

NOTICE TECHNIQUE

Technique d'extraction et d'inclusion globale des Microarthropodes en vue d'en évaluer la diversité

G. BACHELIER

*Pédobiologiste ORSTOM - S.S.C., Bondy (France)
avec la collaboration technique de R. GAVINELLI*

SOMMAIRE

Reprenant une technique simple d'extraction des Microarthropodes, l'auteur en propose la récolte par décantation puis séparation densimétrique, et leur inclusion globale sur une lame de grande taille en vue d'en évaluer la diversité.

Introduction

Nous avons précédemment (BACHELIER, 1973) rappelé la nécessité pour un sol de demeurer vivant, et donc d'abriter des populations non seulement abondantes mais aussi diversifiées.

La diversité consolide en effet l'équilibre du peuplement et rend le milieu plus stable et plus apte à résister aux pullulements et aux invasions d'éléments vivants nocifs.

Elle permet aussi un meilleur rendement dans la dégradation de l'apport énergétique, qui s'effectue alors sans engorgement au long des chaînes trophiques.

Plus les populations sont diversifiées, plus, par suite d'une forte pression interspécifique, elles tendent à demeurer jeunes, et donc à manifester un métabolisme actif.

Abondance et diversité des populations vivantes entretiennent (et parfois même améliorent) les caractéristiques abiotiques du sol tout en rendant celui-ci plus stable et plus fertile.

Il apparaît ainsi intéressant (et, à notre avis, même primordial) que les pédologues puissent juger de l'activité biologique globale se manifestant au sein des sols, de même que de l'abondance des populations vivantes et de leur diversité.

Nous pensons toutefois, que les pédologues, tant pour des raisons de laboratoire que de rentabilité des techniques, doivent pouvoir disposer pour ces mesures biologiques de techniques très simples, rapides et susceptibles de leur fournir des résultats facilement exploitables dans le contexte général des analyses physico-chimiques habituellement réalisées.

Nous avons déjà indiqué quelques techniques paraissant répondre à ces divers critères (BACHELIER, 1973).

Cette présente notice technique concerne plus l'évaluation de la diversité des populations de Microarthropodes que celle de leur abondance.

Notre but n'est pas d'étudier ici les diverses techniques d'extraction des Microarthropodes qui ont déjà donné lieu à quantité de travaux importants, tels par exemple, parmi les derniers, la rétrospective de VANNIER (1971 a) ou l'article de MARSHALL (1972).

Nous n'avons voulu que proposer ici aux pédologues une technique simple leur permettant de se faire une idée de la diversité des populations de Microarthropodes présents dans les sols.

En effet, l'extraction la plus complète possible des Microarthropodes du sol, leur récupération, leur séparation, leur détermination et leur comptage sont des opérations habituellement assez longues et délicates qui intéressent peu les pédologues, compte tenu du travail exigé pour un acquis, qui, dans le cadre de leurs préoccupations, leur apparaît généralement assez secondaire.

Nous pensons cependant que les Microarthropodes du sol peuvent aider les pédologues à évaluer assez facilement la diversité des populations ; donnée écologique à laquelle les écologistes accordent la plus grande importance, comme nous avons déjà eu l'occasion de l'exposer (BACHELIER, 1973).

Technique d'extraction, de séparation globale et de montage « en vitrail » des Microarthropodes du sol

I — EXTRACTION

L'extraction des Microarthropodes s'effectuera sur des entonnoirs à sec de type classique.

Ce type d'entonnoir d'extraction consiste essentiellement (fig. 1) en un entonnoir en plastique d'un diamètre de 24 cm d'ouverture dans lequel, sur une cuvette en toile métallique à maille de 1 à 2 cm, on dispose un échantillon de sol ou de litière. Un tube de récolte renfermant de l'alcool éthylique à 70° ferme la base de l'entonnoir.

L'échantillon est desséché progressivement au moyen d'une lampe à filament de carbone située à au moins 25 cm au-dessus de lui.

Les Microarthropodes, fuyant la sécheresse, descendent à travers l'échantillon et finissent par tomber dans l'entonnoir et le tube de récolte.

NEF (1971) a montré que lorsque le substrat est suffisamment humide, les Oribates sont géonégatifs

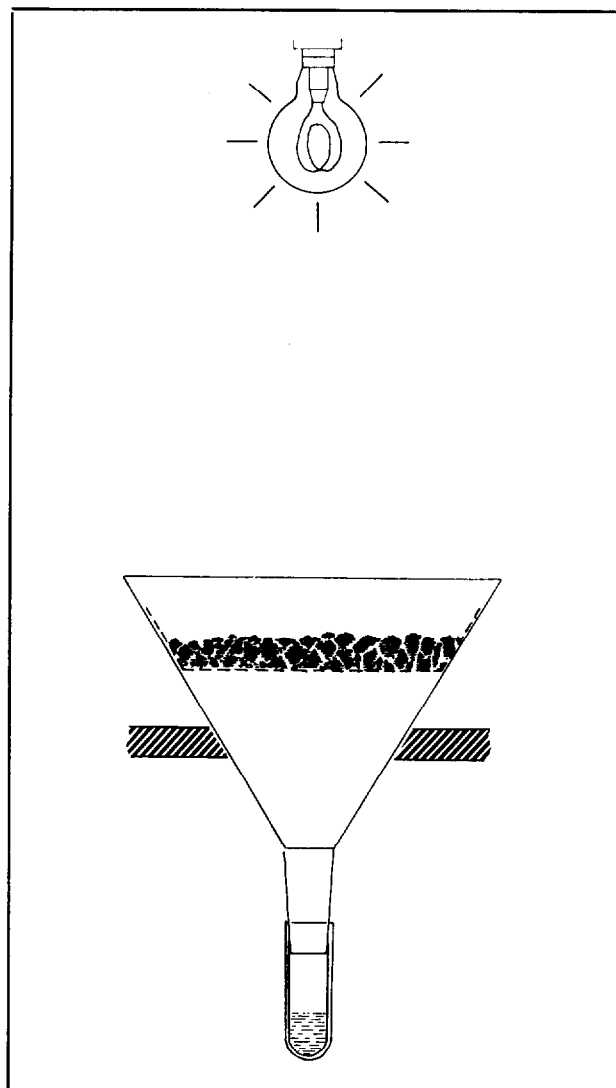


FIG. 1. — Entonnoir d'extraction des Microarthropodes.

et remontent vers la surface. Par contre, lorsque le substrat se dessèche, les Oribates deviennent géopositifs et se déplacent donc vers le bas, qu'il y fasse plus sec ou plus humide. Cette hypothèse a pu très simplement être démontrée par NEF à l'aide d'un dispositif expérimental à gradient de dessiccation progressant du bas vers le haut. Seul compte pour l'extraction le pF atteint par l'échantillon dans lequel les Microarthropodes existent. Au fur et à mesure du dessèchement de l'échantillon, les différents groupes fauniques « décrochent » (VANNIER, 1970).

VANNIER et THIBAUD (1968) ont ainsi montré que la réponse des Collembolés à la dessiccation semble se situer entre pF 4,2 (point de flétrissement permanent) et pF 5 (eau d'hygroscopicité), même pour des Collembolés cavernicoles alors qu'un tel degré de siccité demeure inconnu dans les grottes. Les Oribates (Acariens très sclérifiés) décrochent souvent après les Collembolés ou les autres Microarthropodes faiblement sclérifiés (VANNIER, 1967). Les Myriapodes très sclérifiés (Iules et Polydesmides) décrochent généralement les derniers.

VANNIER (1971*b*) a étudié la signification de la persistance de la pédofaune après le point de flétrissement permanent dans les sols.

Sur le plan technique, et en renvoyant aux divers travaux de VANNIER (1970, 1971*a*) pour des appareils d'extraction beaucoup plus perfectionnés, quelques recommandations sont à faire concernant l'extraction des Microarthropodes avec le simple entonnoir à sec de type classique que nous avons ci-dessus brièvement présenté :

a. L'échantillon, soigneusement prélevé dans un sac en plastique, devra être représentatif et, après pesée, s'il s'agit d'un sol, sera fractionné à la main dans la cuvette en toile métallique reposant sur une feuille de papier.

La cuvette renfermant l'échantillon est ensuite disposée dans l'entonnoir, et la terre passée à travers la toile métallique, et demeurant sur la feuille de papier, est versée sur le dessus de l'échantillon.

Le tube de récolte renfermant un liquide fixateur est alors ajusté à la base de l'entonnoir.

b. L'épaisseur de l'échantillon ne devra pas dépasser 3 à 4 cm, ou un peu plus s'il s'agit d'un échantillon très aéré, par exemple un échantillon grossièrement fractionné ou une litière végétale.

c. Il est absolument nécessaire, surtout pour les petits Microarthropodes très peu sclérifiés (Acaridides ou divers Collembolés eudaphiques) que l'échantillon soit desséché très progressivement sur plusieurs jours, l'extraction devant être achevée après une semaine. Pour cela, la lampe à filament de carbone sera située d'autant plus loin de l'échantillon que celui-ci sera déjà sec, ou que l'atmosphère sera plus desséchante. A la limite, la lampe pourra même être supprimée. De toute manière, elle ne devra jamais être disposée à moins de 25 cm de l'échantillon.

d. Il est bon de placer une mousseline au-dessus de l'entonnoir pour empêcher les petits Diptères attirés par la lumière de tomber dans l'appareil d'extraction.

II — SÉPARATION GLOBALE

De la terre et des débris organiques tombent habituellement avec les animaux dans les tubes de récolte. La séparation par densité avec du bromure de baryum à $d = 1,35$ permet de récupérer intacts les animaux fortement sclérifiés mais, par le jeu des phénomènes d'osmose, déforme considérablement les animaux peu sclérifiés.

C'est la raison pour laquelle nous préconisons la méthode suivante :

a — Décantations à l'eau

— Décanter doucement le tube de récolte au-dessus d'un petit bécber et récupérer ainsi les animaux qui flottent en surface ainsi que ceux qui demeurent au-dessus du culot de terre et se laissent facilement entraîner avec le liquide. On peut s'aider éventuellement d'un petit pinceau très fin pour cette opération.

— Reprendre le culot de terre par de l'eau distillée, laisser reposer et redécanter une nouvelle fois le tube de récolte.

— Répéter encore une fois cette opération.

b — Séparation par densité

— Après ces trois décantations, tous les animaux fragiles sont pratiquement récupérés ; les animaux restant sont pratiquement tous fortement sclérifiés. Reprendre alors le culot de terre par une solution de bromure de baryum de densité 1,35 et récupérer les animaux flottant, par décantation dans un bécber différent du précédent. On peut là encore s'aider d'un petit pinceau fin.

— Répéter deux fois cette opération.

— Récupérer les animaux demeurant dans la solution de bromure de baryum dans un petit creuset filtrant de 3 à 4 cm de diamètre monté sur une fiole à vide ; la porcelaine filtrante du creuset étant recouverte d'une rondelle de papier filtre fin.

— Effectuer un très bon lavage à l'eau des animaux ainsi séparés par le bromure de baryum. Pour cela, le creuset, entre les filtrations, peut être bouché à sa base par un simple bouchon de caoutchouc et jouer ainsi le rôle d'un petit bécber.

c — Récupération globale des animaux

— Dans ce même creuset filtrant, verser ensuite les animaux précédemment récoltés par décantation à l'eau.

— Rincer l'ensemble des animaux une dernière fois à l'eau distillée et aspirer tout le liquide demeurant dans le creuset.

— Transporter alors avec des pinces fines le filtre du creuset dans un petit béccher de gélatine glycinée fondue (1), reposant sur une plaque faiblement chauffante. Par agitation du papier filtre, en détacher les divers animaux récoltés. Vérifier sous loupe binoculaire qu'il ne reste plus d'animaux, tant dans le creuset que sur le filtre.

III — MONTAGE D'ENSEMBLE DES MICROARTHROPODES RÉCOLTÉS (fig. 2)

a — Préparation des plaques de verre

Le problème étant d'obtenir une inclusion d'ensemble ou « en vitrail » de nombreux animaux, nous avons eu recours à des lames de verre et à des lamelles de grande taille, habituellement utilisées en micro-morphologie du sol pour la confection des lames minces géantes (mammoth sized thin sections). Ces lames de verre mesurent 10 × 20 cm et les lamelles 8 × 16 cm.

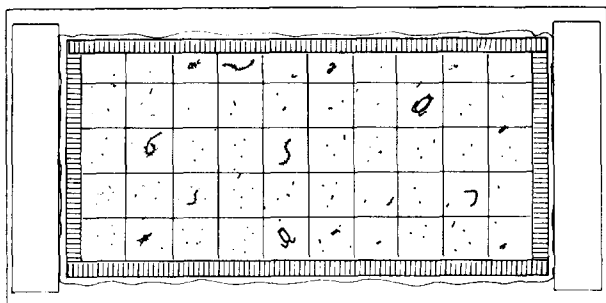


FIG. 2. — Montage « en vitrail » d'une faune de Microarthropodes.

Un cadre rectangulaire constitué par 4 baguettes de plastique (par exemple en polychlorure de vinyle ou P.V.C.), épaisses de 1,5 mm et larges de 5 mm, est confectionné aux dimensions de la lamelle et collé à l'araldite sur la lame de verre.

A défaut, les lames de verre peuvent être taillées dans du verre à vitre et une feuille de plastique transparente, mais assez rigide, peut remplacer la lamelle.

(1) Gélatine glycinée :	Gélatine	7	g
	Glycérine	50	ml
	Phénol	1	g
	Eau distillée	42	ml

b — Dépose sur les plaques de verre

— Dépose de la gélatine glycinée renfermant les animaux à l'intérieur du cadre collé sur la lame de verre.

— Rinçage avec de la gélatine glycinée fondue du béccher utilisé. Vérifier sous loupe binoculaire que tous les animaux ont bien été entraînés sur la lame de verre.

— La gélatine fondue doit alors remplir complètement le cadre de la lame de verre. Si nécessaire, réchauffer la lame sur une plaque légèrement chauffante afin de compléter le volume de gélatine et de répartir au mieux les animaux.

— Laisser refroidir la lame et sur la gélatine glycinée solidifiée disposer la lamelle ou la feuille de plastique transparente par inclinaison progressive pour éviter d'emprisonner de l'air.

— Lutage avec une solution de rhodoïd dissous dans l'acétone. Nettoyage et étiquetage. Les lames ainsi préparées peuvent être conservées plus d'un an dans une petite armoire à rangement horizontal.

Evaluation de l'abondance et de la diversité des Microarthropodes

Un calque quadrillé à maille d'environ 1 à 2 cm (selon le champ de la loupe binoculaire) est appliqué avec deux morceaux de scotch à l'envers des lames ainsi préparées. Celles-ci sont ensuite observées à la loupe binoculaire, d'abord sur fond blanc puis éventuellement sur fond noir.

Le nombre total d'animaux présents est compté carré par carré puis, après distinction des diverses espèces présentes, le nombre d'individus de chaque espèce est compté à son tour.

La diversité des Microarthropodes est alors exprimée à l'aide d'un indice mathématique, tel que ceux que nous avons précédemment retenus (BACHELIER, 1973) et que nous pensons utile de rappeler ici :

— Indice de Fisher (WILLIAMS, 1951).

Cet indice n'est utilisable que pour une répartition logarithmique des espèces à même nombre d'individus, et donc pour des sols très évolués, proches du pédoclimax.

$$S = \alpha \log_e \left(1 + \frac{N}{\alpha} \right)$$

S = le nombre des espèces

N = le nombre des individus

et, avec 2 volumes de sol S_2 et S_1 , dont l'un est double de l'autre $S_2 - S_1 = 0,69 \alpha$ (cf. pour détails BACHELIER, 1963).

— Indice de SIMPSON (1949)

$$D = \frac{N(N-1)}{\sum n(n-1)}$$

N = le nombre d'individus dans la population

n = le nombre d'individus de chaque espèce (variation de 1 à l'infini).

— Indice de McINTOSH (1967)

$$\sqrt{\sum_{i=1}^S n_i^2}$$

S = le nombre des espèces

n = le nombre des individus de chaque espèce

n_i = une mesure individuelle.

Manuscrit reçu au S.C.D. le 6 juin 1973.

BIBLIOGRAPHIE

- BACHELIER (G.), 1963. — La vie animale dans les sols. *Coll. Init. Doc. Techn.*, n° 3, ORSTOM, Paris, 279 p.
- BACHELIER (G.), 1973. — Activité biologique des sols et techniques simples qui en permettent l'évaluation. *Cah. ORSTOM, sér. Pédol.*, XI, 1, pp. 61-73.
- McINTOSH (R.P.), 1967. — An index of diversity and the relation of certain concepts to diversity. *Ecology*, 48, 3, pp. 392-404.
- MARSHALL (V.G.), 1972. — Comparison of two methods of estimating efficiency of funnel extractors for soil microarthropods. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 4, pp. 417-426.
- SIMPSON (E.H.), 1949. — Measurement of Diversity. *Nature* (Lond.), 163, p. 688.
- VANNIER (G.) et THIBAUD (J.M.), 1968. — Le concept de disponibilité en eau appliqué à une population de Collemboles Hypogastruridae vivant dans le guano de grotte. *C.R. Acad. Sci. Paris, sér. D*, T. 267, n° 7, pp. 778-781.
- VANNIER (G.), 1967. — Etude *in situ* des réactions de la microfaune au dessèchement progressif d'un type de sol donné. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, sér. D, T. 265, n° 25, pp. 2090-2092.
- VANNIER (G.), 1970. — Réactions des microarthropodes aux variations de l'état hydrique du sol. Techniques relatives à l'extraction des arthropodes du sol. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, VII, 2, pp. 289-309.
- VANNIER (G.), 1971a. — I-Techniques d'étude des populations de Microarthropodes du sol. II - Exemple d'une étude écologique : Les Microarthropodes et l'état hydrique du sol. in : « *La Vie dans les sols* », Gauthier Villars éd., Paris, pp. 83-109 et pp. 111-146.
- VANNIER (G.), 1971b. — Signification de la persistance de la pédofaune après le point de flétrissement permanent dans les sols. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, VIII, 3, pp. 343-365.
- WILLIAMS (C.B.), 1951. — Diversity as a measurable character of an animal or plant population. *L'année biologique*, 3^e sér., 27, 2, pp. 129-141.