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

**Partie 5:
Prélèvement et extraction des macro-
invertébrés du sol**

*Soil quality — Sampling of soil invertebrates — Part 5: Sampling and
extraction of soil macro-invertebrates*
**iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)**

ISO 23611-5:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e10c9cce-c105-4362-8614-1bf18962ee03/iso-23611-5-2011>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 23611-5:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e10c9cce-c105-4362-8614-1bf18962ee03/iso-23611-5-2011>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2011

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

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 23611-5 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 des enchytréides*
- *Partie 4: Prélèvement, extraction et identification des nématodes du sol*
- *Partie 5: Prélèvement et extraction des macro-invertébrés du sol*
- *Partie 6: Lignes directrices pour la conception de programmes d'échantillonnage des invertébrés du sol*

Introduction

La présente partie de l'ISO 23611 a été élaborée en raison de la nécessité de normaliser les méthodes de prélèvement et d'extraction des macro-invertébrés du sol dans plusieurs pays (tempérés) européens et tropicaux. Ces méthodes sont nécessaires pour les applications suivantes:

- la classification biologique des sols, y compris l'évaluation de la qualité des sols (par exemple Références [21], [32] et [41]);
- la bio-indication terrestre et la surveillance à long terme (par exemple Références [71], [79], [80] et [81]).

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

Les sols du monde entier abritent des communautés de macro-invertébrés abondantes et très diversifiées, dont la biologie et l'écologie ont été largement étudiées. Les invertébrés du sol sont en effet des acteurs irremplaçables de la formation et de la conservation des sols dans les écosystèmes naturels. Leur importance pour le sol est due à leur grande abondance et à leur grande diversité, mais aussi au rôle qu'ils jouent dans les principaux processus biologiques. Ils constituent des indicateurs sensibles de la qualité des sols et sont des agents reconnus de leur fertilité (par exemple Références [63] et [56]). Parmi la grande variété d'espèces, de stratégies adaptatives et d'échelles de taille, un groupe spécifique, dont les membres sont également appelés «ingénieurs de l'écosystème du sol», inclut de grands invertébrés qui déterminent véritablement les activités d'autres organismes plus petits du fait des activités mécaniques qu'ils réalisent dans le sol (par exemple Références [24] et [49]).

iTeh STANDARD PREVIEW

Les macro-invertébrés du sol couvrent une large gamme de fonctions écologiques dans le sol: la décomposition de la matière organique, par leur activité propre et par la stimulation de l'activité microbologique du sol (par exemple Références [8], [10] et [40]), la prédation qui joue un rôle important dans les réseaux trophiques (par exemple Références [16], [55], [61], [64] et [68]), l'agrégation du sol, par la production de structures organo-minérales (par exemple nids, galeries, turricules) qui peuvent persister pendant des jours, des mois ou des années et la bioturbation du sol (par exemple Références [32]), etc. Ces caractéristiques, ajoutées à la bonne connaissance de leur taxinomie, ont permis 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 [18], [40], [50], [62], [65] et [75]) ou des pratiques de gestion des cultures (par exemple Références [15], [25], [31], [33], [34], [37], [42], [60] et [66]). Ces caractéristiques en font des organismes pertinents pour être utilisés comme bio-indicateurs afin de mesurer des changements de la qualité du sol, en particulier en raison des pratiques d'exploitation du sol et de la pollution (par exemple Références [26], [39], [48], [52], [53], [59], [65] et [79]).

La méthode proposée dans la présente partie de l'ISO 23611 couvre le prélèvement de tous les macro-invertébrés du sol. Toutefois, le prélèvement des vers de terre est déjà couvert dans l'ISO 23611-1. Cette méthode est décrite dans l'ISO 23611-1:2006, Annexe C, en tant que variante pour le prélèvement des vers de terre.

Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol —

Partie 5:

Prélèvement et extraction des macro-invertébrés du sol

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 23611 spécifie une méthode pour le prélèvement, l'extraction et la conservation des macro-invertébrés du sol, y compris la zone de litière. La méthode proposée est un 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). Les principes majeurs de cette méthode consistent à avoir une évaluation rapide (réaliser l'échantillonnage d'une zone en un ou deux jours avec un équipement de base et avec un nombre réduit d'assistants de terrain), pour être capable de traiter tous les groupes taxinomiques de macro-invertébrés du sol en même temps et au même endroit. La méthode TSBF (biologie et fertilité des sols tropicaux) a évolué et quelques modifications ont été introduites afin de l'utiliser dans des régions tempérées.

Les méthodes de prélèvement et d'extraction de la présente partie de l'ISO 23611 sont applicables à la quasi-totalité des sols, à l'exception des sols présents sous des conditions climatiques extrêmes (sols durs, gelés ou inondés) et les matrices autres que le sol, par exemple des troncs d'arbres, des plantes ou des lichens.

Le plan d'échantillonnage est spécifié dans l'ISO 23611-6.

NOTE 1 La méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 23611 est basée sur les lignes directrices qui ont été développées dans le cadre du programme de biologie et de fertilité des sols tropicaux (méthode TSBF)^[7].

NOTE 2 Les informations de base sur l'écologie des macro-invertébrés et leur utilisation peuvent être trouvées dans les références citées dans la Bibliographie.

2 Termes et définitions

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

2.1

macro-invertébrés

organismes du sol d'une taille moyenne supérieure à 10 mm

NOTE Voir Annexe A pour plus de détails.

EXEMPLE Ce sont notamment les groupes suivants: les Oligochètes, les Gastéropodes, les Chilopodes, les Diplopodes, les Isopodes, les Arachnides, plus divers insectes: les Coléoptères, les Orthoptères, les Hyménoptères, les Hémiptères, les Dermaptères, les Lépidoptères (larves) et les Diptères (larves).

2.2

masse imprégnée

masse des individus après conservation dans le formol ou l'éthanol (lorsque la substance utilisée pour la conservation a été absorbée par les tissus)

3 Principe

Les macro-invertébrés du sol sont collectés sur le terrain au moyen d'un cadre métallique pour délimiter la surface de sol du point d'échantillonnage. Les macro-invertébrés de la litière et du sol sont prélevés séparément. Dans les régions tempérées, un réactif est utilisé pour extraire les macro-invertébrés du sol. L'échantillonnage est complété par tri manuel. Les animaux sont conservés et transportés au laboratoire en vue de leur identification (par exemple Références [11], [12], [13], [14], [17], [19], [20], [22], [23], [27], [28], [29],

[30], [35], [36], [38], [45], [46], [47], [54], [57], [70], [72], [73], [76], [77], [78] et [84]). Les valeurs d'abondance sont généralement recalculées et rapportées à une surface (1 m²).

4 Réactifs

4.1 **Éthanol**, 70 % (fraction volumique).

4.2 **Formol** (solution de formaldéhyde), 4 % (fraction volumique).

Il convient de disposer à la fois d'éthanol à 70 % et de formol à 4 % pour la conservation des spécimens (le formol à 4 % est plus approprié pour les taxons dont le corps comporte des parties molles, qui peuvent être transférés dans l'éthanol après 4 jours de fixation).

4.3 **Formol**, 0,2 % (fraction volumique), préparé en diluant 25 ml de formol (39 %) dans 5 l d'eau, pour l'extraction des macro-invertébrés du sol.

5 Appareillage

Utiliser du matériel courant de laboratoire ainsi que ce qui suit.

5.1 **Boîtes de Petri.**

5.2 **Loupe binoculaire.**

5.3 **Flacons en plastique.**

5.4 **Pincés entomologiques.**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e10c9cce-c105-4362-8614-1bf18962ee03/iso-23611-5-2011>

5.5 **Crayon, carnet de notes, marqueur indélébile, étiquettes.**

5.6 **Mètres rubans.**

5.7 **Couteau** (verre taillé).

5.8 **Bêche.**

5.9 **Sacs en plastique tissé** (pour poser sur le sol).

5.10 **Balance de précision.**

5.11 **Plateaux plats larges en plastique** (500 mm × 400 mm × 100 mm), pour trier le sol et la litière.

5.12 **Tarière.**

5.13 **Petits plateaux en plastique.**

5.14 **Pincés fines (ou pincés entomologiques), pipette, pinceaux fins.**

5.15 **Flacons d'échantillonnage**, de différentes dimensions, munis de couvercles hermétiques étanches à l'alcool.

5.16 **Stylo à encre de Chine** (résistante à l'eau).

- 5.17 Carton rigide pour étiquettes, boussole.**
- 5.18 Grands sacs en plastique épais** (scellables).
- 5.19 Table et chaises en plastique**, pour le tri.
- 5.20 Bâche**, pour abriter de la pluie battante.
- 5.21 Gants en polyvinyle**, pour se protéger les mains du formol.
- 5.22 Cadre métallique**, de préférence de 250 mm × 250 mm.

Cadre de prélèvement (250 mm × 250 mm × 50 mm), en acier inoxydable et présentant des bords tranchants pour délimiter le point d'échantillonnage où les animaux sont prélevés dans la couche de litière et dans le sol.

- 5.23 Arrosoir.**
- 5.24 Paire de ciseaux**, pour couper la végétation à l'intérieur du cadre.
- 5.25 Balances de terrain.**

6 Mode opératoire sur le terrain

6.1 Généralités

Il convient de réaliser le prélèvement au moment où l'on pense pouvoir disposer de la biodiversité la plus large. Dans les régions tempérées, cela correspond au printemps ou à l'automne; dans les régions tropicales, il convient que le prélèvement soit effectué vers la fin de la saison des pluies.

Lorsqu'on prélève des invertébrés du sol, il est fortement recommandé de déterminer les caractéristiques physico-chimiques du sol. Il convient de mesurer notamment le pH, la granulométrie, le rapport C/N, la teneur en carbone organique et la capacité de rétention d'eau en utilisant l'ISO 10390, l'ISO 10694, l'ISO 11274, l'ISO 11277, l'ISO 11461 et l'ISO 11465.

6.2 Collecte des macro-invertébrés de la litière

À chaque point d'échantillonnage (= monolithe) (préalablement défini selon les règles du plan d'échantillonnage), un échantillon de litière est prélevé en utilisant un cadre métallique (5.22). Le cadre métallique est enfoncé manuellement dans la litière. La litière à l'intérieur du cadre est retirée et contrôlée à la main sur le terrain en utilisant un plateau large (5.11). Les invertébrés de la litière sont conservés dans le formol à 4 % (4.2).

6.3 Collecte des macro-invertébrés du sol

6.3.1 Généralités

Dans les pays tempérés, l'extraction des macro-invertébrés du sol est réalisée en deux étapes (voir 6.3.2.1 et 6.3.2.2), tandis que dans les pays tropicaux, seule la seconde étape doit être exécutée (voir 6.3.3).

6.3.2 Régions tempérées

6.3.2.1 Extraction au formol

La surface du sol délimitée par le cadre métallique (5.22) est arrosée de formol à 0,2 % (4.3) au moyen d'un arrosoir (5.23). Deux applications de 1,5 l de formol espacées d'environ 10 min sont réalisées. Les invertébrés du sol remontant à la surface sont ramassés et conservés dans des flacons (5.3) contenant du formol (4.2).

6.3.2.2 Tri manuel des macro-invertébrés «passifs»

À la fin de l'extraction au formol, le cadre métallique (5.22) est retiré et la couche correspondant aux 150 mm supérieurs du sol est creusée à l'intérieur de la surface du cadre (250 mm × 250 mm). Le sol creusé est placé dans un sac en plastique (5.18) qui peut être fermé par un couvercle pour empêcher les animaux de s'échapper de l'échantillon de sol.

Des sous-échantillons de sol appropriés sont prélevés dans le sac et étalés sur un plateau large (5.11). Les macro-invertébrés sont prélevés et conservés dans des flacons (5.3) contenant du formol (4.2). Après avoir procédé au tri manuel des macro-invertébrés, remettre le sol trié en place pour reboucher les trous du site d'échantillonnage.

6.3.3 Régions tropicales

Dans les pays tropicaux, les macro-invertébrés du sol sont échantillonnés en utilisant un monolithe de sol de 250 mm × 250 mm sur 300 mm de profondeur. Le monolithe est isolé en creusant le sol de quelques centimètres à l'extérieur du carré (cadre métallique) au moyen d'une bêche (5.8), puis en creusant une tranchée de 20 mm de largeur sur 300 mm de profondeur autour du carré. Cela facilite le découpage de l'échantillon en strates horizontales et la collecte des animaux s'échappant du bloc.

Le bloc délimité est divisé en trois couches, 0 mm à 100 mm, 100 mm à 200 mm et 200 mm à 300 mm, et le sol avec de la litière est trié manuellement dans des plateaux (5.11). Étant donné que le formol n'est pas utilisé dans les régions tropicales, la profondeur du prélèvement doit être doublée afin d'assurer le prélèvement des espèces de vers endogés.

Pour les insectes sociaux, il est recommandé de prendre des mesures spéciales qui prennent en compte leur grande abondance et leur dispersion inégale marquée; un nid peut contenir des millions d'individus dont il est possible qu'aucun ne soit prélevé par un transect court et la contribution de l'espèce concernée à un assemblage de macrofaune peut ainsi être totalement perdue. À l'inverse, un nid fortement peuplé directement prélevé par un monolithe peut produire une importante surestimation de la densité numérique totale ou de la densité de la biomasse. De manière générale, il convient que le transect TSBF soit placé de manière à éviter un contact direct avec des nids de termites ou de fourmis. Pour plus d'informations, voir Références [39] et [40]. Le protocole pour un transect de 100 m × 2 m conçu pour évaluer la biodiversité des termites (et la représentation du groupe trophique) est donné dans la Référence [52]. Lorsque les circonstances s'y prêtent, ce protocole peut également être déployé en parallèle avec le transect TSBF.

NOTE Outre la caractérisation générale du site, il est utile de déterminer l'humidité réelle du sol à échantillonner.

7 Mode opératoire au laboratoire

7.1 Traitement des échantillons collectés

Au laboratoire, les échantillons sont nettoyés et les animaux sont placés dans de nouveaux flacons (5.15) avec de l'éthanol (70 %, fraction volumique) (4.1). Les organismes dont le corps comporte des parties molles sont conservés dans le formol au moins pendant 4 jours ou à demeure si possible.

Pour l'identification taxonomique, les spécimens sont placés sur des boîtes de Petri (5.1) et observés à la loupe binoculaire (5.2). Une méthode pratique d'identification des macro-invertébrés consiste à les regrouper d'abord par ordres. Dans chaque ordre, on identifie ensuite les familles, et dans chaque famille, les espèces, en utilisant des clés taxonomiques (des exemples de clés taxonomiques sont cités dans la Bibliographie (Références [11], [12], [13], [14], [17], [19], [20], [23], [27], [28], [29], [30], [35], [36], [38], [45], [46], [47], [57], [72], [73], [77], [78] et [84]).

Il convient, dans l'idéal, de procéder à la détermination taxonomique des espèces. Si l'identification de l'espèce n'est pas possible à cause des contraintes de temps, de l'expertise taxonomique ou du manque de clés taxonomiques (un cas fréquent pour les régions tropicales, par exemple), le tri par genre (et certaines unités taxonomiques de rang supérieur) représente un bon compromis entre l'approche par espèces morphologiques et l'approche par le niveau ordinal, notamment en permettant d'affecter la plupart des spécimens à un groupe fonctionnel.

AVERTISSEMENT — Des précautions adéquates (c'est-à-dire le port de gants, d'un masque) doivent être prises lors de l'utilisation du formol pour éviter tout risque d'inhalation ou d'exposition cutanée. D'après la «Fiche de données de sécurité» pour une solution de formaldéhyde à 37 % éditée par les fabricants, le composé est un allergène cutané considéré comme cancérigène (chez l'homme: symptômes limités; chez les animaux: éléments probants suffisants). Dans les pays industrialisés, il est légalement indiqué pour une utilisation scientifique.

7.2 Conservation des spécimens

Pour n'importe quel échantillon mixte de macrofaune du sol, il convient de suivre les étapes suivantes pour obtenir des spécimens conservés selon des méthodes normalisées.

- a) Si le corps de l'animal ne comporte pas de parties molles, il convient que les organismes soient conservés dans de l'éthanol à 70 % (il convient de diluer l'éthanol commercial).
- b) Si le corps de l'animal comporte des parties molles, il convient que l'organisme soit fixé dans le formol à 4 % et il convient si possible qu'il soit conservé dans la même solution. En variante, on pourrait utiliser de l'éthanol à 80 % (si l'organisme a été fixé pendant au moins 4 jours avec du formol à 4 %).
- c) Dans tous les cas, il convient que les échantillons soient conservés séparément dans des flacons différents en tenant compte de la plus petite unité d'analyse (c'est-à-dire un monolithe si les données sont comparées à ce niveau).
- d) Il convient que chaque flacon soit étiqueté sans utiliser de codes chiffrés et au moins qu'il porte des inscriptions écrites à l'encre permanente, telle de l'encre de Chine, et en utilisant un papier résistant tel que le parchemin de chèvre. Il convient que chaque étiquette contienne les informations suivantes:
 - le pays;
 - la région;
 - la localité; <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e10c9cce-c105-4362-8614-1bf18962ee03/iso-23611-5-2011>
 - le nom du collecteur;
 - la date de la collecte.
- e) Pour la conservation des spécimens:
 - utiliser des flacons (ou des tubes en verre) qui ne sont pas dégradés par l'éthanol ou le formol et sont munis de couvercles à vis;
 - surveiller les niveaux d'éthanol et de formol de manière qu'ils demeurent constants;
 - ranger les flacons à l'abri des rayons du soleil;
 - changer la solution de conservation de chaque flacon une fois tous les cinq ans.

7.3 Détermination de la biomasse

La détermination de la biomasse est réalisée sur le matériel conservé. Il convient que la surface des animaux soit séchée avec précaution au moyen d'un papier filtre, puis que les animaux soient pesés à l'aide d'une balance de précision (0,001 g).

Il est pratiquement impossible de maintenir des invertébrés vivants après leur capture pour mesurer leurs masses fraîches. Dans la plupart des cas, les invertébrés sont conservés dans l'éthanol à 70 % (fraction volumique) ou dans le formol à 4 % (fraction volumique). Ce dernier est recommandé pour les vers de terre, qui doivent au moins être fixés dans le formol avant d'être conservés dans l'éthanol à 70 %. La conservation implique toujours une réduction de masse car l'eau du corps est extraite sous l'effet des forces osmotiques. La quantité d'eau perdue peut varier entre 15 % et 40 % selon la teneur en eau de l'animal et son état physiologique. Étant donné que la plupart des études ont pour seul but de comparer des situations et/ou des sites différents, la perte de masse ne risque pas de fausser le résultat. Si des données exactes relatives à la masse fraîche