

NORME ISO
INTERNATIONALE 23611-4

Deuxième édition
2022-08

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

Partie 4:
**Prélèvement, extraction et
identification des nématodes du sol**

Soil quality — Sampling of soil invertebrates —

*Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting
nematodes*

[ISO 23611-4:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/767cb6c5-6a2d-475a-863b-02ed5abd3841/iso-23611-4-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/767cb6c5-6a2d-475a-863b-02ed5abd3841/iso-23611-4-2022>



Numéro de référence
ISO 23611-4:2022(F)

© ISO 2022

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 23611-4:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/767cb6c5-6a2d-475a-863b-02ed5abd3841/iso-23611-4-2022>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2022

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
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 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Réactifs	3
6 Appareillage	4
6.1 Échantillonnage	4
6.2 Extraction	4
6.3 Comptage	4
6.4 Fixation et préparation des lames d'ensemble	5
6.5 Identification	5
7 Mode opératoire	5
7.1 Généralités	5
7.2 Échantillonnage	5
7.3 Extraction	7
7.4 Comptage	8
7.5 Fixation et préparation de lames d'ensemble	8
7.6 Identification	9
8 Analyse des données	9
9 Rapport d'essai	10
Annexe A (informative) Illustrations du matériel et des méthodes utilisés pour la recherche nématologique	12
Annexe B (informative) Informations relatives à la disponibilité de l'élutriateur Oostenbrink	15
Annexe C (informative) Informations relatives à la méthode d'extraction avec l'entonnoir/ plateau de Baermann	18
Annexe D (informative) Exemples d'utilisation des invertébrés du sol dans le cadre de programmes de surveillance du sol (avec présentation des résultats correspondants)	20
Bibliographie	25

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).

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).

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.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Caractérisation biologique*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 444, *Caractérisation environnementale des matrices solides*, du Comité européen de normalisation (CEN) conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 23611-4:2007), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les principales modifications sont les suivantes:

- ajout d'exemples d'utilisation des nématodes dans le cadre de programmes de surveillance du sol (notamment présentation de leurs résultats) en tant qu'annexe informative (voir l'[Annexe D](#)).

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.

Introduction

Le présent document a été établi en raison du besoin croissant de normalisation des méthodes de prélèvement et d'analyse des organismes du sol. Ces méthodes couvrent principalement le prélèvement, l'extraction et la manipulation des invertébrés du sol et sont nécessaires pour les applications suivantes:

- la classification biologique des sols, notamment l'évaluation de leur qualité^{[37],[42],[57]};
- la bio-indication terrestre et la surveillance à long terme^{[25],[28],[31],[50]};
- l'évaluation des effets des substances chimiques sur les animaux du sol sur le terrain (voir l'ISO 11268-3^[4]).

Les données utilisables pour ces applications sont obtenues par des méthodes normalisées car elles peuvent servir de base pour des décisions de grande portée (par exemple la décision de décontamination d'un site). En fait, l'absence de telles méthodes normalisées est l'une des principales raisons pour lesquelles la classification et l'évaluation biologiques dans les habitats terrestres (c'est-à-dire les sols) ont été assez rarement utilisées à ce jour par rapport aux sites aquatiques.

Les nématodes constituent une partie importante de la faune du sol. Certains auteurs estiment que ce groupe est probablement le plus important parmi les organismes pluricellulaires (métazoaires) sur terre^[52]. Les nématodes sont présents de l'Antarctique aux tropiques et des sédiments en eau profonde aux régions montagneuses. Ils sont actifs en tout lieu présentant suffisamment d'eau et de matières organiques. Leur diversité spécifique et fonctionnelle est impressionnante^[14]. Les nématodes sont généralement connus en tant que parasites des animaux et des plantes, mais la majeure partie de la nématofaune participe aux processus de décomposition du fait du régime trophique de certains d'entre eux: bactérivores ou fongivores.

Les nématodes sont présents en grand nombre ($0,2 \times 10^6 \text{ m}^{-2}$ à $9 \times 10^6 \text{ m}^{-2}$) et avec une diversité élevée (10 à 100 espèces) dans pratiquement chaque échantillon de sol^[12]. De plus, ils présentent un spectre écologique large de régimes trophiques et de places dans la chaîne alimentaire; il existe des nématodes bactérivores, fongivores, herbivores, prédateurs et omnivores^{[57],[58]}. Ces facteurs rendent ce groupe particulièrement adapté en tant qu'indicateur de la qualité écologique du sol^[56], mais une normalisation des méthodes est urgemment nécessaire pour la comparaison et le regroupement des résultats.

Au cours des 100 dernières années, la nématologie s'est fortement développée dans les domaines de l'agriculture, l'échantillonnage en vue de produire des recommandations et les réglementations phytosanitaires parce que certains nématodes phytoparasites causent des dégâts importants sur les cultures. En ce qui concerne les méthodes, il existe plusieurs «écoles» dans différentes parties du monde avec leurs propres histoires, avantages pratiques et inconvénients. Une vue d'ensemble est présentée par Oostenbrink^[14] et Southey^{[48],[49]}. Les méthodes (ou variantes) décrites plus récemment ont souvent été développées avec un intérêt particulier pour certaines espèces de nématodes phytoparasites. Ces 20 dernières années, de nouvelles méthodes ont été développées pour permettre une identification taxonomique des espèces de nématodes basée sur l'ADN^{[21],[34],[54]}. Cela ouvre l'analyse taxonomique des nématodes à une plus large communauté de non-spécialistes.

Depuis que Bongers^[16] a introduit l'indice de maturité, l'utilisation des nématodes dans la bio-indication pour la qualité des sols s'est rapidement développée^[56]. Les nématodes sont désormais utilisés pour l'étude et la surveillance écologique des sols dans plusieurs pays du monde entier. Les activités de surveillance présentent certaines exigences méthodologiques. Par exemple, un grand nombre d'échantillons de sol sont traités en routine pour un coût raisonnable. Certaines des méthodes initialement développées pour l'échantillonnage en vue de produire des recommandations en agriculture sont particulièrement adaptées pour la recherche écologique. Elles constituent la base de variantes spécifiques décrites dans le présent document.

Les nématodes qui sont caractérisés avec le mode opératoire proposé sont toutes les formes libres de nématodes trouvées dans le sol. Ils comprennent les nématodes non phytophages ainsi que les nématodes phytophages ectoparasitaires et les stades libres des nématodes phytophages endoparasitaires. La quantification des nématodes strictement phytophages dans les racines requiert

des méthodes spécifiques. Des informations de base sur l'écologie des nématodes et leur utilisation en tant que bio-indicateurs peuvent être trouvées dans la Bibliographie.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 23611-4:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/767cb6c5-6a2d-475a-863b-02ed5abd3841/iso-23611-4-2022>

Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol —

Partie 4: Prélèvement, extraction et identification des nématodes du sol

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode pour échantillonner et manipuler les nématodes du sol en tant que condition préalable pour les utiliser comme bio-indicateurs (par exemple pour évaluer la qualité d'un sol en tant qu'habitat pour des organismes).

Le présent document s'applique à tous les biotopes terrestres dans lesquels des nématodes sont présents. Le mode opératoire d'échantillonnage pour les études de terrain est spécifié de façon générale dans l'ISO 18400-101.

Le présent document n'est pas applicable aux nématodes aquatiques en raison des différences dans la matrice d'échantillonnage (par exemple, la colonne d'eau). Des méthodes destinées à certains autres groupes d'organismes tels que les vers de terre, les collemboles, les enchytréides ou les macro-invertébrés, sont décrites dans l'ISO 23611-1, l'ISO 23611-2, l'ISO 23611-3 et l'ISO 23611-5.

Le présent document ne couvre pas la caractérisation pédologique du site qui est particulièrement recommandée lors du prélèvement d'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 décrivent des modes opératoires appropriés pour mesurer le pH, la répartition granulométrique, le rapport C/N, la teneur en carbone organique et la capacité de rétention en 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 <https://www.electropedia.org/>.

3.1

nématode

petit ver libre non segmenté (jusqu'à quelques millimètres de longueur) appartenant à la classe des nématodes

Note 1 à l'article: Les nématodes dont aucun stade n'habite dans le sol ne sont pas inclus dans cette définition.

3.2

situation

zone ou point d'étude caractérisé sur la base de la composition de la nématofaune (entre autres)

3.3

échantillon composite

échantillon de sol constitué de nombreuses petites carottes de sol pour obtenir un échantillon représentatif de la nématofaune

3.4

outil de prélèvement de sol

outil utilisé pour collecter le sol d'une manière rapide et normalisée

3.5

lame d'ensemble

lame de microscope sur laquelle 300 à 400 nématodes sont montés en vue de l'identification (3.7) des espèces

3.6

identification

détermination de l'espèce, du genre ou de la famille d'un individu sur la base de caractéristiques morphologiques (cavité buccale, organes sexuels, mensurations) avec une clé d'identification

3.7

échelle colonisateur – persistant (cp)

classification écologique des nématodes

Note 1 à l'article: Proposée par Bongers^{[16],[17]}.

Note 2 à l'article: Le principe est analogue aux stratégies démographiques r-K, largement acceptées en écologie fondamentale. Les familles de nématodes non phytophages sont classées dans l'un des cinq groupes cp. Cette classification sert également de base de calcul pour l'indice de maturité.

4 Principe

Les échantillons de sol contenant les nématodes sont collectés avec une petite carotte cylindrique (diamètre: environ 2 cm, longueur: 10 cm ou 15 cm) ou une tarière (voir la [Figure A.2](#)). Pour les applications de surveillance, les échantillons de sol sont mélangés dans un échantillon composite représentatif d'une zone homogène. Le nombre total d'échantillons à prélever dépend de la surface étudiée et de son homogénéité (pédologie, utilisation du sol, par exemple). Les échantillons individuels peuvent être collectés sur le terrain dans des sacs ou seaux en plastique. L'échantillon composite est trop volumineux pour un examen direct et il est par conséquent mélangé et sous-échantillonné. Sur le terrain et durant le transport au laboratoire, les échantillons de sol doivent être protégés contre les fortes fluctuations de température, la perte d'eau et les perturbations mécaniques violentes. Ils peuvent être conservés pendant quatre semaines au maximum à 4 °C.

NOTE 1 La méthode d'échantillonnage décrite ci-dessus est dérivée de la «Dutch Method» ^[49] destinée à déterminer l'infestation par les nématodes à kystes de parcelles cultivées en pomme de terre, et est utilisée depuis de nombreuses années dans plusieurs pays européens.

La méthode de l'entonnoir Oostenbrink est recommandée pour les extractions de routine d'échantillons de sol, dans un réseau de surveillance, par exemple. La méthode Oostenbrink n'est pas la plus simple qui peut être utilisée en toutes circonstances. Elle présente toutefois plusieurs avantages: elle est très normalisée et présente une efficacité d'extraction constante. La méthode de l'entonnoir Oostenbrink combine trois moyens de base qui peuvent être utilisés pour la séparation des nématodes des sols: le lavage, le tamisage et le mouvement actif. Par conséquent, elle permet d'obtenir de meilleurs résultats que n'importe quelle méthode de base prise individuellement. Ses autres avantages sont:

- des échantillons de sol relativement importants, quel que soit le type de sol, peuvent être traités en une seule fois (100 g à 500 g);
- des suspensions de nématodes limpides;
- l'isolement de la plupart des nématodes vivants et actifs;

- il existe de nombreuses années d'expérience avec un nombre extrêmement élevé d'extractions de sol en routine;
- elle est utilisée dans de nombreux pays du monde entier.

Après l'échantillonnage, les nématodes sont extraits du sol en utilisant l'élutriateur Oostenbrink¹⁾ (modèle III) (voir la [Figure A.3](#) et l'[Annexe B](#)). Dans cette technique, un courant ascendant d'eau sépare les nématodes des particules du sol et les maintient en suspension tandis que les particules plus lourdes décantent au fond^{[10],[33],[44],[49]}. Cette suspension de nématodes et de petites particules traverse trois tamis (taille de maille: 45 µm). Les particules retenues sur les tamis sont lavées et recueillies sur un filtre en ouate (filtre pour lait). Le filtre en ouate est monté sur un tamis et l'ensemble est placé dans une boîte avec 100 ml d'eau courante. Pendant trois jours, les nématodes se séparent des débris sur le filtre par leur mouvement actif vers le bas. Ainsi, les nématodes vivants traversent activement le filtre et se retrouvent dans la boîte contenant l'eau.

Après l'extraction, les nématodes sont comptés dans 2 fois 10 ml des 100 ml de suspension, puis concentrés, traités à l'aide d'une méthode de conservation (étape résumée ci-après par le terme «conservés»), puis montés sur des lames d'ensemble. Au moins 150 individus ou un pourcentage fixe du nombre total de nématodes dans l'échantillon sont ensuite identifiés au microscope.

Les nématodes adultes peuvent être identifiés au niveau de l'espèce. Cependant, les populations dans le sol sont souvent dominées par des juvéniles et le genre est un seuil taxonomique pratique (mais moins sensible).

D'autres méthodes d'extraction telles que l'élutriateur Seinhorst^[44] ou l'entonnoir Baerman (voir l'[Annexe C](#)) peuvent être utiles dans des cas particuliers, mais ne sont pas recommandées en tant que mode opératoire général parce que l'élutriateur Oostenbrink est robuste, facile à utiliser et donne généralement des résultats quantitatifs de meilleure qualité que la plupart des autres techniques. La méthode basée sur l'élutriateur Oostenbrink ne convient pas aux échantillons additionnés d'un agent de conservation contenant des organismes non vivants. Ici, les méthodes de mise en suspension/centrifugation à l'aide de silice colloïdale sont recommandées car elles permettent d'extraire toutes les formes de nématodes^[26].

NOTE 2 Le présent document ne s'applique pas aux nématodes aquatiques car ces derniers ne traversent pas le filtre. Il existe des techniques de centrifugation spécifiques pour les échantillons de sédiments.

NOTE 3 L'identification au microscope optique repose sur des caractères morphologiques. Dans certains cas, il n'est pas possible de reconnaître un spécimen au niveau de l'espèce, voire du genre, par exemple des jeunes. Les nouvelles techniques, telles que le code-barres ADN («DNA barcoding») ou le métacode-barres ADN («DNA metabarcoding»)^{[40],[54]}, offrent une taxonomie indépendante de la morphologie, de sorte que même les jeunes peuvent être identifiés jusqu'au niveau du genre ou de l'espèce.

NOTE 4 Le prélèvement de nématodes est souvent inclus dans des programmes de surveillance bien plus vastes visant à couvrir tout ou partie de la faune du sol (par exemple, la mésofaune). Des exemples d'utilisation d'invertébrés du sol sont donnés à l'[Annexe D](#). La conception de tels programmes n'est pas traitée dans le présent document.

5 Réactifs

5.1 Formol [solution de formaldéhyde, à 60 ml/l].

5.2 Paraffine, avec un point de fusion proche de 60 °C.

1) L'élutriateur Oostenbrink est l'appellation commerciale d'un produit distribué, par exemple, par la société MEKU Erich Pollähne GmbH (<https://www.meku-pollaehne.de/Nematologie/Oostenbrink-Elutriator/oostenbrink-elutriator.html>). Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

6 Appareillage

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

6.1 Échantillonnage

6.1.1 Outil de prélèvement d'échantillon de sol, de type à tube ouvert, fermé ou divisé.

EXEMPLE Dispositif de prélèvement d'échantillon de sol (diamètre: 23 cm) ou tarière (voir la [Figure A.2](#)); disponible dans le commerce.

6.1.2 Seau en plastique, pour la collecte d'échantillons de sol sur le terrain.

6.1.3 Récipient en plastique, pour le mélange de l'échantillon composite.

6.1.4 Tamis, de 8 mm de taille de pore.

6.1.5 Sacs enduits, sacs en plastique ou récipients en verre (transport et stockage).

6.1.6 Marqueur permanent ou étiquettes préimprimées.

6.2 Extraction

6.2.1 Bécher, ayant un volume de 100 ml à 250 ml.

6.2.2 Balance, pouvant peser de 1 kg à 25 kg, pour peser la masse d'échantillon totale.

6.2.3 Élutriateur Oostenbrink ¹⁾ (voir aussi la [Figure A.3](#) et l'[Annexe B](#)), entonnoir en métal avec un flux d'eau de bas en haut permettant de séparer les nématodes des plus grosses particules de sol.

6.2.4 Trois tamis, de 45 µm de taille de maille et de 30 cm de diamètre.

6.2.5 Un tamis, de 250 µm de taille de maille et de 10 cm de diamètre.

6.2.6 Bassine en plastique, d'environ 2 l de capacité.

6.2.7 Bague de fixation.

6.2.8 Tamis d'extraction, de 1 000 µm de taille de maille et de 16 cm de diamètre.

6.2.9 Filtres à lait ou en ouate.

6.2.10 Plateaux peu profonds (boîtes de Petri) ou **boîtes d'extraction spéciales.**

6.2.11 Flacon en verre, de 100 ml de capacité, avec bouchon à vis.

6.3 Comptage

6.3.1 Microscope à dissection, avec un grossissement de × 10 à × 50.

6.3.2 Petite plaque de comptage avec une grille, ou lame de verre avec une grille.

NOTE Des plaques de comptage de différentes tailles et de différents pas de grille sont disponibles auprès des fabricants de matériel de laboratoire. Elles peuvent également être préparées à partir de boîtes de Petri en gravant une grille au fond à l'aide d'une aiguille.

6.3.3 Compteur à main.

6.3.4 Pompe d'aquarium, pour mélanger les suspensions de nématodes.

6.3.5 Pipette (goutte à goutte en verre), de volume réglable.

6.3.6 Aiguille permettant de manipuler les nématodes.

6.3.7 Flaçon, d'un volume de 100 ml.

6.4 Fixation et préparation des lames d'ensemble

6.4.1 Trompe à eau, pour concentrer les suspensions.

6.4.2 Lames de verre, de 50 mm × 76 mm.

6.4.3 Lamelles couvre-objet, de 45 mm × 45 mm.

6.4.4 Plaque chauffante électrique.

6.4.5 Poinçon en métal, de 40 mm × 40 mm, pour le joint de paraffine sur les lames de verre.

6.5 Identification

6.5.1 Microscope, avec un grossissement de × 400 à × 1 000.

6.5.2 Indicateur micrométrique oculaire.

6.5.3 Clés d'identification^[15].

6.5.4 Formulaire normalisé, pour répertorier les résultats d'identification.

7 Mode opératoire

7.1 Généralités

Pour s'assurer de la qualité de l'analyse, chaque échantillon doit recevoir un code unique dès qu'il est prélevé sur le terrain. Ce code (étiquette) doit rester avec l'échantillon durant toutes les étapes de traitement et d'analyse. Il convient d'utiliser un ou plusieurs formulaires normalisés électroniques pour suivre l'acheminement des échantillons et la collecte des résultats d'analyse. Ces données de base peuvent être combinées dans un fichier de tableur ou de base de données pour les calculs et analyses statistiques réalisées.

7.2 Échantillonnage

Étant donné que la densité et la diversité des nématodes du sol sont les plus élevées dans les 10 cm supérieurs du sol minéral, un dispositif de prélèvement d'échantillon de sol (6.1.1) avec un tube

de prélèvement de 10 cm ou 15 cm de longueur est approprié pour la plupart des applications de surveillance biologique. Il est recommandé d'utiliser un tube fermé à longueur et diamètre fixes.

EXEMPLE 1 Un dispositif de prélèvement d'échantillon de sol consiste en une tarière à gouge en acier inoxydable (disponible dans différentes dimensions) constituée d'un tuyau de tarière en acier, d'un seau de collecte (6.1.2) et d'une tige avec une poignée en acier. En raison de la forme conique du tuyau, l'échantillon est aisément poussé vers le seau de collecte lorsque l'échantillon suivant est prélevé. La profondeur d'échantillonnage est constante et les carottes de sol peuvent être aisément collectées dans une grande parcelle (voir la Figure A.1). Ce dispositif peut être utilisé dans de nombreuses situations.

EXEMPLE 2 En variante, une tarière pour les sols peut être utilisée en tant qu'outil simple, économique et rapide d'utilisation. Des tarières sont disponibles dans différentes dimensions. Les échantillons de sol collectés avec une tarière sont moins comprimés. L'inconvénient est que du sol peut être perdu plus aisément (voir la Figure A.2).

EXEMPLE 3 Lorsqu'une séparation précise des couches du sol est requise, un dispositif de prélèvement à tube divisé peut être utilisé. Cet outil d'échantillonnage requiert plus de temps de manipulation et est moins adapté pour un grand nombre d'échantillons et de grandes surfaces (voir la Figure A.2).

Des échantillons de couches plus profondes peuvent être prélevés avec une tarière pour éviter une compression excessive du sol ou avec des dispositifs de prélèvement à tube divisé (voir la Figure A.2). De la matière organique ou de la litière peuvent être incluses dans les échantillons, mais cela augmente les nombres de nématodes observés, parfois considérablement. Les couches organiques peuvent être prélevées indépendamment. Dans ce cas, un dispositif de carottage à tube divisé plus large (5 cm à 10 cm) est préférable afin de séparer les horizons organiques du matériau minéral. De faibles quantités de litière peuvent également être traitées dans un éluutriateur Oostenbrink (6.2.3) pour extraire les nématodes. L'efficacité d'extraction peut être améliorée par trempage et mélange des fractions organiques^{[41],[43]}.

Lorsqu'un échantillon représentatif d'un type spécifique d'écosystème est requis, une surface type d'au moins 5 000 m², et de préférence de 10 000 m², doit être choisie. Il est recommandé de sélectionner une surface qui est (plus ou moins) homogène en matière de propriétés du sol, de végétation et d'utilisation du sol. La surface étudiée est indiquée dans les informations concernant la situation étudiée. En règle générale, 100 carottes de sol doivent être regroupées par surface de 10 000 m². Pour les surfaces plus petites (par exemple 100 m²), environ 25 carottes sont suffisantes pour obtenir une estimation de la composition moyenne de nématodes et collecter suffisamment de sol. Un modèle d'échantillonnage plus dense conduit à une meilleure estimation de l'abondance et de la composition spécifique de la nématofaune. Cependant, un compromis est nécessaire avec la quantité du sous-échantillon qui est finalement analysé à partir de l'échantillon composite homogénéisé. En effet, un échantillon composite très grand ne donne pas plus d'informations parce que seule une petite partie est analysée et l'homogénéisation ne peut pas être parfaite. Un maximum de trois cents échantillons obtenus avec un dispositif de prélèvement d'échantillon de sol (diamètre: 23 mm) sont recommandés pour constituer un échantillon composite. Dans un programme de surveillance biologique, il convient que la densité d'échantillon par unité de surface soit égale pour toutes les situations. La masse de l'échantillon composite et le nombre de carottes de sol qui le composent doivent être connus.

Le plan d'échantillonnage peut être régulier (grille), selon un plan particulier ou aléatoire. Pour les situations très grandes, il est plus pratique de parcourir le site en zigzag et de prélever arbitrairement des échantillons le long de ce chemin. Dans le cas où la situation est constituée de différentes parcelles, le nombre d'échantillons de sol par parcelle doit être déterminé sur la base de leur superficie. Les échantillons provenant de parties atypiques de la situation, telles que des fossés, des pistes ou des chemins, doivent être évités.

L'échantillon composite collecté est homogénéisé dans un récipient en plastique (6.1.3). Cette opération peut être effectuée sur le terrain ou au laboratoire, suivant la méthode de travail et de transport la plus pratique. Le mélange commence par la désagrégation des carottes à travers un tamis de 8 mm de taille de maille (6.1.4). Ensuite, le sol est doucement mélangé jusqu'à ce que la masse soit uniforme en couleur et en consistance. Le mélange et la préparation de l'échantillon peuvent prendre plus d'une heure pour des échantillons composites de sols argileux ou de couches superficielles riches en racines. Cependant, cette étape est essentielle pour toutes les analyses ultérieures et il convient d'y apporter toute l'attention nécessaire. Le matériau organique grossier, les racines et les pierres doivent être