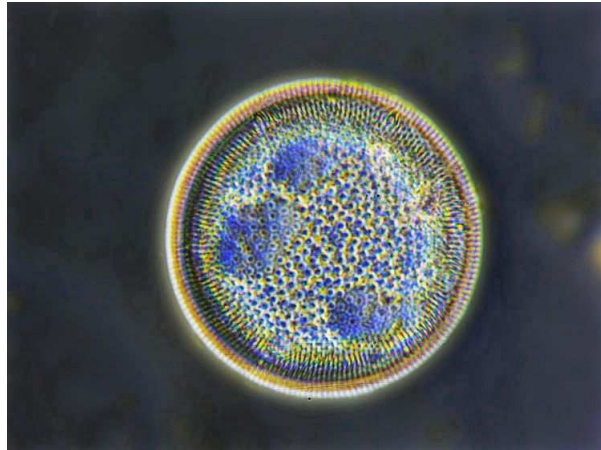


Le nettoyage des diatomées

Jean-Pierre Claes (†)

Les diatomées recueillies en eau douce ou eau marine sont des algues microscopiques unicellulaires, donc de nature végétale ; elles comportent une enveloppe externe en silice, transparente et rigide, qu'on appelle frustule.

Pour la biologie de ces organismes, voir les pages précédentes.



20 µm obj. x63 R=1:4,23
Micro / Bino : LBITZ - Photo : Canon EOS 40D

Actinocyclus octonarius var. *crassus* Réf 24486
Contraste de phase - Prép : zrax - Colo : Aucune - Obj 63x NA 1.40 oil
Mer littoral breton - J.P. Claes - 30/10/2011

Traitement : au préalable, s'il s'agit de diatomées recueillies dans de l'eau de mer, il convient de remplacer complètement l'eau salée par de l'eau douce. Cela demande de multiples décantations où on ne recueille que le fond. Durée : 45 minutes par cm de hauteur d'eau.

Si la récolte contient beaucoup de déchets, mousses, algues etc. il convient de les séparer des diatomées ; pour cela, deux façons de faire pour éliminer les gros débris :

+ ébouillanter au four à micro-ondes durant quelques instants et laisser reposer plusieurs heures ;

+ se munir d'une passoire en plastique à mailles fines et avec les doigts, bien mélanger le contenant pour que les diatomées se détachent de leur support, et tombent au fond d'un

réipient, sous éventuellement un filet d'eau. Et puis laisser décanter.

A partir de ce moment, on peut commencer la chimie.

Il existe de nombreuses « recettes » qui ont été publiées pour cela, et qui bien souvent se recourent.

Voici celle que nous utilisons :

- 1.- Laisser la suspension (avec ou sans addition de formol) au repos pendant plusieurs heures, pour que toutes les diatomées se déposent sur le fond.
- 2.- Ôter le maximum d'eau avec une pipette et remplacer par de l'eau de javel. Laisser séjourner de 1 à 3 jours ; remplacer éventuellement l'eau de javel, si les frustules ne sont pas propres. Puis rinçage 6x à l'eau du robinet. Si c'est propre, passer au n° 4.



Dimensions: 144 x 62 µm

50 µm obj. x20 R=1:4,5

Micro / Bino : LBITZ - Photo : Canon EOS 40D

Biddulphia pulchella Gray réf. 16465
Eclairage oblique - Prép : Zrax - Colo : Aucune - Stack 14 images
Mer - Côte Bretonne - J.P. Claes - 28/02/2011



20 µm obj. x20 R=1:4,1
Micro / Bino : LBITZ - Photo : Canon EOS 40D

Navicula bomboides (A.Schm) Réf 14626
Eclairage oblique - Prép : Zrax - Colo : Aucune -
St Laurent la Vernède - J.P. Claes - 22/01/2011

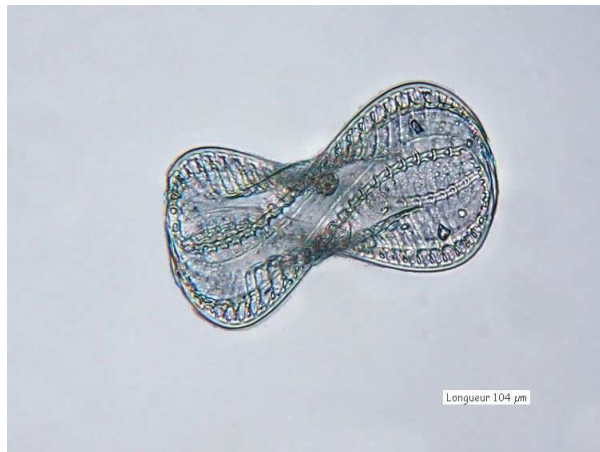
3.- Si les diatomées contiennent encore beaucoup des déchets, procéder à des bains d'eau oxygénée. Prélever 4 cc du fond de la suspension, y ajouter 20 cc d'eau oxygénée à 30% et laisser séjourner pendant 1 h ; ou chauffer à 90° pendant ½ h. avec seulement 10 cc d'eau oxygénée. Cette opération est suivie de 4 lavages à l'eau du robinet et 2 lavages en eau décalcarisée. Après la dernière décantation, recueillir le fond.

4.- Ajuster le volume avec de l'eau décalcarisée par moitié et de l'alcool à 90° pour l'autre moitié, afin d'obtenir une suspension qui soit légèrement trouble, ni trop dense ni trop diluée : une concentration qui permette de placer une goutte du prélèvement sur une lame, avec une densité

appropriée de diatomées.

5.- Procéder au montage sous médium.

NB : si malgré le traitement décrit ci avant, le prélèvement s'avérait encore insuffisamment purifié, il faudrait continuer le traitement avec de l'acide chlorhydrique pour éliminer les déchets restants.

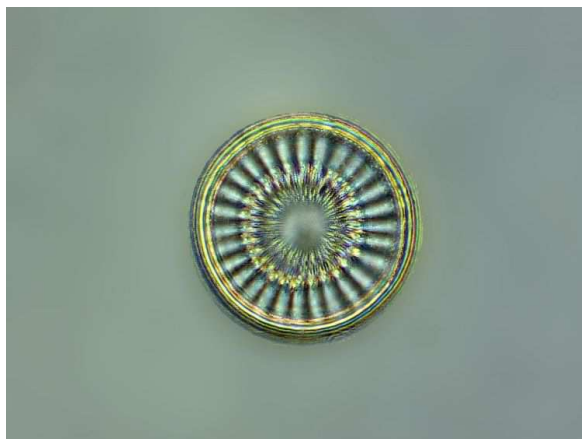


50 µm obj. x20 R=1:4,1
Surirella spiralis (Kutz) Réf 8543
 Fond Clair - Prép. : Zrax - Colo : Aucune - Stack 30 images
 Ruisseau Kinsendael - J-P Claes - 10/09/2010
 Micro / Bino : LEITZ - Photo : Canon EOS 40D

Cependant, dans certains cas ou le prélèvement est fort chargé en particules lourdes telles que du sable, il faut faire un prélèvement de la suspension au bout de quelques 10 à 20 secondes pour séparer le fond non désiré, des diatomées. Cela demande un contrôle des rejets sous micro-scope, tant du fond que de la suspension. Cette opération doit se répéter souvent plusieurs fois sur le fond restant, car certaines grosses diatomées se déposent aussi rapidement que le sable !

Le montage des diatomées

Nous avons constaté à maintes reprises qu'il était difficile d'avoir une bonne répartition des diatomées sur la lame : on a soit des agglomérats localisés soit une concentration excessive sur le pourtour de la goutte déposée.



20 µm obj. x40 R=1:3,7
Réf 13050
 Eclairage oblique - Prép. : Zrax - Colo : Aucune
 St Laurent la Vermède - J-P Claes - 27/12/2010
 Micro / Bino : LEITZ - Photo : Canon EOS 40D

provoque une réaction qui étale la grosse goutte obtenue sur une plus grande surface.

- Enfin, sur cette grosse goutte, déposer une goutte de « concentré » de diatomées.
- Les diatomées se répartissent bien sur toute la surface de cette grosse lentille (pour rappel, cette goutte de diatomée est composée pour moitié d'eau déminéralisée et pour moitié d'alcool).
- Ensuite, activer la plaque chauffante doucement, en jouant sur le thermostat, de sorte que la plaque chauffe très lentement au début (on voit que les diatomées s'agitent et se déplacent un peu) ; porter la température, pendant quelques instant seulement, aux environs de 70 à 80°C ; (ici, les diatomées ne bougent plus ... mais attention ! l'eau ne peut pas bouillir).

Pour ce faire, mettre 50 % d'acide et laisser bouillir pendant 2 heures. Ensuite procéder à 6 lavages consécutifs, comme décrit au n° 3 ; et terminer le traitement comme indiqué au n° 4.

Ce traitement est relativement long ; il demande toujours 6 lavages intermédiaires d'une durée de 45 min. par cm de hauteur du liquide, afin que toutes les diatomées puissent se déposer sur le fond, les plus grosses se déposant en premier lieu.



50 µm obj. x20 R=1:4,9
Réf 0544
 Fond clair - Prép. : Zrax - Colo : Aucune
 St Laurent la Vermède - J-P Claes - 18/08/2010
 Micro / Bino : LEITZ - Photo : Canon EOS 40D

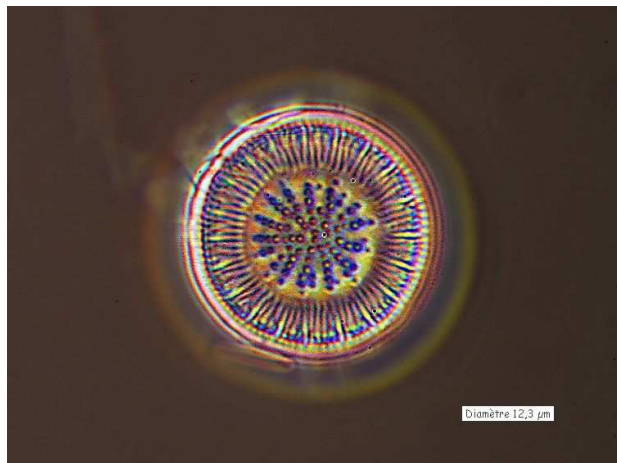
Voici la façon dont nous procédons et qui nous donne de bons résultats.

- Utiliser de grandes LCO de 22 x 22 mm, nettoyées à l'alcool à brûler.
- Placer les LPO sur une plaque chauffante froide (nous utilisons une petite plaque à griller électrique avec thermostat, achetée pour quelques euros, dans une grande surface).
- Déposer 2 gouttes d'eau déminéralisée et ensuite poser dessus 3 gouttes d'alcool : cela



20 µm obj. x20 R=1:4,9
PINNULARIA Majori (Ehr) Réf 9573
 Fond clair - Prép. : Zrax - Colo : Aucune
 Meras (Kinsendael) - J-P Claes - 29/09/2010
 Micro / Bino : LEITZ - Photo : Canon EOS 40D

- Laisser refroidir doucement et répéter cette procédure jusqu'au séchage complet (cela dure environ une dizaine de minutes).



10 μm obj. x105 R=1,4
Micro / Bino : Naxhet 300 - Photo : Canon EOS 40D

CYCLOTELLA compta réf 4532
Contraste de phase - Prép : Zrax - Colo : Aucune
Lac Disséminé Monténégro - J-P Claes - 04/06/2010

complet

La suite du montage est comme il est d'usage :

- La LPO, nettoyée à l'alcool, reçoit 2 à 3 gouttes de Styrax, Zrax ou Naphrax en son centre et on y dépose avec soin la LCO.
- On chauffe la lame doucement à environ 50°C., jusqu'à bullage de la résine et donc évaporation du diluant (Xylène, Xylol, etc.).
- Placer un petit poids sur la LCO pour assurer une épaisseur minimum de résine (notre expérience avec le Zrax nous permet, après 3 ou 4 jours, de manipuler la lame sans risque sous le microscope. Avant cela, il faut être très prudent lors de l'utilisation d'objectifs à fort grossissement, très proches de la lamelle.
- Garder les lames bien à plat pendant plusieurs semaines jusqu'à durcissement du médium.



Dim. 553 x 29 μm

20 μm obj. x40 R= 1:5,2

Micro / Bino : LEITZ - Photo : Canon EOS 40D

Navicula Szontaghii (Nov) spc RéI 12931

Fond Noir - Prép : Zrax - Colo : Aucune
St Laurent la Vernède (Fossile) - J-P Claes - 25/12/2010