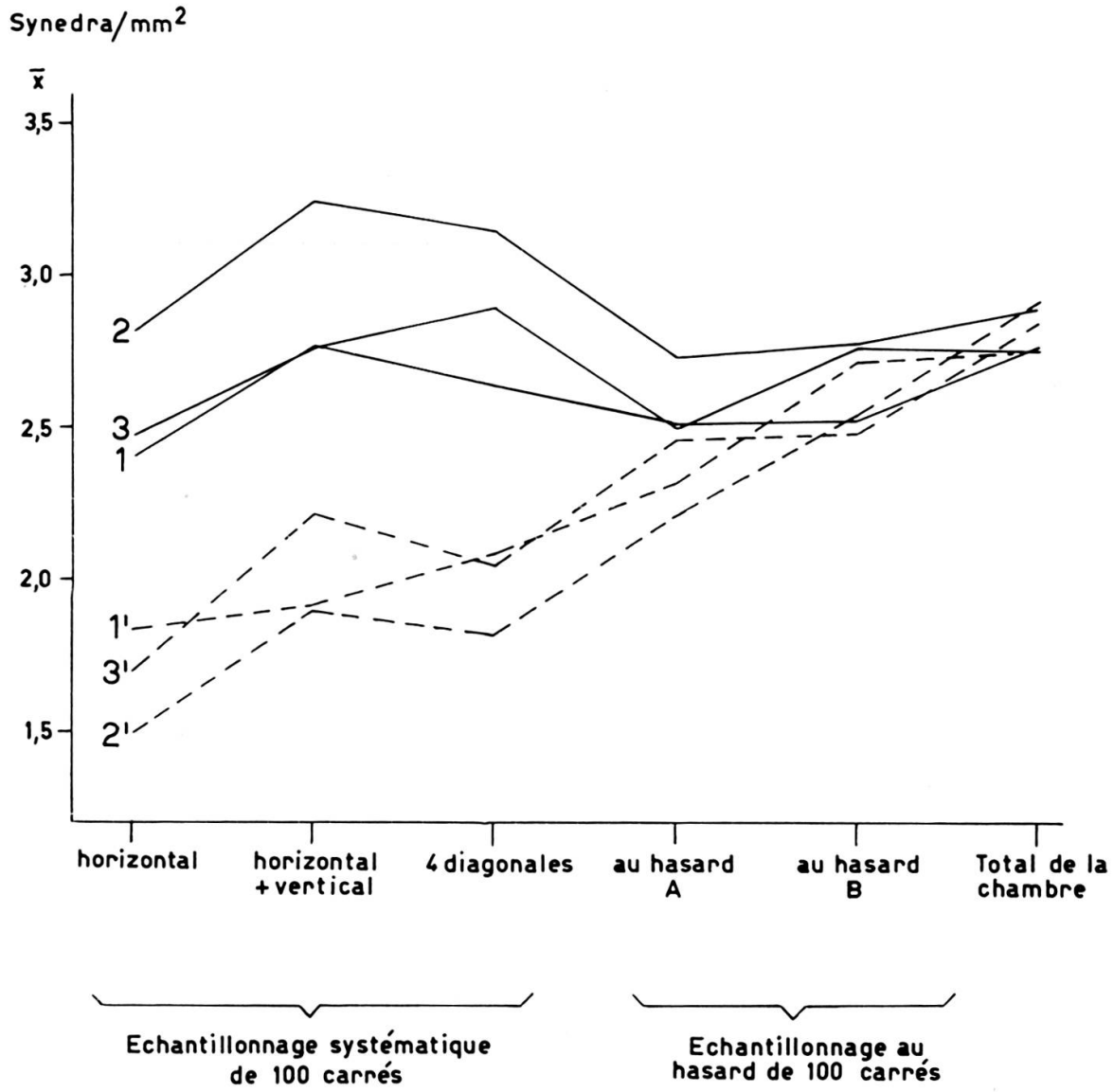


Fig. 14

Moyennes fournies par différentes méthodes de dénombrement partiel dans la chambre combinée. Nombre de *Synedra ulna*/mm².

——— Sédiment à distribution presque fortuite

— — — Sédiment à distribution non-fortuite.

Résultats :

Dans la première série de chambres à distribution presque fortuite, les écarts entre les moyennes fournies par les différents modes de dénombrement partiel ne sont pas très importants. La moyenne réelle établie par le dénombrement de la chambre entière, est serrée de près (fig. 14). Pourtant, l'analyse de variance (tableau 25.3) accuse des différences légèrement significatives entre les modes d'échantillonnage:

$$F\frac{(\text{modes})}{(\text{carrés})} = 2{,}604 \qquad \text{avec } F_{0{,}05} = 2{,}372$$

TABLEAU 25.3

Analyse de variance des différents modes d'échantillonnage à l'intérieur de trois préparations à répartition quasi-fortuite

Source de variance	*DL*	*SC*	*CM* = variance
Modes d'échantillonnage	4	35,677	8,919
Préparations de la chambre	2	37,801	18,900
Interaction Méthodes-Préparations	8	8,359	1,045
Carrés du réseau	1485	5086,730	3,425
Total	1499	5168,567	

TABLEAU 25.4

Analyses de variance entre différents modes d'échantillonnage à l'intérieur de trois préparations à répartition non-fortuite

Source de variance	*DL*	*SC*	*CM* = variance
Modes d'échantillonnage	4	146,863	36,716
Préparations de la chambre	2	11,172	5,586
Interaction Méthodes-Préparations	8	11,181	1,398
Carrés du réseau	1485	8238,290	5,548
Total	1499	8407,506	

Nous avions vu que la distribution du sédiment était presque fortuite dans cette série, en comparaison avec la deuxième série à très mauvaise distribution. Toutefois, la répartition de Poisson n'étant que médiocrement ajustée, les différents modes de dénombrement partiel n'offrent des résultats qu'approximativement identiques. D'ailleurs la beaucoup plus grande variabilité entre préparations absorbe ces petites différences.

Par contre, dans les sédiments à mauvaise distribution des organismes, l'échantillonnage systématique du dénombrement partiel fournit des moyennes beaucoup trop faibles. L'échantillonnage au hasard donne des moyennes qui se rapprochent mieux des vraies moyennes (fig. 14). L'analyse de variance (tabl. 25.4) montre que les divers modes d'échantillonnage fournissent des moyennes significativement différentes. Ces différences se manifestent malgré la plus grande variance entre les carrés du réseau :

$$F\frac{(\text{modes})}{(\text{carrés})} = 6{,}61 \qquad \text{avec } F_{0.05} = 2{,}372, \quad \text{et } F_{0.001} = 4{,}616.$$

Conclusions :

Les résultats fournis par les différentes méthodes de dénombrement partiel sont significativement différents. Les tableaux 25.1 et 25.2 des moyennes indiquent cependant que les modes d'échantillonnage au hasard donnent des valeurs qui se rapprochent le plus de la moyenne réelle dans la chambre. L'inconvénient de l'échantillonnage systématique (horizontal ou horizontal et vertical) est évident sans mesure ni calcul dans le cas d'une distribution non fortuite: il suffit que la bande passe à côté du nuage pour annuler la valeur du dénombrement. Il s'agit ici d'un cas extrême. Toutefois, même lorsque l'on réussit à obtenir une distribution quasi fortuite, l'écart entre la moyenne réelle de la chambre et une moyenne d'échantillonnage systématique reste légèrement significatif. Même l'artifice complémentaire d'une lecture en diagonales, proposée par UTERMOEHL (1958), ne corrige pas l'incertitude des valeurs systématiques.

Dans la pratique, l'expérimentateur trouvera des valeurs situées entre les extrêmes représentés par les tableaux 25.1 et 25.2. Dans le paragraphe VI. 2.3 nous avons vu qu'en conditions de laboratoire les sédiments présentent pratiquement toujours de légères déformations. La seule méthode de dénombrement partiel menant à un résultat valable doit alors se baser sur un mode d'échantillonnage au hasard des aires à examiner.

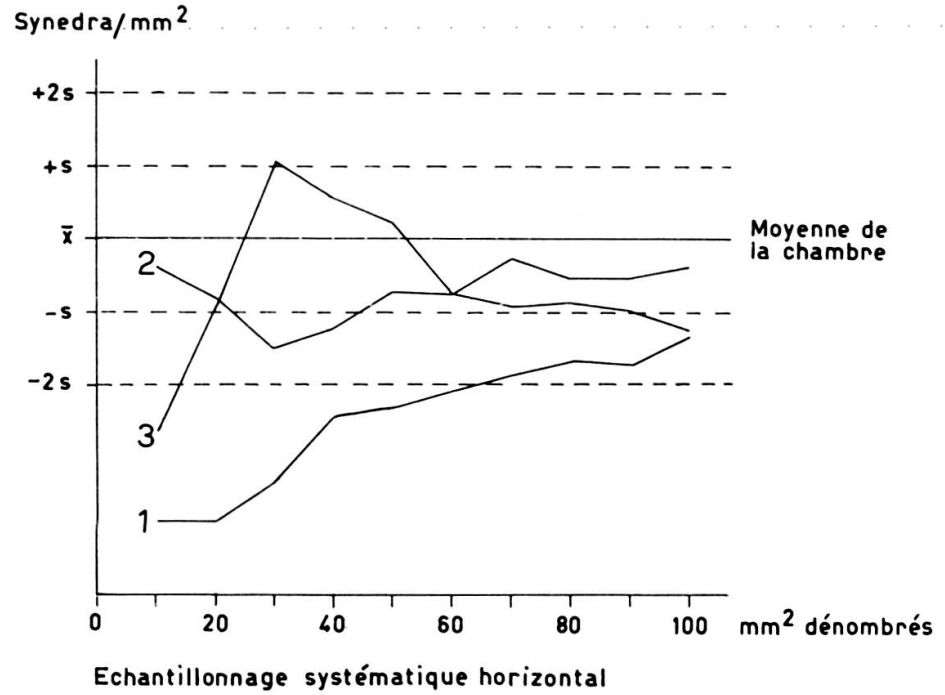
VI. 3.2. *Rapidité avec laquelle la moyenne du dénombrement partiel s'approche de la vraie moyenne*

Cette analyse illustre d'une autre manière les résultats mentionnés au paragraphe précédent. Elle permet en plus de fixer le moment du dénombrement où les frais de l'opération peuvent être arrêtés, pour éviter un gaspillage de travail.

Par une analyse séquentielle du dénombrement partiel on obtient une image du rapprochement de la moyenne partielle vers la moyenne réelle. La rapidité de ce rapprochement peut être une mesure de la qualité de l'échantillonnage. Les figures 15*a* et 15*b* montrent deux exemples: l'échantillonnage systématique sur une bande horizontale et l'échantillonnage par un système choisi au hasard, effectués 1° dans un sédiment approximativement fortuit et 2° dans un sédiment à répartition non fortuite. Les courbes sont obtenues par le calcul de la moyenne après 10, 20, 30, ..., 90 et 100 carrés dénombrés successivement. Pour faciliter la lecture, les trois moyennes réelles sont établies à une ordonnée commune.

Résultats :

1° (Fig. 15*a*.) Dans le cas de la répartition presque fortuite, la moyenne trouvée se situe déjà après 40 carrés (ca. 100 individus dénombrés) à l'intérieur des limites $\bar{x} \pm 2.s$ ($s = 10\%$ selon Poisson). Toutefois, la répartition n'étant



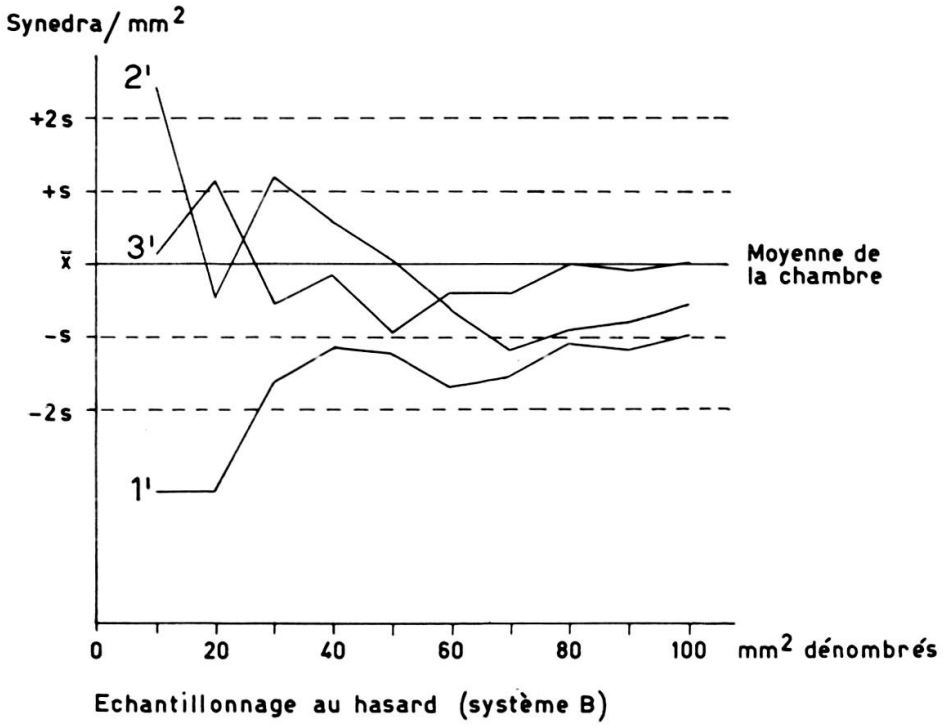
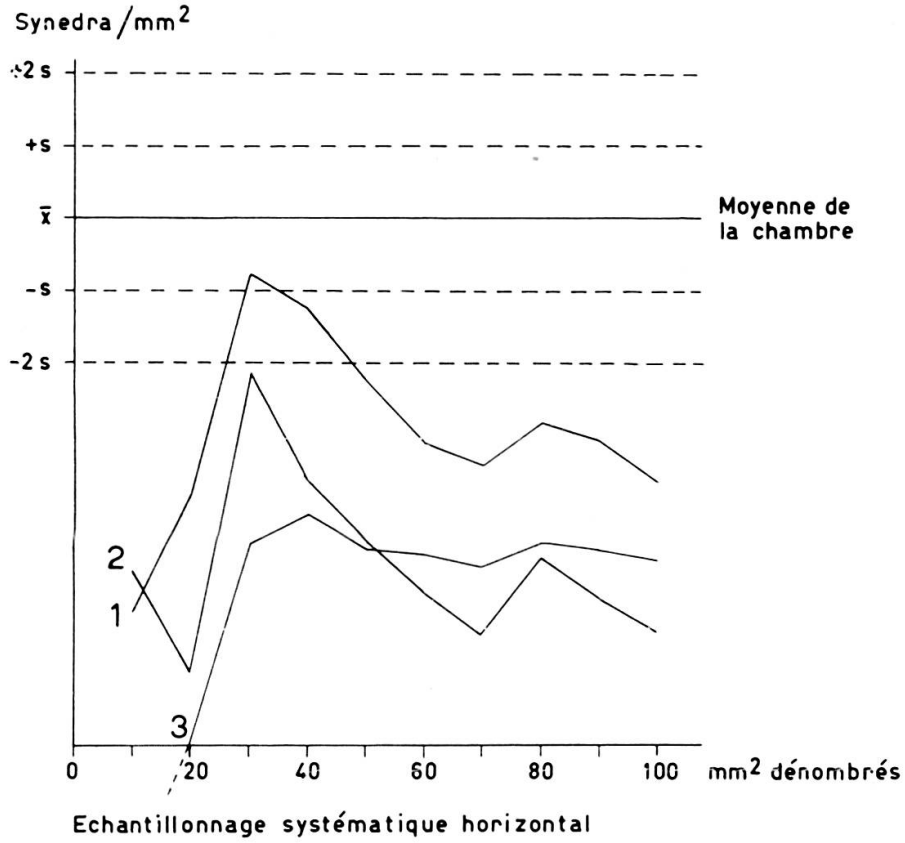


Fig. 15 *a*

Evolution de la moyenne après 10, 20, . . , 100 mm² dénombrés, dans un sédiment à distribution presque fortuite (trois préparations à partir de la même suspension).



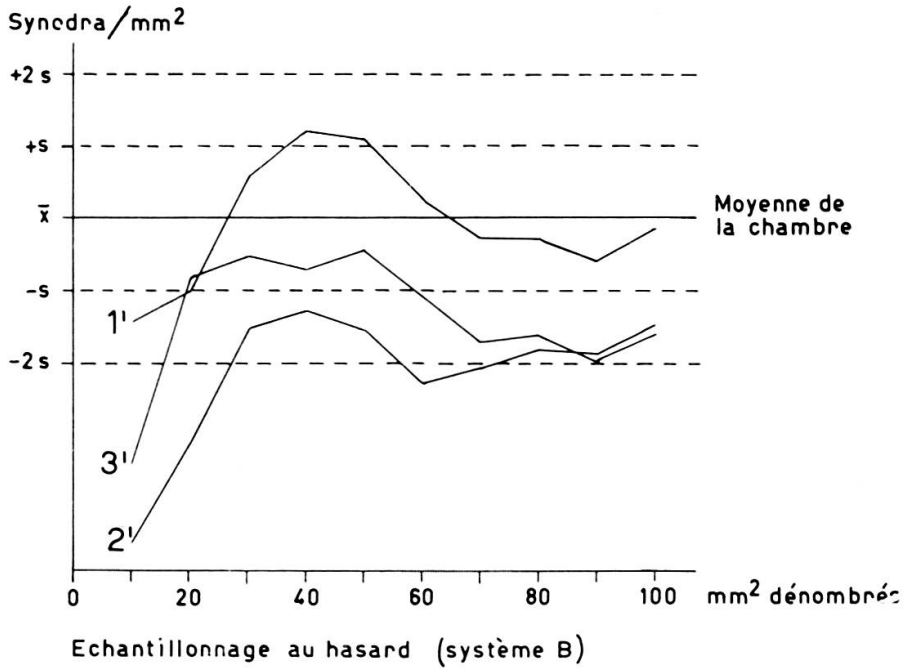


Fig. 15 *b*

Evolution de la moyenne dans un sédiment à distribution non-fortuite.

qu'approximativement fortuite (les χ^2_{variance} dépassent toujours le $\chi^2_{0,05}$), l'échantillonnage au hasard mène encore plus rapidement au résultat correct. Avec ce dernier système, toutes les trois courbes se trouvent à l'intérieur de $\bar{x} \pm 25$ après 30 carrés dénombrés.

2° (Fig. 15*b*.) Dans un sédiment d'une répartition mauvaise, le dénombrement systématique ne donne aucune valeur moyenne raisonnable, même après dénombrement de 100 carrés (= 250 individus, sur un cinquième de la surface totale). Par contre, par l'échantillonnage au hasard, on obtient une moyenne s'approchant de la vraie valeur $\bar{x}$ après peu de carrés dénombrés. Comme dans le sédiment réparti normalement, après 30 carrés (= 75 individus), les trois moyennes se trouvent à l'intérieur des limites $\bar{x} \pm 2s$. Il est cependant évident que la moyenne calculée dans ce cas est moins précise que dans une répartition normale.

Si la technique le permet, c'est-à-dire si l'on dispose par exemple d'un chariot à déplacements contrôlables, il sera toujours préférable d'utiliser les méthodes d'échantillonnage au hasard. A l'usage de l'intéressé, deux systèmes sont indiqués dans l'annexe (Annexe II) de ce travail.

Ces observations sont généralisables: le problème du prélèvement d'échantillons dans un ensemble à distribution inconnue ou supposée non fortuite se présente fréquemment dans des études écologiques ou autres.

L'échantillonnage selon un schéma de points répartis au hasard sur toute la surface (dans le cas d'un ensemble deux-dimensionnel) ou dans tout le volume (pour un ensemble à trois dimensions) fournit une moyenne plus digne de confiance que toute moyenne obtenue par un schéma régulier quelconque.

VI. 3.3. *La variance à l'intérieur des chambres, entre carrés du réseau*

Un mode d'échantillonnage systématique à l'intérieur d'une chambre à distribution en nuages peut avoir pour résultat une variance très faible entre les carrés du réseau; il suffit pour cela que la « lecture horizontale » passe par hasard à distance du nuage. Cette faible variance nous fait conclure faussement à une grande précision de la moyenne, c'est-à-dire à une dispersion normale des organismes. Par l'échantillonnage au hasard la surface entière de la chambre est touchée de façon à révéler la variance réelle qui existe dans le sédiment. Les tableaux 26.1 et 26.2 résument les analyses de variance des différents dénombrements du tableau 25.1 et 25.2.

La variance à l'intérieur des préparations augmente au fur et à mesure que la surface examinée s'étend. La variance à l'intérieur de la chambre entière est significativement plus élevée dans les sédiments à répartition non fortuite que dans les sédiments répartis normalement. ($F = 1{,}953$ avec $F_{0,05} = 1{,}0$.) On voit dans ce tableau que dans un sédiment mal réparti, l'échantillonnage systématique fournit une

TABLEAUX 26.1 ET 26.2

Analyses de variance des dénombrements suivant différents modes d'échantillonnage : a) *horizontal,* b) *horizontal + vertical,* c) *diagonales,* d) *au hasard (système* A*),* e) *au hasard (système* B*),* f) *dénombrement de la chambre entière*

* DL = *2,* ** DL = *1464*

Sédiment à répartition quasi-fortuite

Source de variance	*DL*	Variance — Système d'échantillonnage					
		a)	*b)*	*c)*	*d)*	*e)*	*f)*
Entre préparations . .	2	4,31	7,85	6,51	1,92	2,01	5,06 *
Entre carrés à l'intérieur des préparations . .	297	2,95	3,85	3,68	3,33	3,32	3,86 **

Sédiment à répartition non-fortuite

Entre préparations . .	2	2,92	3,07	2,03	1,57	1,56	4,15 *
Entre carrés à l'intérieur des préparations . .	297	3,27	5,33	4,82	7,25	7,06	7,55 **

variance qui est de moitié trop faible; la variance obtenue par l'échantillonnage au hasard est conforme.

VII. MÉTHODES OPTIMALES

VII. 1. L'EFFICACITÉ DU DÉNOMBREMENT

L'efficacité du dénombrement dépend des valeurs de précision et d'économie, fournies par un dénombrement quelconque. L'une et l'autre peuvent être augmentées empiriquement par la multiplication des essais, et théoriquement par l'établissement des valeurs de variance.

VII. 1.1. *Calcul de l'efficacité*

A l'intérieur d'une préparation, le dénombrement partiel donnera toujours des valeurs susceptibles de varier selon la répartition des organismes sur la surface de sédimentation. La variance entre carrés du réseau est une estimation de cette variabilité. A cette variabilité intérieure s'ajoute l'erreur de la préparation, ou « variance entre préparations ». Celle-ci peut être importante: en examinant plusieurs exemples