



Norme
internationale

ISO 23611-2

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

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

Soil quality — Sampling of soil invertebrates —

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

**Deuxième édition
2024-04**

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

[ISO 23611-2:2024](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/5142f73e-ecad-4ed1-838f-a2bb8129b7ea/iso-23611-2-2024)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/5142f73e-ecad-4ed1-838f-a2bb8129b7ea/iso-23611-2-2024>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2024

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	1
5 Matériaux d'essai	2
5.1 Matériel biologique	2
5.2 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Mode opératoire	4
7.1 Collecte des échantillons de sol	4
7.2 Extraction des collemboles et des acariens des échantillons de sol	5
7.3 Tri, conservation et identification des collemboles et des acariens	6
7.3.1 Tri et conservation	6
7.3.2 Identification	6
8 Évaluation des résultats	7
9 Rapport d'étude	7
Annexe A (informative) Détermination des espèces de collemboles et d'acariens	8
Annexe B (informative) Méthode alternative pour le prélèvement des micro-arthropodes	9
Bibliographie	10

ITab Standards
[\(https://standards.iteh.ai/\)](https://standards.iteh.ai/)
 Document Preview

[ISO 23611-2:2024](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/5142f73e-ecad-4ed1-838f-a2bb8129b7ea/iso-23611-2-2024)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/5142f73e-ecad-4ed1-838f-a2bb8129b7ea/iso-23611-2-2024>

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'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de propriété revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/patents. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de brevet.

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, *Méthodes d'essai pour la 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 23611-2:2006), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- une Note supplémentaire a été ajoutée au [paragraphe 7.3.2.1](#) avec la description d'une méthode alternative aux techniques classiques de préchauffage pour la préparation des spécimens destinés à l'identification taxonomique des collemboles;
- la liste des références bibliographiques a été révisée et mise à jour.

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 élaboré pour répondre à un besoin croissant de normalisation des méthodes de prélèvement et d'extraction des micro-arthropodes du sol. Ces méthodes sont nécessaires pour les applications suivantes:

- la classification biologique des sols, y compris l'évaluation de la qualité des sols (références [19], [24], [27], [30], [36], [40], [41], par exemple);
- la bio-indication terrestre et la surveillance à long terme (références [3], [12], [14], [19], [31], [34], [37], par exemple).

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,^{[6],[21]} alors que les acariens prédateurs peuvent jouer un rôle en bout de chaîne trophique du sol.^{[21],[26]} 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 (références [8], [16], [17], [18], [22], [23], [24], [28], [29], [32], [33], [35], [42], par exemple) ou des pratiques de gestion des cultures (par exemple [2], [7], [10], [13], [20], [25], [43], [44]). 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^[38].

En ce qui concerne les généralités de la conception de l'échantillonnage pour les études de terrain, voir l'ISO 18400-104^[45] afin d'obtenir des recommandations générales sur l'élaboration des stratégies d'investigation des sites ainsi que des recommandations détaillées sur l'élaboration des stratégies d'échantillonnage.

Les méthodes pour d'autres groupes d'organismes du sol, tels que les vers de terre, les enchytréides, les nématopodes et les macro-invertébrés, sont respectivement traitées dans l'ISO 23611-1,^[52] l'ISO 23611-3,^[53] l'ISO 23611-4^[54] et l'ISO 23611-5^[55].

Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol —

Partie 2:

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

1 Domaine d'application

Le présent document 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 les organismes).

Les méthodes de prélèvement et d'extraction du présent document 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.

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

micro-arthropode

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 1 à l'article: Ce groupe est principalement composé des acariens (Acarina), des collemboles (Collembola), des Protura, des Diplura, des scolopendres des jardins (Symphyla), des Paurapoda, de petits scolopendres et mille-pattes, de petits arachnides (araignées et pseudoscorpions), et d'insectes et de leurs larves issus de plusieurs ordres (Hyménoptères, Diptères, Coléoptères, etc.).

4 Principe

Les échantillons de sol sont prélevés sur le terrain à l'aide d'un carottier. 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 d'identification ultérieure.^{[12],[34]} 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,^[34] un extracteur de Kempson (6.18) peut être utilisé.

5 Matériaux d'essai

5.1 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 prégénitaux 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 *tenaculum* qui maintient l'appareil de saut dans sa position normale. Lorsqu'il est présent, l'appendice sauteur, la *furcula* (ou ressort), 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 33 familles^[4].

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 des formes de vie très variées. Ils appartiennent à la classe Arachnida, sous-classe Acarina, 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 données dans l'[Annexe A](#).

5.2 Réactifs

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

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

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/5142f73e-ecad-4ed1-838f-a2bb8129b7ea/iso-23611-2-2024>

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

5.2.3 Acide acétique

5.2.4 Phénol, C₆H₅OH, cristallin (acide carbolique).

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

5.2.6 2,2,2-Trichloro-1,1-éthanediol (hydrate de chloral).

5.2.7 1,2,3-Trihydroxypropane (glycérine).

5.2.8 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).

5.2.9 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).

5.2.10 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).

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

5.2.12 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).

5.2.13 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).

5.2.14 Tampon d'extraction d'ADN (solution tampon SNET), utilisé pour éclaircir les collemboles.

5.2.15 Solution de protéinase K, utilisée pour éclaircir les collemboles.

5.2.16 Éthanol à 35 % (fraction volumique), utilisé pour la conservation des spécimens.

5.2.17 Formol à 3 %, utilisé pour la conservation des spécimens.

5.2.18 Milieu Marc André 2, pour éclaircir et conférer les meilleures propriétés optiques aux spécimens à des fins d'identification.

6 Appareillage

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

6.1 Mètre ruban

6.2 Flacons de collecte

6.3 Pissette

6.4 Pincettes, pipette, pinceau fin, aiguilles fines

6.5 Boîtes de Petri

6.6 Microscope stéréoscopique

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

6.8 Lames, creuses en leur centre, et lamelles pour microscope.

6.9 Plaque chauffante électrique

6.10 Flacons en plastique

6.11 Éléments chauffants en céramique

6.12 Crayon, carnet de notes, marqueur indélébile, étiquettes

6.13 Carottier

Dispositif de prélèvement en acier inoxydable ou en aluminium (il peut être de 40 cm de long et, par exemple, de 5,6 cm de diamètre; il convient que la longueur 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.

6.14 Flacons en verre

6.15 Étuve de séchage

6.16 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.

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

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

6.19 Cadre de prélèvement, 25 cm × 25 cm × 15 cm, 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 en 6.13 et de 6.16 à 6.19, voir les références [12] et [34].

7 Mode opératoire

7.1 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 (6.13); il est permis 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 de la caractérisation générale du site, il est utile de déterminer l'humidité réelle du sol à échantillonner.

Après extraction de l'échantillon, le carottier est ouvert (une photo du profil de la carotte de sol peut compléter la caractérisation du site) 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 fermés par des bouchons, étiquetés et stockés en vue de leur transport vers le laboratoire. Des sacs en plastique (6.17) 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 peut entraîner la mort des animaux. Il convient de noter le laps de temps écoulé entre le prélèvement et l'extraction et il est recommandé que ce laps de temps ne dépasse pas 5 jours (si les échantillons restent à (20 ± 2) °C et si le sol est maintenu humide), afin d'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 (6.19) 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 (6.17), qui sont étiquetés puis stockés.