

PRÉPARATION DES LAMES ET DÉTERMINATION DES DIATOMÉES

au sein du laboratoire d'hydrobiologie de la DIREN Ile-de-France

3 étapes mises en œuvre à la DIREN Ile-de-France

conformément à la Norme NF T 90-354 de décembre 2007 pour l'Indice Biologique Diatomées (IBD)

1. Traitement de l'échantillon

• Élimination de la matière organique

Une partie de l'échantillon est introduite dans un tube à essai à col vissé auquel sont ajoutés environ 6 volumes d'eau oxygénée pour un volume d'échantillon afin de dégrader la matière organique. Le tube est homogénéisé et plongé dans un bain-marie.



Le bain-marie est utilisé (sous hotte aspirante) pour accélérer le processus de dégradation de la matière organique.

Le traitement au bain-marie se poursuit jusqu'à l'obtention d'une solution légèrement blanchâtre. Le tube est ensuite laissé à décanter au moins une dizaine d'heures.

• Élimination des carbonates

Après décantation, l'eau oxygénée est éliminée pour ne garder que le culot de décantation au fond du tube. Un ajout d'acide chlorhydrique est effectué sur le culot afin d'éliminer les carbonates et obtenir ainsi une préparation plus propre.

L'échantillon traité à l'acide chlorhydrique est rincé à l'eau déminéralisée en laissant décanter une dizaine d'heures et en gardant à chaque fois le culot de décantation. L'opération est répétée 2 à 3 fois. Au final, le culot est récupéré dans un flacon hermétique.



2. Préparation de la lame

Un peu de l'échantillon traité est transféré dans un pilulier puis dilué avec de l'eau pour obtenir une suspension légèrement trouble. Une goutte de cette suspension est déposée sur une lamelle puis laissée à sécher à l'abri de la poussière.

La lamelle retournée est collée sur une lame à l'aide d'une résine à fort indice de réfraction. L'ensemble est porté quelques instants à ébullition sur une plaque chauffante pour éliminer les solvants. L'ensemble lame-lamelle est retirée de la plaque et avant refroidissement la lamelle est appuyée contre la lame afin d'obtenir une couche mince.

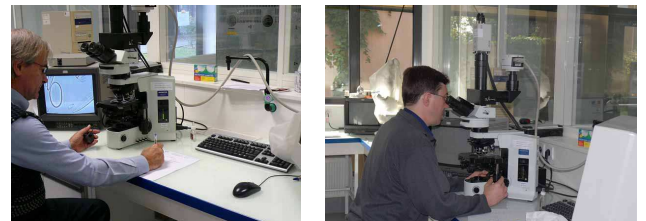


3. Comptage et détermination

Un microscope (objectif X100) équipé d'un système d'acquisition et d'enregistrement vidéo est utilisé pour le comptage et la détermination (grossissement final environ 5000 fois). Un minimum de 400 valves de diatomées est compté à l'aide d'un compteur manuel en balayant la lame sous l'objectif du microscope.

Au fur et à mesure de leur comptage, les diatomées entières sont identifiées au niveau taxonomique requis par la norme (généralement à l'espèce). Pour les diatomées cassées, celles-ci ne sont prises en compte que si au moins les 3/4 sont visibles et identifiables.

Les vues non identifiables, connectives (sur la tranche) ou valvaires, sont comptabilisées au plus bas niveau taxonomique auquel on peut les rattacher avec certitude.



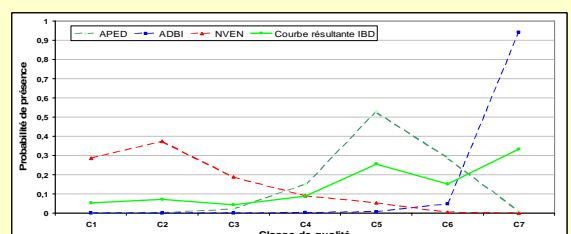
En cas de difficultés de détermination des ouvrages de références, des publications acquises par le laboratoire et des photographies sont consultés.



Résultat

Chaque espèce de diatomée a une probabilité de présence (de 0 à 1) en fonction de 7 classes de pollution (C1 à C7).

La liste floristique obtenue permet d'établir des courbes de probabilité de présence pour chaque espèce déterminée dans l'échantillon. A partir de celles-ci est calculée une courbe correspondant à la probabilité de présence d'un taxon fictif représentatif de l'échantillon. L'IBD calculé correspond au barycentre de la courbe du taxon fictif.



Courbes de probabilité de présence de 3 espèces en fonction des classes de pollution (en pointillés) et courbe du taxon fictif représentatif de l'échantillon (en trait continu).