
**Qualité du sol — Prélèvement
des invertébrés du sol —**

**Partie 2:
Prélèvement et extraction
des micro-arthropodes (Collembola
et Acarina)**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Soil quality — Sampling of soil invertebrates —

*Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (Collembola and
Acarina)*

ISO 23611-2:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/24c7afb4-b4d9-40fb-9761-127daaf55fc/iso-23611-2-2006>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 23611-2:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/24c7afb4-b4d9-40fb-9761-127daaaf55fc/iso-23611-2-2006>

© ISO 2006

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Termes et définitions	1
3 Principe	2
4 Matériaux d'essai	2
4.1 Matériel biologique	2
4.2 Réactifs	2
5 Appareillage	3
6 Mode opératoire	4
6.1 Collecte des échantillons de sol	4
6.2 Extraction des collemboles et des acariens des échantillons de sol	4
6.3 Tri, conservation et identification des collemboles et des acariens	5
7 Évaluation des résultats	6
8 Rapport d'étude	7
Annexe A (informative) Détermination des espèces de collemboles et d'acariens	8
Annexe B (informative) Méthodes alternatives pour le prélèvement des micro-arthropodes	10
Bibliographie	11

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 23611-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

L'ISO 23611 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol*:

- *Partie 1: Tri manuel et extraction au formol des vers de terre*
- *Partie 2: Prélèvement et extraction des micro-arthropodes (Collembola et Acarina)*
- *Partie 3: Prélèvement et extraction du sol des enchytraeides*
- *Partie 4: Prélèvement, extraction et identification des nématodes du sol*

Introduction

La présente partie de l'ISO 23611 a été élaborée pour satisfaire le besoin croissant de normalisation des méthodes de prélèvement et d'extraction des micro-arthropodes du sol. Ces méthodes sont nécessaires pour les différentes applications suivantes:

- la classification biologique des sols, y compris l'évaluation de la qualité des sols (par exemple Références [31], [32], [35], [41], [45] et [46]);
- la bio-indication terrestre et la surveillance à long terme (par exemple Références [1], [7], [17], [40], [42]).

Les données obtenues à l'aide de méthodes normalisées permettent des évaluations plus précises et donc une comparaison plus fiable entre différents sites (par exemple des sites pollués face à des sites non pollués, modifications des pratiques d'exploitation du sol).

Parmi les différents groupes de micro-arthropodes, les collemboles et les acariens sont les groupes les plus étudiés en écologie des sols. Leur pertinence par rapport au sol est due à leur grande abondance et diversité, mais aussi au rôle qu'ils jouent dans les principaux processus biologiques. Les collemboles et les acariens oribates agissent essentiellement en tant que catalyseurs de la décomposition de la matière organique [4], [20], alors que les acariens prédateurs peuvent jouer un rôle en bout de chaîne trophique du sol [9]. Ces caractéristiques, ajoutées à la bonne connaissance de leur taxinomie, ont favorisé leur utilisation en tant qu'organismes d'étude au sein de plusieurs programmes de recherche traitant des impacts de l'exploitation forestière (par exemple Références [12], [13], [14], [15], [18], [19], [21], [22], [23], [25], [26], [27], [28], [29], [30], [31], [33], [34], [37], [38] et [39]) ou des pratiques de gestion des cultures (par exemple [6], [11], [16], [24]). Ces caractéristiques en font des organismes utiles comme bio-indicateurs pour mesurer des changements dans la qualité du sol, en particulier en raison des pratiques d'exploitation du sol et de la pollution [43].

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/24c7afb4-b4d9-40fb-9761-127daaf55fc/iso-23611-2-2006>

iTeh STANDARD PREVIEW **(standards.iteh.ai)**

ISO 23611-2:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/24c7afb4-b4d9-40fb-9761-127daaf55fc/iso-23611-2-2006>

Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol —

Partie 2:

Prélèvement et extraction des micro-arthropodes (Collembola et Acarina)

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 23611 spécifie une méthode pour le prélèvement, l'extraction et la conservation des collemboles et des acariens du sol prélevés sur le terrain comme prérequis à l'utilisation de ces animaux en tant que bio-indicateurs (par exemple pour évaluer la qualité d'un sol en tant qu'habitat pour des organismes).

Il est possible de trouver des informations de base sur l'écologie des micro-arthropodes et leur utilisation dans les références citées dans la bibliographie.

Les méthodes de prélèvement et d'extraction de la présente partie de l'ISO 23611 s'appliquent à la quasi-totalité des sols. Les sols présents sous des conditions climatiques extrêmes (sols durs, gelés ou inondés) et les matrices autres que le sol, à l'instar des troncs d'arbres, des plantes ou des lichens, peuvent être considérés comme des exceptions. En ce qui concerne les généralités de la conception de l'échantillonnage pour les études de terrain, voir l'ISO 10381-1.

Les méthodes pour quelques autres groupes d'organismes du sol tels que les vers de terre sont traitées dans d'autres parties de l'ISO 23611.

La présente partie de l'ISO 23611 ne traite pas de la caractérisation pédologique du site, qui est vivement recommandée en cas de prélèvement des invertébrés du sol. L'ISO 10390, l'ISO 10694, l'ISO 11272, l'ISO 11274, l'ISO 11277, l'ISO 11461 et l'ISO 11465 s'avèrent plus adéquates pour mesurer le pH, la distribution granulométrique, le rapport carbone-azote, la teneur en carbone organique et la capacité de rétention d'eau.

2 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

2.1

micro-arthropodes

groupe défini par sa petite taille (de 100 μm à quelques millimètres) constituant une partie importante du réseau trophique sous-terrain dans un grand nombre d'écosystèmes terrestres

NOTE Ce groupe est composé principalement des acariens (Acarina), des collemboles (Collembola), des Protura, des Diplura, des scolopendres des jardins (Symphyla), des Paurapoda, de petits scolopendres et mille-pattes et d'insectes et de leurs larves issus de plusieurs ordres (Diptères, Coléoptères, etc.).

3 Principe

Les échantillons de sol sont prélevés sur le terrain à l'aide d'un carottier stratifié. Les carottes de sol sont placées dans des tubes ou des sacs en plastique puis transportées vers le laboratoire. Ensuite, les collemboles et les acariens sont rapidement extraits (en l'espace de quelques jours) à l'aide de méthodes comportementales, au moyen du dispositif de MacFadyen et conservés à des fins ultérieures d'identification [7], [40]. De plus, les techniques de préparation sont aussi décrites. Pour finir, les valeurs d'abondance peuvent être recalculées et rapportées à une surface (généralement 1 m²), un volume ou une masse (généralement 1 kg).

NOTE D'autres méthodes d'extraction peuvent se révéler utiles dans des cas particuliers. Il est possible d'utiliser les méthodes de flottation (par exemple la méthode de flottation dans l'heptane) dans le cas de sols argileux ou limoneux et, lorsque les échantillons sont prélevés sur de la litière, il est conseillé d'utiliser un extracteur de Kempson [40].

4 Matériaux d'essai

4.1 Matériel biologique

Les Collembola (collemboles) sont de petits hexapodes sans ailes (dont la longueur est comprise entre 150 µm et 9 mm), possédant une tête caractéristique avec une paire d'antennes, dépourvus de véritables yeux composés, avec six segments abdominaux et trois appendices pré-génitaux au niveau de l'abdomen. Le premier segment présente un tube ventral (ou collophore) utilisé pour adhérer aux surfaces lisses. Le nom de Collembola vient de sa structure (du grec *colla* = colle et *embolon* = barre). Le troisième segment présente le rétinacle qui maintient l'appareil de saut dans sa position normale. L'appendice sauteur, la *furcula* (ou ressort), lorsqu'il est présent, se situe sur le quatrième segment. Les collemboles vivent dans la litière et dans le sol et présentent des formes de vie très variées. Ils appartiennent à la classe Collembola et peuvent être répartis en 18 familles [17].

Les acariens du sol sont de petits arthropodes chélicérates apparentés aux araignées (longueur comprise entre 150 µm et < 5 mm), vivant dans le sol et la litière et présentant aussi des formes de vie très variées. Ils appartiennent à la classe Arachnida, sous-classe Acarida, qui comprend quatre groupes distincts: Cryptostigmates (Oribates), Mésostigmates (Gamasides), Prostigmates (Trombidiformes) et Astigmates.

NOTE Quelques indications sur la taxinomie des collemboles et des acariens sont fournies dans l'Annexe A.

4.2 Réactifs

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité reconnue et de l'eau distillée.

4.2.1 Propan-2-ol, à 80 % (fraction volumique).

4.2.2 Formol [solution de formaldéhyde à 40 % (fraction volumique)].

4.2.3 Acide acétique.

4.2.4 Phénol, C₆H₅OH, cristallin (acide carbolique).

4.2.5 Acide chlorhydrique, *c*(HCl) de 8 mol/l à 10 mol/l.

4.2.6 2,2,2-Trichloro-1,1-éthanediol (hydrate de chloral).

4.2.7 1,2,3-Trihydroxy propane (glycérine).

4.2.8 Fixateur de von Törne: utilisé pour conserver les animaux extraits, composé de propan-2-ol (80 %), de formol (40 %) et d'acide acétique glacial (fraction volumique 10:0,3:0,03).

4.2.9 Milieu d'éclaircissement de Nesbitt, utilisé pour éclaircir les spécimens d'acariens, composé d'hydrate de chloral (80 g), d'eau distillée (50 ml) et d'acide chlorhydrique concentré (5 ml).

4.2.10 Solution de lactophénol, utilisée pour éclaircir les spécimens d'acariens, composée d'acide lactique (10 ml), de cristaux de phénol (3,6 g) et d'eau distillée (5 ml).

4.2.11 Acide hydroxy-2-propanoïque (acide lactique), utilisé pour éclaircir et observer les spécimens de micro-arthropodes, en particulier les acariens oribates sous le microscope.

4.2.12 Éthanol, de 70 % à 75 % (fraction volumique), utilisé pour la fixation et la conservation (dans ce dernier cas, il est aussi combiné avec de la glycérine 10:1).

4.2.13 Milieu de Hoyer, utilisé pour monter des spécimens de collemboles, composé d'eau distillée (50 ml), de gomme arabique (30 g), d'hydrate de chloral (200 g) et de glycérine (20 ml).

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et ce qui suit.

5.1 Mètre ruban.

5.2 Flacons de collecte.

5.3 Pissette.

5.4 Pincés, pipette, pinceau fin, aiguilles fines.

5.5 Boîtes de Petri.

5.6 Microscope stéréoscopique.

5.7 Microscope, à contraste de phase ou interférentiel de préférence.

5.8 Lames, creuses en leur centre, et **lamelles** pour microscope.

5.9 Plaque chauffante électrique.

5.10 Flacons en plastique.

5.11 Éléments chauffants en céramique.

5.12 Crayon, carnet de notes, marqueur indélébile, étiquettes.

5.13 Carottier stratifié

Dispositif de prélèvement fabriqué en acier inoxydable ou aluminium (il peut être de 40 cm de long et, par exemple, de 5,6 cm de diamètre; il convient que la taille et le diamètre ne s'écartent pas beaucoup de ces valeurs afin de conserver des conditions comparables) utilisé pour recueillir des carottes de sol (échantillons). Il peut être composé de deux parties indépendantes qui s'adaptent le long de l'axe principal du carottier ou n'être constitué que d'un seul tube. Il est muni d'une poignée dans sa partie supérieure et d'un bord tranchant dans sa partie inférieure.

5.14 Dispositif de MacFadyen

Dispositif d'extraction (multiple) à gradient élevé utilisé pour extraire les micro-arthropodes des échantillons de sol. Le principe consiste à créer un gradient de température artificiel entre le bidon qui contient l'échantillon (chaud) et le dispositif de collecte situé en dessous (froid), ce qui induit un comportement de thermotaxie négative (et aussi d'hygrotaxie positive, de phototaxie négative et de scototaxie positive) chez les animaux qui, par voie de conséquence, quittent l'échantillon de sol.

5.15 Tubes en plastique, munis de bouchons (diamètre de 5 cm, longueur de 5 cm) ou **sacs en plastique**, pour conserver les échantillons de sol.

5.16 Extracteur de Kempson, utilisé lorsque les échantillons concernent la litière.

5.17 Cadre de prélèvement (25 cm × 25 cm × 15 cm), fabriqué en acier inoxydable et présentant des bords tranchants pour prélever les animaux de la couche de litière.

NOTE Pour plus d'informations sur le matériel cité de 5.13 à 5.17, voir les Références [7] et [40].

6 Mode opératoire

6.1 Collecte des échantillons de sol

Un échantillon de sol est prélevé à chaque point d'échantillonnage (défini au préalable selon les règles de conception de l'échantillonnage) à l'aide d'un carottier stratifié (5.13); il est possible d'utiliser le même carottier dans les sols inondés, mais il convient de se munir d'un embout pour retenir le sol après l'extraction.

NOTE En plus des caractéristiques générales du site (voir Article 1), il est utile de déterminer l'humidité réelle du sol à échantillonner.

Après extraction de l'échantillon, le carottier est ouvert et la carotte de sol est séparée en une couche de litière (y compris l'horizon humique) et en une couche correspondant aux 10 cm supérieurs du sol minéral. En règle générale, des couches de 5 cm sont utilisées pour la partie superficielle de l'horizon minéral, mais s'il est nécessaire d'affiner l'analyse, il est possible de définir des couches plus minces. Il convient de noter la profondeur de la couche de litière. Ensuite, chaque couche est conditionnée dans des tubes en plastique (5.15) fermés par des bouchons, étiquetés et stockés en vue de leur transport vers le laboratoire. Des sacs en plastique (5.15) peuvent remplacer les tubes en plastique, mais des précautions particulières doivent être prises lors du conditionnement afin d'éviter de perturber la structure de la carotte et de tasser le matériau de sol, ce qui pourrait entraîner la mort des animaux. Il convient que le laps de temps écoulé entre le prélèvement et l'extraction ne dépasse pas quelques jours, pour éviter des effets secondaires indésirables dus au confinement et aux dérives des micro-populations.

Si le prélèvement des animaux se restreint à la couche de la litière, un cadre de prélèvement (5.17) est utilisé. Le cadre est enfoncé dans la litière à la main. Immédiatement après, la litière se trouvant à l'intérieur du cadre et les échantillons de litière sont placés dans des sacs en plastique (5.15), qui sont étiquetés puis stockés.

6.2 Extraction des collemboles et des acariens des échantillons de sol

Au laboratoire, les animaux sont extraits au moyen de méthodes comportementales, par exemple à l'aide d'un extracteur de MacFadyen (5.14). Chaque carotte d'échantillon est placée à l'envers dans un bidon dont le fond comporte un filet en plastique ou en métal. Celui-ci est raccordé à un entonnoir fixé sur un flacon de collecte (5.2) contenant 25 ml de fixateur de von Törne (4.2.8).

Il est aussi possible d'utiliser une solution saturée d'acide picrique, une solution de 50 % d'éthylène glycol (plus quelques gouttes de détergent) ou même de l'éthanol à 75 % (4.2.12) comme fixateur.

Un gradient de température est créé entre la partie supérieure (où sont placés les échantillons) et la partie inférieure (où se trouvent les flacons de collecte) du système. La chaleur peut être produite par des éléments chauffants en céramique (5.11) générant environ 10 W par échantillon. Les flacons de collecte sont immergés dans un bain d'eau de refroidissement. Dans certains dispositifs du commerce, le gradient thermique est obtenu en faisant circuler de l'air réchauffé dans la zone du bidon et de l'air refroidi dans la zone de collecte.

Il convient que la différence de température entre les parties supérieure et inférieure soit d'environ 30 °C à 35 °C, la partie supérieure étant chauffée entre 45 °C et 50 °C et la partie inférieure étant refroidie généralement à 10 °C (température maximale sur le terrain). Des précautions doivent être prises pour éviter une augmentation brutale de la température de la partie supérieure, ce qui peut entraîner un dessèchement

rapide de l'échantillon et la mort des animaux. Par conséquent, il est recommandé d'augmenter progressivement la température de la partie supérieure, en démarrant à 5 °C au-dessus de la température du terrain pendant les trois premiers jours et en intensifiant le gradient pendant les six à sept jours suivants.

Le procédé d'extraction prend de neuf jours à dix jours. Ensuite, les échantillons d'animaux sont étiquetés et prêts à être stockés jusqu'au traitement (tri et identification). Il est recommandé de commencer l'extraction le plus tôt possible (c'est-à-dire le jour du prélèvement). Si le stockage est nécessaire, les échantillons de sols sont conservés à 4 °C.

NOTE 1 La méthode décrite ici n'est efficace que pour les stades de vie actifs, avec une efficacité d'extraction moyenne de 75 % à 80 % ^{[3], [41]}. Les œufs, d'autres stades quiescents et les animaux inclus dans des débris végétaux ne sont pas extraits par cette méthode. Il est aussi possible d'utiliser la méthode de flottation dans l'heptane ^[44] (voir Annexe B).

NOTE 2 La taille des bidons peut varier selon le type de dispositif. Généralement, on utilise des bidons de 200 cm³ (2,5 cm de rayon et 10 cm de hauteur) en plastique ou en métal. Cependant, certains dispositifs de MacFadyen du commerce utilisent des bidons plus grands, d'environ 800 cm³.

NOTE 3 Il est possible d'utiliser d'autres types de dispositif reposant sur le même principe (par exemple entonnoir de Berlese-Tullgren) pour extraire les animaux.

NOTE 4 Il est possible d'obtenir des lames semi-permanentes en montant directement des spécimens fixés à l'éthanol (4.2.12) dans un mélange de phénol (4.2.4), d'hydrate de chloral (4.2.6) et d'acide lactique (4.2.11), puis en conservant la préparation à l'abri de la dessiccation au moyen de plusieurs couches de vernis à ongles ou de résine similaire.

AVERTISSEMENT — Des précautions adéquates (le port de gants, par exemple) doivent être prises lors de l'utilisation du formol pour éviter tout risque d'inhalation ou d'exposition cutanée. Selon la fiche de données de sécurité concernant la solution de formaldéhyde à 37 %, telle qu'elle est éditée par les fabricants, le composé est un sensibilisant cutané et est considéré comme cancérigène (chez l'homme: symptômes limités; chez l'animal: éléments probants suffisants). Dans les pays industrialisés, il est légalement indiqué pour une utilisation scientifique.

6.3 Tri, conservation et identification des collemboles et des acariens

6.3.1 Tri et conservation

Après extraction, les animaux doivent être triés par groupes. Cela est effectué au microscope stéréoscopique (5.6), en plaçant les échantillons dans des boîtes de Petri (5.5). Il est possible de manipuler les animaux à l'aide d'une pipette ou d'un pinceau fin (5.4) et de les transférer dans des flacons en plastique (5.10) contenant de l'éthanol de 70 % à 75 % (4.2.12) pour une identification ultérieure.

6.3.2 Identification

6.3.2.1 Collemboles

Pour l'identification taxonomique, les spécimens sont montés sur une lame creuse (5.8) avec de l'acide lactique (4.2.11). Après avoir placé la lamelle en verre (recouvrant la moitié de la lame) et avoir ajusté les spécimens, la lame est chauffée sur une plaque électrique (5.9) jusqu'à ce que le corps de l'animal soit complètement distendu. Le spécimen peut alors être identifié au microscope (5.6) et la taille mesurée, si nécessaire. La préparation ainsi réalisée n'est pas permanente et permet une meilleure observation de l'animal sous tous les angles. Une analyse globale du type de caractères utilisés pour l'identification des collemboles est fournie dans la Référence [5].

NOTE 1 Il est possible de remplacer l'acide lactique (4.2.11) par un mélange d'acide lactique, de glycérine (4.2.7) et de formol (4.2.2) (fraction volumique 5:1:5) pendant le réchauffement pour distendre le spécimen.

NOTE 2 Il est aussi possible de réaliser des préparations permanentes, à l'aide de milieu de Hoyer (4.2.13) en tant que solution de montage, à des fins d'identification, après le réchauffement pour distendre le spécimen.