

Evaluation des poids humides de micronecton après centrifugation

R. GRANDPERRIN et A. MICHEL

Centre O.R.S.T.O.M. de Noumea; Noumea, New Caledonia

Abstract

Evaluation of micronekton wet weight after centrifugation

A method of centrifugation to remove interstitial water before wet weight measurements is presented. Speed and duration that do not injure organisms have been selected. In order to test the method, the relative standard error is calculated; it increases with increased water content of organisms.

Introduction

Les techniques utilisées pour l'estimation des biomasses de zooplancton (FROLANDER, 1957; SUTCLIFFE, 1957; TRANTIER, 1960; YENTSCH et HEBARD, 1957) ne sont en général pas applicables au micronecton, en raison surtout de l'importance du volume des récoltes et des organismes. Les pesées humides devraient permettre cette estimation en routine, à condition de les faire précéder d'un essorage total de l'eau. Or, il n'existe aucun moyen de déterminer le moment où cet essorage est complet et où l'eau interne risque de commencer à s'éliminer. Il convient donc de définir une méthode qui permette d'essorer partiellement, mais néanmoins de façon reproductible, tout en sauvegardant l'intégrité des organismes en vue de travaux ultérieurs. La méthode décrite ici vise à réaliser ceci par centrifugation.

Matériel

Le dispositif utilisé (Fig. 1) est une centrifugeuse comprenant un moteur non sensible à la charge et à vitesse de rotation réglable, entraînant 2 paniers porteurs fixés aux extrémités d'un T. Dans ces paniers sont placés les godets tarés contenant les organismes à essorer.

Pour que la valeur de la force centrifuge agissant sur les molécules d'eau soit toujours la même, l'épaisseur de la couche d'organismes sera maintenue approximativement constante: des godets de différents diamètres ont donc été utilisés.

Courbes d'essorages

Il s'agit de déterminer les conditions d'utilisation de l'appareil, à savoir la vitesse et la durée de centrifugation, permettant d'obtenir un essorage reproductible ne détériorant pas les récoltes.

Matériel inerte: billes de verre

Dans un premier temps, on a travaillé sur du matériel inerte, en l'occurrence des billes de verre de 3 mm de diamètre. Après les avoir mouillées, on a suivi l'évolution de leur poids humide en fonction de la durée de l'essorage, ceci pour 2 vitesses de rotation, 600 et 300 t/min, vitesses qui donnent, avec ce montage, des forces centrifuges radiales de 56 et 14 g respective-

ment. Cette évolution est représentée par les deux courbes de la Fig. 2. Pour tracer ces courbes, on a essoré quelques secondes, puis pesé, essoré à nouveau quelques secondes le même échantillon, puis à nouveau pesé etc ... jusqu'à obtenir ainsi une durée totale d'essorage égale à 10 min. On a fait croître les durées d'essorage partiel au fur et à mesure du déroulement de l'expérience.

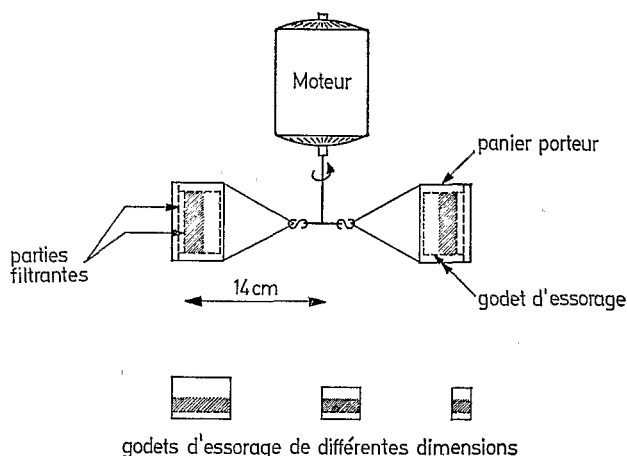


Fig. 1. Schéma du dispositif

De l'examen de la Fig. 2, il ressort que la perte d'eau est très importante durant les 2 premières secondes, atteignant plus de 80%, qu'après ce laps de temps, les 2 courbes divergent, le palier (poids sec avant trempage) était obtenu à 1/1000 près au bout de 1 min seulement à 600 t/min alors qu'il en faut 10 à 300 t/min. Il en résulte qu'un essorage à 56 g durant 1 min permet à 1/1000 près d'atteindre le poids sec des billes de verre.

Micronecton

Valable pour l'essorage du matériel inerte, la vitesse de rotation 600 t/min soit 56 g avec ce montage, a été testée sur des organismes. On a ainsi tracé les courbes d'essorage successifs pour 4 types de planctontes bien différents: 2 types de Crustacés, Carides et Euphausiacés, un poisson bathypélagique, *Cyathopterus pallidus* et des organismes gélatineux. On a pris comme poids de référence celui obtenu après une centrifugation de 2 sec qui élimine, rappelons-le, plus de 80% de l'eau dans le cas des billes de verre (ce poids de référence, qu'on a affecté du coefficient 100 est donc très inférieur au poids humide qu'on obtiendrait en laissant l'eau s'écouler librement par gravité). Les courbes obtenues

Oce
O. R. S. T. O. M.

31 DEC. 1969

Collection de Référence

n° 13656

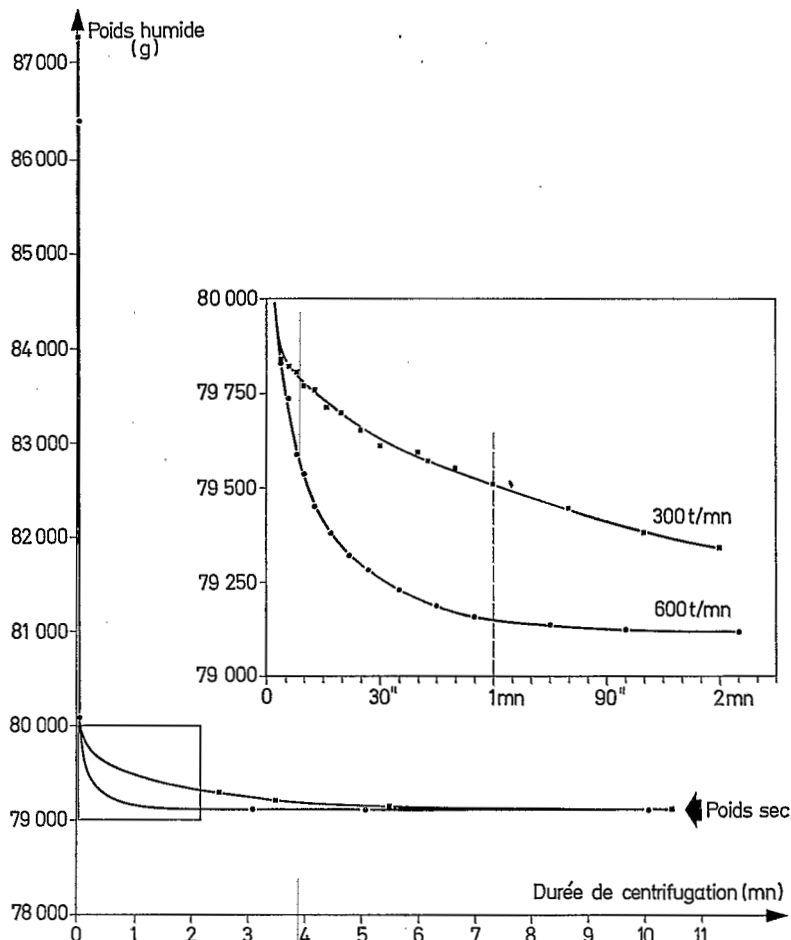


Fig. 2. Courbes d'essorage obtenues avec des billes de verre à 300 et 600 t/min (12 et 56 g); mn = min

(Fig. 3) différent des courbes précédentes (Fig. 2) en ce qu'elles ne présentent pas de palier, même après 12 min d'essorage, durée au bout de laquelle les organismes sont nettement fripés, leur aspect rappelant celui obtenu en étuve au début de la déshydratation. Afin de sauvegarder l'intégrité des organismes, il convient donc de ne pas essorer aussi longtemps. Une minute suffisant pour sécher presque parfaitement les billes de verre, et cette durée conservant les organismes en parfait état, c'est elle qui a été retenue.

Reste à tester, pour les différents groupes, la reproductibilité de la méthode dont les normes ont été définies ci-dessus, soit 56 g durant 1 min.

Reproductibilité

Pour tester la reproductibilité une fois fixées les conditions d'utilisation de l'appareil, une série de 10 essorages a été effectuée pour chaque échantillon; entre chaque essorage, après pesée, le matériel était retrempé et légèrement agité dans l'eau durant 5 min pour qu'il se réhydrate. Ce traitement a porté sur des billes de verre et sur différents organismes. On a estimé la reproductibilité en calculant l'erreur relative standard sur les poids, soit $4 s/m$, s étant l'écart-type et m la

moyenne des 10 poids obtenus. Cette erreur relative standard représente la variabilité de la méthode au seuil 95%.

Le Tableau 1 montre que cette variabilité n'est pas la même pour tous les organismes et les sépare en 2 groupes: ceux pour lesquels elle est inférieure à 15%, ceux pour lesquels elle dépasse, et de très loin parfois, ce pourcentage. Elle ne semble pas varier sensiblement avec l'importance des échantillons.

Pour préciser les causes de cette variabilité, on a tracé les courbes des poids humides après chaque essorage en exprimant tous ces poids en fonction de la moyenne (Fig. 4). On a obtenu 2 familles de courbes. Pour la première famille (billes de verre, Crustacés, larves de poissons, et Leptocéphales), qui correspond à la première partie du Tableau 1, chacun des points s'éloigne peu de la moyenne; la succession des essorages semble donc ne pas agir sur l'échantillon et la variabilité faible observée n'est due qu'à la méthode qui, ainsi définie, est valable puisqu'elle n'endommage pas les organismes. Pour la deuxième famille de courbes (Chétognathes, organismes gélatineux et fraction fine), qui correspond à la seconde partie du Tableau 1, on assiste à une diminution régulière des poids, qui peut

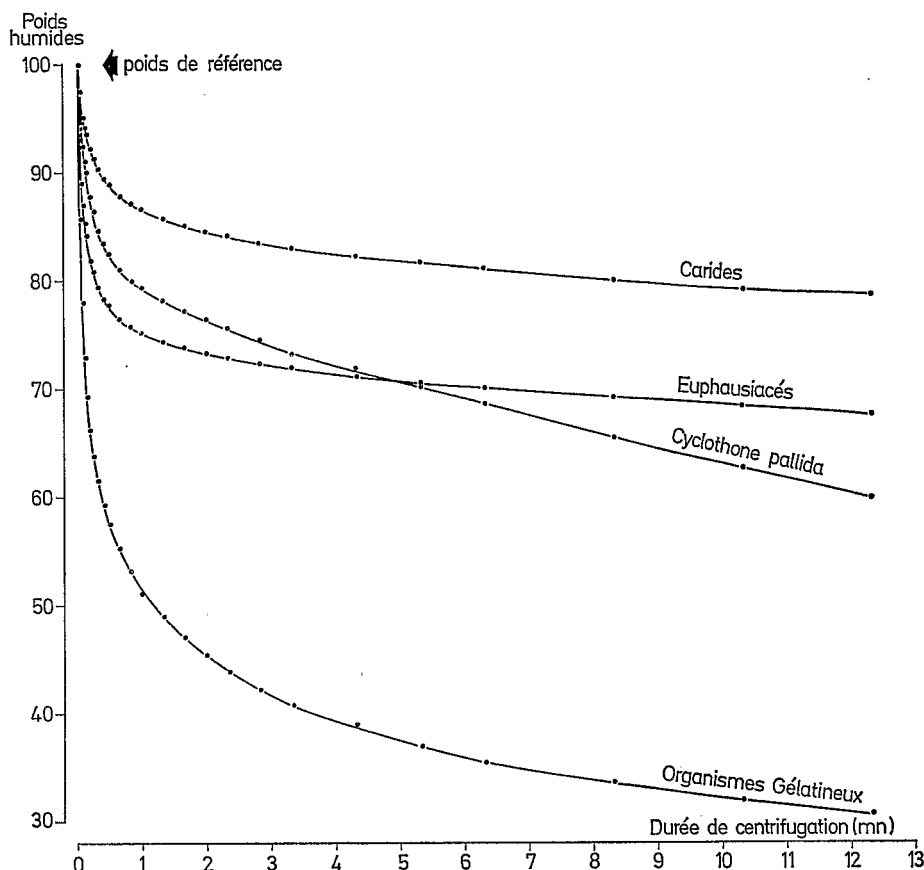


Fig. 3. Courbes d'essorage obtenues avec différents organismes à 600 t/min soit 56 g. Le poids humide 100 de référence est le poids humide obtenu après 2 secondes d'essorage; mn = min

Tableau 1. Erreurs relatives standard 4 s/m sur les poids humides après essorage à 600 t/min durant 1 min, calculées pour 10 mesures

	Moyenne m (g)	Ecart- type s	Erreur relative standard 4 s/m (%)
Billes de verre	5,340	0,0072	0,5
Billes de verre	30,186	0,0710	0,9
Euphausiacés	3,275	0,0138	1,7
Euphausiacés	2,947	0,0137	1,9
Euphausiacés	38,097	0,2237	2,3
Euphausiacés	18,225	0,1375	3,0
Carides	12,031	0,0915	3,0
Larves de poissons	2,927	0,0120	1,6
<i>Diaphus</i>	11,276	0,0460	1,7
<i>Cyclothone pallida</i>	2,646	0,0124	1,9
<i>Cyclothone pallida</i>	2,318	0,0193	3,3
<i>Sternoptyx diaphana</i>	0,851	0,0149	7,0
<i>Sternoptyx diaphana</i>	10,239	0,3547	14,0
Leptocéphales	3,487	0,0875	10,0
Leptocéphales	3,198	0,1084	13,5
Fraction fine ^a	2,687	0,1743	26,0
Organismes gélatineux ^b	1,734	0,2020	47,0
Organismes gélatineux	24,066	1,8280	30,0
Chétognathes	0,864	0,1249	57,8
Chétognathes	1,161	0,2999	106,4

^a Petits Copépodes, petits Euphausiacés, petits organismes gélatineux et débris divers.

^b Salpes, Doliolles, Pyrosomes, Siphonophores.

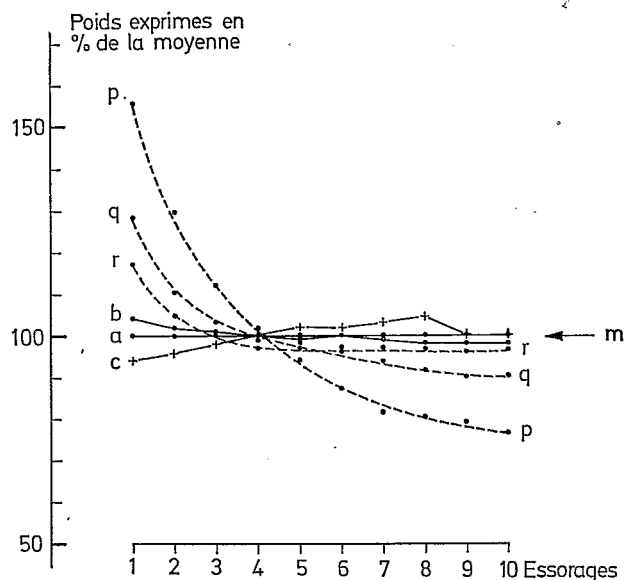


Fig. 4. Poids humides des échantillons après chacun des 10 essorages. Les poids sont exprimés en % de la moyenne. (a) Billes de verre, Euphausiacés, Carides, larves de poissons, *Diaphus*, *Cyclothone pallida*; (b) *Sternoptyx diaphana*; (c) Leptocéphales; (p) Chétognathes; (q) organismes gélatineux; (r) fraction fine

atteindre, dans le cas des Chétognathes, 80% de la valeur moyenne; la succession des essorages modifie donc l'échantillon. En toute rigueur, pour étudier la reproductibilité de la méthode, on devrait effectuer un calcul de corrélation pour éliminer la variabilité due à la décroissance des poids. Ce calcul isolerait une variabilité du même ordre de grandeur que celle trouvée pour la première famille, mais ne correspondrait à rien de réel car le poids humide de ces organismes fragiles avant le premier essorage dépend en fait des traitements subis par les récoltes (collecte, stockage, action du formol, manipulations diverses) qui conduisent à une détérioration importante et variable qui reste inconnue (GRANDPERRIN et CABOCHÉ, 1968). Si l'on estime que les 10 essorages successifs équivalent largement à la somme de tous les traitements que peuvent subir les organismes depuis leur capture et si l'on retient l'intervalle 4s dans le calcul de la variabilité (s'étant l'écart-type), on se place dans les conditions les plus défavorables de reproductibilité, testant ainsi la somme de la variabilité due à la seule méthode et de la variabilité du poids initial. Il s'en suit que pour les organismes de la deuxième famille, c'est le principe même d'évaluation des poids humides, et non sa variabilité, qui paraît inadapté. En fait, pour ces organismes riches en eau et très fragiles, la méthode d'essorage définie ci-dessus n'est guère satisfaisante mais elle ne paraît pas moins mauvaise que toute autre méthode d'élimination de l'eau externe.

En conclusion, la méthode d'essorage par centrifugation à 56 g durant 1 min permet d'envisager une estimation satisfaisante et reproductible des poids humides en vue d'études générales de distribution des biomasses micronectoniques. Elle présente de plus l'avantage d'être très rapide.

Résumé

1. Les auteurs décrivent une méthode permettant, par centrifugation, d'essorer rapidement, sans les

détériorer, les organismes du micronecton en vue de pesées humides reproductibles. La vitesse de rotation correspondant à une accélération centrifuge de 56 g est déterminée comme éliminant l'eau interstitielle retenue par des billes de verre. Une durée de centrifugation de 1 min est retenue car elle restitue les organismes en parfait état.

2. La reproductibilité de la méthode est testée sur les billes de verre et sur divers groupes d'organismes. Indépendante de la taille des échantillons, elle varie suivant les organismes. Elle est d'autant meilleure que leur teneur en eau est plus faible.

3. Cette méthode permet donc d'évaluer des poids humides dans de bonnes limites de reproductibilité pour les organismes à teneur en eau moyenne ou faible et n'introduit pas de variabilité supplémentaire pour les organismes riches en eau pour lesquels les variations de pertes d'eau interne dues aux manipulations sont prépondérantes.

Littérature citée

- FROLANDER, F.: A plankton volume indicator. *J. Cons. int. Explor. Mer.* **22**, 278—283 (1957).
- GRANDPERRIN, R. et C. CABOCHÉ: Aperçu sur l'action des procédés de conservation sur la biomasse d'organismes micronectoniques et macroplanctoniques. *J. Cons. int. Explor. Mer* **32**, 209—215 (1968).
- SUTCLIFFE, W. H. J.: An improved method for the determination of preserved plankton volume. *J. Oceanogr. Limnol.* **2**, 295—296 (1957).
- TRANTER, D. J.: A method for determining zooplankton volumes. *J. Cons. int. Explor. Mer* **25**, 272—278 (1960).
- YENTSCH, C. S. and J. F. HEBARD: A gauge for determining plankton volumes by the mercury immersion method. *J. Cons. int. Explor. Mer* **22**, 184—190 (1957).
- First author's address: Monsieur R. GRANDPERRIN
Centre O.R.S.T.O.M. de Noumea
B. P. 4
Noumea, New Caledonia