

---

---

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

**Partie 3:  
Prélèvement et extraction des  
enchytréides**

*Soil quality — Sampling of soil invertebrates —  
Part 3: Sampling and extraction of enchytraeids*

*ITeH Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview*

[ISO 23611-3:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f68cdc5-bfad-44cf-b9fc-f552d4ab164f/iso-23611-3-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f68cdc5-bfad-44cf-b9fc-f552d4ab164f/iso-23611-3-2019>



iTeh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview

[ISO 23611-3:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f68cdc5-bfad-44cf-b9fc-f552d4ab164f/iso-23611-3-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f68cdc5-bfad-44cf-b9fc-f552d4ab164f/iso-23611-3-2019>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8  
CH-1214 Vernier, Genève  
Tél.: +41 22 749 01 11  
Fax: +41 22 749 09 47  
E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

# Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Principe</b> .....	<b>2</b>
<b>5</b> <b>Réactifs</b> .....	<b>2</b>
<b>6</b> <b>Appareillage</b> .....	<b>2</b>
<b>7</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>3</b>
7.1   Échantillonnage du sol.....	3
7.2   Extraction des enchytréides.....	3
7.3   Identification au microscope.....	5
7.4   Conservation des Enchytraeidae.....	5
7.5   Validité du procédé d'extraction.....	5
7.6   Détermination de la biomasse.....	6
<b>8</b> <b>Analyse des données</b> .....	<b>6</b>
<b>9</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>6</b>
<b>Annexe A (informative) Extraction rapide des enchytréides</b> .....	<b>8</b>
<b>Annexe B (informative) Exemples de l'utilisation des invertébrés du sol dans le cadre de programmes de surveillance du sol (avec présentation des résultats correspondants)</b> .....	<b>10</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>12</b>

[ISO 23611-3:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f68cdc5-bfad-44cf-b9fc-f552d4ab164f/iso-23611-3-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f68cdc5-bfad-44cf-b9fc-f552d4ab164f/iso-23611-3-2019>

## 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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

L'attention est attirée 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir [www.iso.org/brevets](http://www.iso.org/brevets)).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir [www.iso.org/avant-propos](http://www.iso.org/avant-propos).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Caractérisation biologique*. <https://standards.iso.org/2168cdc5-bfad-44cf-b9fc-f552d4ab164f/iso-23611-3-2019>

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 23611-3:2007), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

- ajout d'exemples de programmes de surveillance d'enchytréides (avec présentation des résultats correspondants) sous forme d'annexe informative.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 23611 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse [www.iso.org/fr/members.html](http://www.iso.org/fr/members.html).

## Introduction

Le présent document a été élaboré pour répondre à un besoin croissant de normalisation de méthodes d'analyse sur le terrain de la faune terrestre. Ces méthodes, traitant principalement du prélèvement, de l'extraction et de la manipulation des invertébrés du sol, sont nécessaires pour les applications suivantes:

- la classification biologique des sols, y compris l'évaluation de la qualité des sols (par exemple, Références [4], [25], [27], [31], [36]);
- la bio-indication terrestre et la surveillance à long terme (par exemple, Références [4], [30]);
- l'évaluation des effets de substances chimiques vis-à-vis des animaux du sol (Références [18], [26], [28]).

Étant donné qu'elles peuvent être à la base de décisions importantes (par exemple, s'il convient d'entreprendre ou non la dépollution d'un site particulier), les données relatives à ces applications sont obtenues à l'aide de méthodes normalisées. En fait, l'absence de méthodes normalisées de ce type est l'une des principales raisons pour lesquelles les concepts de classification biologique ont été utilisés relativement rarement, jusqu'à présent, dans des habitats terrestres (c'est-à-dire le sol) par rapport aux sites aquatiques.

À l'origine, les méthodes décrites dans le présent document ont été développées pour des études taxonomiques ou écologiques, visant à élucider le rôle des enchytréides dans différents écosystèmes terrestres. Ces animaux font indubitablement partie des invertébrés du sol les plus importants dans les régions tempérées (principalement dans les sols acides<sup>[7]</sup>). Leur incidence sur les fonctions du sol, comme la décomposition de la litière et le cycle des éléments nutritifs, est bien connue<sup>[17][23]</sup>. En raison de leur nombre souvent très élevé et de la biomasse de leur population, ils jouent également un rôle majeur dans de nombreux réseaux trophiques terrestres<sup>[6]</sup>. Certaines espèces ont été involontairement disséminées par l'homme dans les sols du monde entier.

Étant donné qu'il n'est ni possible, ni utile de normaliser des méthodes pour tous les organismes du sol, seuls les plus importants ont été sélectionnés. Les paramètres microbiologiques sont déjà traités par des normes ISO existantes (par exemple, l'ISO 14240-1, l'ISO 14240-2, l'ISO 17601, l'ISO/TS 29843-1 et l'ISO/TS 29843-2).



# Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol —

## Partie 3: Prélèvement et extraction des enchytréides

### 1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode pour le prélèvement, la manipulation et l'extraction des enchytréides 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).

Les informations de base concernant l'écologie des enchytréides et leur utilisation en tant que bio-indicateurs dans l'environnement terrestre sont disponibles dans la Bibliographie.

Le présent document s'applique à tous les biotopes terrestres dans lesquels des enchytréides sont présents. La conception de l'échantillonnage pour les études sur le terrain est, de manière générale, décrite dans l'ISO 18400-101. Ces détails peuvent varier en fonction des conditions climatiques/régionales du site sur lequel l'échantillon doit être prélevé et un aperçu de la détermination des effets sur site des polluants vis-à-vis des enchytréides est fourni dans la Référence [6].

Des méthodes applicables à d'autres groupes d'organismes du sol, comme les vers de terre ou les arthropodes, sont données dans les normes ISO 23611-1, ISO 23611-2, ISO 23611-4 et ISO 23611-5.

Le présent document n'est pas applicable aux sols très humides ou inondés et peut s'avérer difficile à mettre en œuvre dans des conditions climatiques ou géographiques extrêmes (en haute montagne, par exemple).

Lors du prélèvement d'invertébrés du sol, il est vivement recommandé de caractériser le site (par exemple, du point de vue des propriétés du sol, du climat et de l'utilisation du terrain). Cependant, cette caractérisation n'est pas traitée dans le présent document. Les normes ISO 10390, ISO 10694, ISO 11272, ISO 11274, ISO 11277, ISO 11461 et ISO 11465 sont plus appropriées pour le mesurage du pH, de la répartition granulométrique, du rapport C/N, de la teneur en carbone organique et de la capacité de rétention d'eau.

### 2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

### 3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp/>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

### 3.1 enchytréide

petit ver vivant dans le sol (de quelques millimètres à plusieurs centimètres de longueur) appartenant à la famille des Enchytraeidae, ordre des Oligochaeta, classe Clitellata, phylum Annelida

Note 1 à l'article: Le nom commun des enchytréides est «potworm» en anglais<sup>[35]</sup>.

EXEMPLE Espèces des genres *Enchytraeus*, *Fridericia* ou *Cognettia*.

## 4 Principe

Sur un site donné, les enchytréides sont prélevés dans le sol au moyen d'un carottier fendu pour prélèvement de sol (d'un diamètre généralement compris entre 3 cm et 6 cm) (6.1). Après le prélèvement, les échantillons de sol contenant les enchytréides sont transportés au laboratoire. Ensuite, les enchytréides sont extraits du sol par une méthode d'extraction humide. (Cette approche est connue de longue date<sup>[12][20][24]</sup>.) Après l'extraction, les enchytréides sont identifiés vivants et, si nécessaire, conservés de manière à pouvoir être stockés indéfiniment dans une collection (par exemple, à des fins taxonomiques).

La détermination de la biomasse des enchytréides est également décrite dans le présent document. Les valeurs d'abondance et de biomasse peuvent être recalculées et rapportées à la surface du carottier ou, plus rarement, à des paramètres de volume.

NOTE 1 Le prélèvement d'enchytréides fait souvent partie de programmes de surveillance plus vastes visant à couvrir la totalité ou une partie de la faune du sol (par exemple, la mésofaune). Des exemples d'utilisation des invertébrés du sol sont donnés dans l'Annexe B. La conception de tels programmes n'est pas comprise dans le présent document (voir toutefois la Référence [3], par exemple).

NOTE 2 Quelques indications relatives à la taxinomie des enchytréides sont fournies dans la Bibliographie.

## 5 Réactifs

5.1 **Eau du robinet** (dépourvue de propriétés toxiques, par exemple en raison d'une contamination par le cuivre).

5.2 **Éthanol**, à 70 % (fraction volumique).

5.3 **Rose de Bengale**, 4,5,6,7-tétrachloro-2',4',5',7'-tétraiodofluorescéine formulée comme un colorant.

5.4 **Fixateur de Bouin**, solution tamponnée de formaldéhyde, d'acide acétique et d'acide picrique.

5.5 **Paracarmin**, colorant préparé sous forme de mélange d'acide carminique, de chlorure d'aluminium et de chlorure de calcium dissous dans l'éthanol.

5.6 **Baume du Canada**, fluide naturel visqueux et jaunâtre contenant de 13 % à 14 % (fraction volumique) de Canadine acide (C<sub>20</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub>), de 48 % à 50 % (fraction volumique) de  $\alpha$ - et  $\beta$ -Canadinol acide (C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>) et de 5 % (fraction volumique) de Canadoesen (C<sub>21</sub>H<sub>40</sub>O).

## 6 Appareillage

6.1 **Carottier fendu pour prélèvement de sol** (par exemple, ayant un diamètre compris entre 3 cm et 6 cm et une longueur de carotte extraite de 10 cm à 30 cm); de longueur totale variable (selon qu'il est muni d'une poignée ou non) et utilisé avec un marteau anti-vibration en bois ou en plastique.



- 6.2 **Sachets en plastique** (par exemple, sachets pour congélation de 1 l); du commerce.
- 6.3 **Enregistreur de température ou thermomètre minimum/maximum.**
- 6.4 **Bols en plastique**, diamètre: 20 cm environ; hauteur: 10 cm environ; du commerce.
- 6.5 **Tamis en plastique**, diamètre: 15 cm environ, ouverture de mailles: 1,0 mm environ; du commerce.
- 6.6 **Ampoules de 60 W** en tant qu'élément chauffant; du commerce.
- 6.7 **Verrerie**, par exemple boîtes de Petri (de format carré) de 8 cm × 8 cm ou petits récipients en verre (de 50 ml, par exemple).
- 6.8 **Couteau de grande taille, affûté.**
- 6.9 **Réfrigérateur.**
- 6.10 **Microscope à dissection**, à faible grossissement (de 10 fois à 40 fois).
- 6.11 **Microscope** à grossissement élevé (de 60 fois à 400 fois) et équipé d'un dispositif de contraste interférentiel différentiel.
- 6.12 **Pincettes à ressort en acier** (plates).
- 6.13 **Outil de transfert**, pipette Pasteur, pince en acier doux ou aiguille à crochet.

## 7 Mode opératoire

### 7.1 Échantillonnage du sol

Les échantillons de sol à utiliser pour étudier la communauté des enchytréides sont prélevés de manière destructive au moyen d'un carottier fendu pour prélèvement de sol (6.1). Le carottier est pressé avec soin contre le sol pour l'y faire pénétrer. La profondeur de pénétration est fonction de l'utilisation du terrain et du type de sol mais, en règle générale, elle est comprise entre 10 cm (par exemple, en forêt) et 30 cm (par exemple, dans les zones cultivées), ce qui correspond aux couches dans lesquelles vit la majorité des enchytréides. Dans de rares cas (par exemple, si le sol comporte de grosses racines), il est possible d'utiliser un marteau anti-vibration en plastique ou en bois pour prélever les échantillons. Une fois le carottier retiré du sol, il est ouvert et la carotte de sol est recueillie à la main avec précaution. À l'aide d'un couteau (6.8), la carotte est ensuite divisée en cylindres (par exemple, de 3 cm à 4 cm de hauteur). Ces cylindres de sol peuvent être conservés au réfrigérateur (6.9), dans de petits sachets en plastique (6.2), à une température comprise entre 4 °C et 6 °C environ, pendant une période ne dépassant pas une semaine à deux semaines de préférence (dans tous les cas, il convient que la durée de stockage n'excède pas un mois<sup>[9]</sup>). Pour finir, le carottier est lavé à l'eau.

### 7.2 Extraction des enchytréides

En principe, l'extraction des vers hors du sol est engendrée par les mouvements actifs de ceux-ci dans l'échantillon saturé en eau dans le bol rempli d'eau (6.4).

Il convient de commencer l'extraction dès que possible après l'échantillonnage (voir 7.1). Les bols (6.4) sont remplis avec précaution d'eau du robinet (5.1). Les échantillons (c'est-à-dire les cylindres de sol) sont déposés dans les tamis et sont, si nécessaire (par exemple, dans le cas de sols argileux lourds), cassés à la main avec soin (voir Figure 1). Les échantillons placés dans le tamis doivent être entièrement immergés et il convient que le fond des tamis n'atteigne pas le fond des bols. Pour garantir l'extraction de

plus de 90 % des Enchytraeidae des échantillons, il convient que l'extraction du sol se prolonge pendant une durée de 2 jours à 7 jours et que l'extraction de la litière dure de 0,5 jour à 2 jours, à  $(12 \pm 2)$  °C (température de l'eau). La durée dépend principalement de la teneur de l'échantillon en matière organique. Ces durées peuvent être modifiées en fonction d'exigences liées à l'organisation et du nombre d'individus contenus dans un échantillon. Toutefois, les vers meurent vite en cas de manque d'oxygène. Pour éviter ce scénario, il convient de changer l'eau au bout de 18 h à 24 h, et de nouveau après 48 h (si la période d'extraction dépasse 2 jours). Pour ce faire, il convient que le tamis contenant l'échantillon soit transféré avec précaution dans un bol rempli d'eau fraîche. Une accélération de l'extraction au moyen d'une source de chaleur [par exemple, une ampoule de 60 W (6.6)] placée au-dessus de l'échantillon peut se révéler utile, mais il convient d'en faire usage avec précaution (prévoir une augmentation lente de la température sur au moins 3 h). Sinon, selon l'espèce, de nombreux animaux, surtout ceux qui se trouvent aux stades juvéniles et de fragmentation, restent dans le sol (voir [Annexe A](#)).

NOTE 1 Pour réduire la quantité de débris au fond des bols d'extraction, il est possible de placer un tissu fin (maillage de 1 mm) dans le tamis avant d'y déposer l'échantillon de sol.

À la fin de l'extraction, les tamis sont enlevés. Les exigences relatives à l'élimination du sol sont données dans les réglementations nationales appropriées. L'eau du bol est lentement décantée avec soin. Il convient de ne pas perturber la fraction la plus fine du sol au fond du bol (voir [Figure 2](#)). Une petite quantité d'eau (jusqu'à une hauteur de 5 mm à 10 mm) doit rester dans les bols. Ensuite, la fraction la plus fine du sol est mise en suspension dans l'eau et l'ensemble est déposé dans une boîte de Petri (6.7), puis stocké pendant une courte durée jusqu'à ce que les particules de sol se déposent et que l'eau devienne limpide. Étant donné que les vers blanchâtres sont plus lourds que l'eau, mais qu'ils sont rarement capables de se dissimuler dans la mince couche de sol, ils peuvent être facilement sortis de la boîte de Petri sous un microscope à dissection (6.10). Pour effectuer ce transfert, il est possible d'utiliser une pince en acier doux, une pipette Pasteur ou une aiguille à crochet (6.13), mais il faut, dans tous les cas, éviter d'endommager les vers. Pour compter le nombre total de vers, le plus simple consiste à diviser la surface de la boîte de Petri en rangées parallèles et de les vérifier les unes après les autres. Comme les vers sont blancs, il est facile de les distinguer sur le fond habituellement brunâtre des particules de sol. Les animaux sont transférés dans de petits récipients en plastique ou en verre (de 20 ml, par exemple).

Le nombre d'échantillons pouvant être extraits simultanément est théoriquement illimité. Cependant, il est possible que la taille des bols d'eau induise des limites d'espace. Étant donné qu'ils doivent être refroidis (l'eau doit en tout cas l'être), il n'est généralement possible de traiter simultanément que 40 à 50 échantillons au plus. Ces limites peuvent être surmontées en mettant en œuvre le mode opératoire dans un local frais, comme une cave.

NOTE 2 Dans de rares cas, il est possible de confondre les enchytréides avec des larves diptères (qui possèdent souvent des capsules céphaliques brunâtres ou noires) ou avec des nématodes (mouvement non péristaltique; en général, plus petits et plus rapides que les oligochètes). De plus, les hyphes des champignons ou les filaments radiculaires peuvent être pris pour des enchytréides, car ils peuvent être de longueurs et de couleurs identiques. Toutefois, à l'inverse des vers oligochètes, ils sont toujours dépourvus de segmentation.

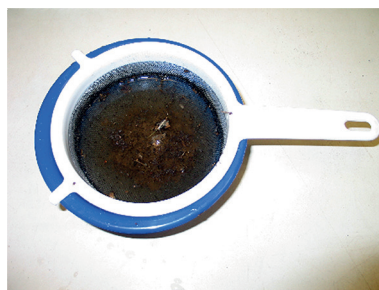


Figure 1 — Bol d'extraction avec échantillon de sol