

Station de recherches sur la faune du sol I. N. R. A., Dijon (France)

**L'extraction éthométrique  
de la faune hydrocinétique endogée  
III. Premiers résultats relatifs  
aux Enchytraeidae et aux Nématodes**

M. B. BOUCHÉ et L. BONNEL

Avec 6 figures

(Accepté 4. I. 1973)

## Plan

1. Introduction . . . . .		292
2. Paramètres étudiés . . . . .		293
2.1. Niveau d'immersion par le liquide-milieu; 2.2. Température optimale d'extraction; 2.3. Comparaison des facteurs chimiques et lumineux; 2.4. Définition d'une dose optimale de formol; 2.5. Recherches de nouveaux excitants chimiques.		
3. Conclusions et perspectives . . . . .		300
4. Résumé . . . . .		300
5. Références bibliographiques . . . . .		300

## I. Introduction

Les premières recherches relatives aux facteurs influant sur l'extraction des Enchytraeidae ont porté sur la définition de conditions optimales. Quoique les premières applications soient destinées à la station de Fontainebleau "La Tillais" de la Recherche Coopérative sur Programme n° 165 (C. N. R. S./Programme Biologique International — Productivité terrestre), il nous a semblé préférable, pour des raisons de commodité, de travailler la méthode sur un peuplement proche de notre laboratoire et assez riche en Enchytraeidae. L'objectif est en effet de définir une méthode générale.

Nous avons utilisé l'appareil décrit dans la note précédente de la même série et nous reprenons ici la même nomenclature technique (BOUCHÉ 1973).

Les conditions optimales d'extraction définies par le travail préliminaire de l'un d'entre nous (BOUCHÉ 1969) étaient les suivantes: eau ordinaire, 20 °C, 100 cm<sup>3</sup> de sol émietté pour 112 cm<sup>2</sup> de tamis, éclairage naturel. Nous avons donc repris ces paramètres pour sélectionner une station riche en Enchytraeidae et possédant un peuplement moyen en Nématodes; référence: P. 1518 collecté à Rahon (Jura), route D. 46 à 1 km de la N. 5, forêt de caducifoliés à sol acide (pH = 4,4), horizon 0—8 cm, humus de type moder.

La terre destinée aux essais est conservée dans des bacs en polyéthylène à 10 °C et homogénéisée avant le prélèvement des échantillons servant à l'expérimentation. Les volumes de sol sont appréciés sur la terre fraîche, après un brassage, et ne constituent en aucun cas une valeur extrapolable au terrain initial. Les Enchytraeidae sont, faute d'une systématique bien établie, étudiés sans distinction des diverses espèces constituant le peuplement.

Les résultats présentés ici sont préliminaires, en ce sens que de très nombreux facteurs devront être étudiés ultérieurement sur une gamme de valeurs assez large. Ces premières données sont simplement mesurées par le nombre d'individus récoltés au cours de l'expérience, exprimé par la moyenne ( $m$ ) (établie normalement sur 10 échantillons) et l'erreur

standard à la moyenne  $Sm = \sqrt{\frac{\sum(x - m)^2}{n(n - 1)}}$ , le nombre d'échantillons  $n$  permettant de

calculer, si besoin est, les limites de sécurité (LAMOTTE 1967). Lorsque la dynamique du phénomène offre un intérêt, elle sera traduite par la figuration des polygones des fréquences cumulées en fonction de temps (10 intervalles de temps).

## 2. Paramètres étudiés

### 2.1. Niveau d'immersion par le liquide-milieu

Le niveau des tamis des récepteurs a été réglé pour que le liquide affleure la base de la terre (5 échantillons) ou recouvre celle-ci (5 échantillons); durée d'extraction 16 heures, lumière naturelle (de "nuit" de 17 h à 8 h), température 10 °C, volume de sol par échantillon 100 ml.

Tableau 1 Effets du degré d'immersion sur l'extraction  
Effects of immersion stages upon extraction

Echantillons samples	Enchytraeidae		Nematoda	
	m	Sm	m	Sm
émergés (affleurants)	35	4,65	23,6	3,66
immergés	25	1,78	35,6	11,27

Note: m = moyenne (mean); Sm = erreur standard

Conclusion: L'extraction immergée semble plus favorable aux Nématodes et moins efficace pour les Enchytraeidae; la variabilité est plus grande pour l'extraction des Nématodes émergés. Les conditions d'action des facteurs chimiques et thermiques étant moins bien contrôlées dans un échantillon émergé, les essais suivants seront toujours immergés.

### 2.2. Température optimale d'extraction

La température optimale, recherchée dans la gamme de 20 °C à 35 °C sur une durée de 4 heures d'extraction, semblait ne pas présenter de grandes différences (BOUCHÉ 1969); de nouveaux essais ont été pratiqués sur des durées d'extraction de 16 heures. Les premiers résultats à 20 °C, 24 °C et 28 °C ont nettement montré qu'il était inutile de poursuivre les essais à des températures supérieures (fig. 1). Le volume des échantillons est 100 ml; il y a 10 échantillons par traitement.

Tableau 2 Effets de la température sur l'extraction  
Effects of temperature on extraction

Températures (°C)	Enchytraeidae		Nematode	
	m	Sm	m	Sm
20	74,8	7,88	50,4	5,31
24	79,6	8,39	67,0	7,06
28	32,4	3,41	31,2	3,28
dynamique:	Figure n°1		Figure n°2	

A 20 °C, une fraction des animaux du sol ne semble pas se dégager du fait d'une mobilité relativement réduite. A 24 °C, le rendement maximal est obtenu mais une fraction des Enchytraeidae (28,5%) est lésée, c'est-à-dire morte et "éclatée" du fait vraisemblablement d'un phénomène osmotique. A 28 °C, la totalité des Enchytraeidae est lésée et le rendement devient plus mauvais pour les deux groupes.

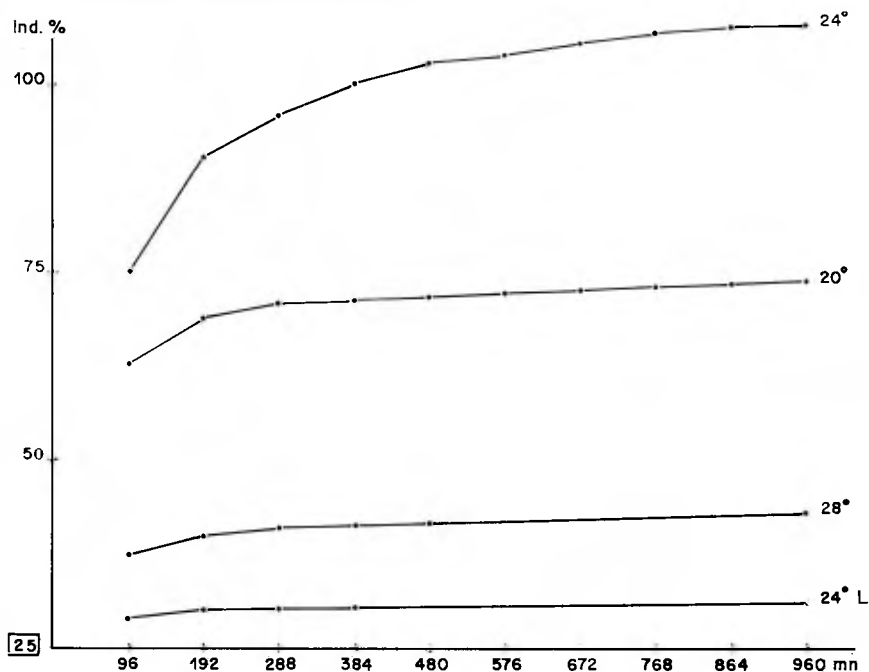


Figure 1. Dynamique de l'extraction des Enchytraeidae en fonction de la température. Polygone de fréquence cumulée du nombre d'individus récoltés pour 100 m<sup>3</sup> de terre (ind. %) en fonction du temps en minutes (mn). L = Animaux lésés

Fig. 1. Dynamic of the enchytraeids extraction in terms of the temperature. Cumulated frequency polygon for the number of earthworms collected in 100 m<sup>3</sup> of earth (ind. %) in terms of the time in minutes (mn). L = Injured animals.

Notons que Nématodes et Enchytraeidae ont un type de réponse assez semblable et que les Enchytraeidae sont d'autant plus lésés qu'ils ont quitté le sol tôt (à 24 °C, la première fraction extraite présente 38,9% d'animaux lésés à la fin de l'expérience).

### 2.3. Comparaison des facteurs chimiques et lumineux

Dans une première étude (BOUCHÉ 1969), il avait été montré que l'efficacité de l'extraction augmentait en raison inverse de la taille des échantillons, la valeur optimale étant la plus petite alors adoptée (100 ml).

En Juin 1971 (3 mois après les expériences décrites aux paragraphes ci-dessus), des essais visant à la définition des paramètres lumière et chimisme ont été réalisés. Dans ces essais, l'échantillon mesure 50 ml; l'étalonnage avec 100 ml n'a pu être effectué (la comparaison avec la série précédente ne peut être faite, la population de référence ayant pu évoluer). Le problème de la taille optimale de l'échantillon reste donc à définir, mais essentiellement par rapport à des volumes de sol initialement en place, c'est-à-dire sur des échantillons dont les résultats peuvent être extrapolés au terrain d'études.

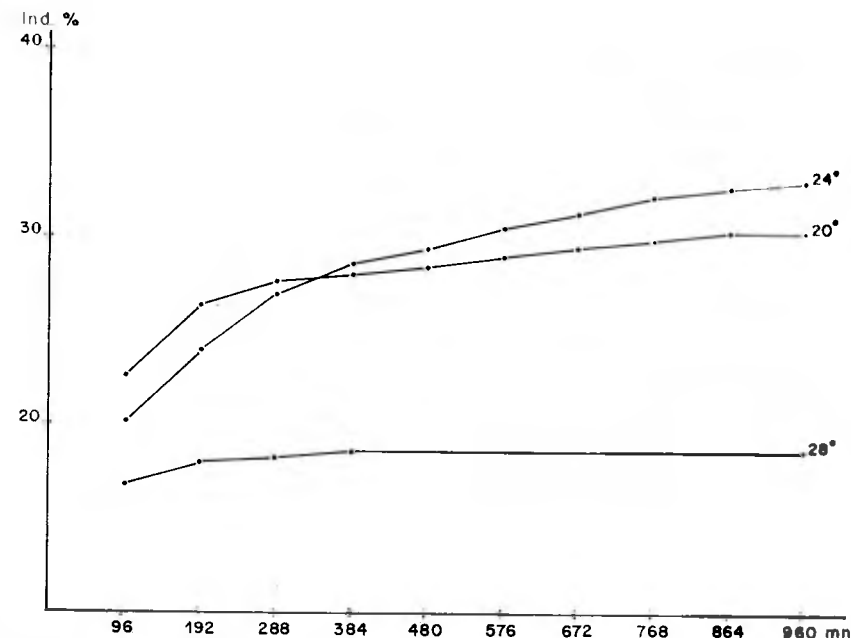


Figure 2. Dynamique de l'extraction des Nématodes en fonction de la température (cf. légende fig. 1).

Fig. 2. Dynamic of the nematods extraction in terms of the temperature (cf. legend fig. 1).

Quatre variables ont été étudiées:

- eau ordinaire + obscurité (répété 2 fois = 2 témoins)
- eau ordinaire + éclairage fluorescent (20 Watts à 40 cm)
- eau ordinaire + obscurité + sulfate de cuivre à 1%.
- eau ordinaire + obscurité + 2,5‰ de formol à 30% de formaldéhyde.

Les autres conditions sont: température 20 °C, durée totale d'extraction 16 heures 10 fractions isochrones, 50 ml de sol par échantillon.

Tableau 3 Effets de stimulants variés sur l'extraction  
Effects of various expelants on extraction

Résultats rapportés à 100 ml de sol	Enchytraeidae		Nematoda	
	m	Sm	m	Sm
Témoin I check I	95,8	8,03	12,8	4,59
Témoin II check II	91,8	8,64	17,2	4,46
Eclairage light	139,2	13,93	47,2	10,70
Sulfate de cuivre SO <sub>4</sub> Cu	148,6	24,56	3,0	2,52
Formol 2,5‰	151,8	15,22	47,0	12,64
Dynamique:	Figure n° 3		Figure n° 4	

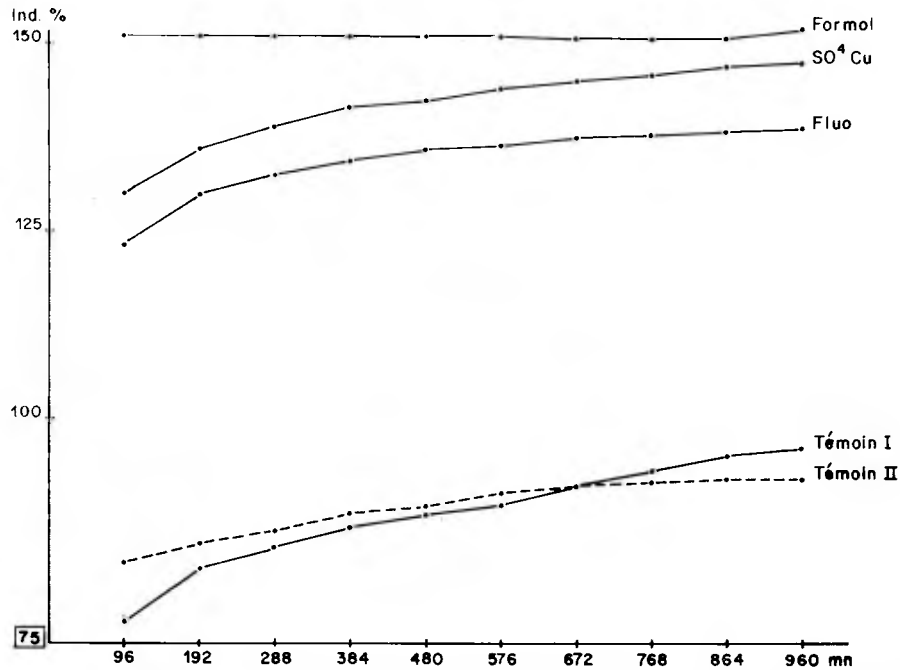
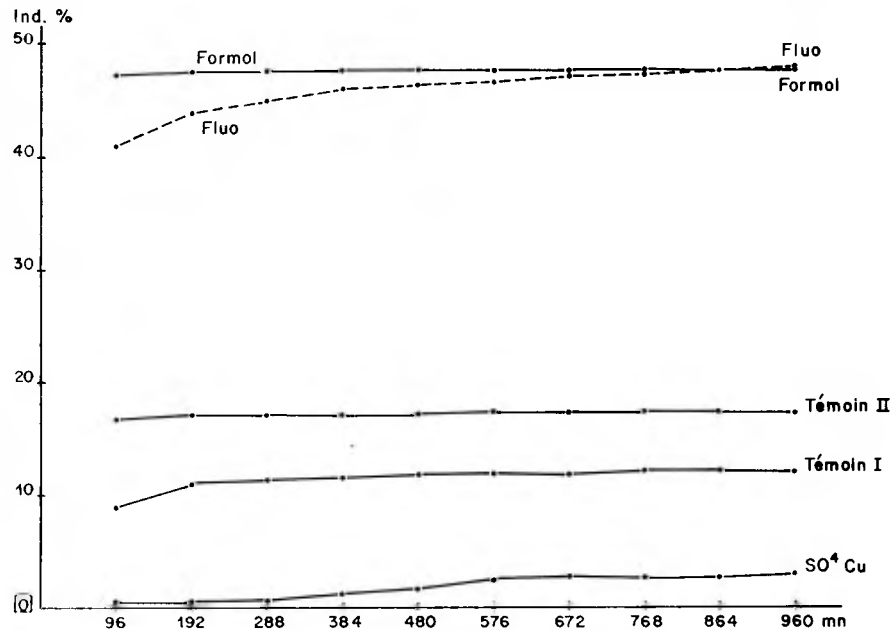


Figure 3. Dynamique de l'extraction des Enchytraeidae en fonction de l'éclairage par fluorescence (Fluo), du formol 2,5‰ et du sulfate de cuivre 1‰ (SO<sub>4</sub>Cu) (cf. légende fig. 1).

Fig. 3. Dynamic of the enchytraeids extraction in terms of the fluorescent lighting (Fluo), of the formaldehyde (formol) 2,5% and of the copper sulphate 1% (SO<sub>4</sub>Cu) (cf. legend fig. 1).



Pour les Enchytraeidae, cet essai montre l'influence positive de l'éclairage, du SO<sub>4</sub>Cu et du formol, le formol étant remarquable par la rapidité de son action: dans la première période d'extraction (96 minutes), 99% des animaux sont récoltés, mais on constate en fin d'essai (16ème heure) que la totalité des animaux sont morts, dont 46% lésés. Cette méthode semble donc, a priori, la plus efficace mais d'emploi délicat.

Pour les Nématodes, on relève une bonne influence relative des facteurs formol et éclairage en fluorescence, mais on note une véritable inhibition (toxicité?) du sulfate de cuivre. Comme pour les Enchytraeidae, la mobilité due au formol est immédiate et la totalité des animaux extraits migre durant la première période.

#### 2.4. Définition d'une dose optimale de formol

Une série d'analyses a été effectuée sur une brève échelle d'extraction (1 heure divisée en 10 fractions isochrones) avec: échantillon de 50 ml; 20 °C; obscurité; concentration de formaldéhyde respectivement de 0, 0,10, 0,25, 0,50, 1,00 et 2,00 pour mille (6 essais).

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant, les valeurs étant rapportées à 100 ml de sol.

Tableau 4 Effets du formaldéhyde à diverses concentrations sur l'extraction  
Effects of various formaldehyde concentrations on extraction

Concentration (‰) de formaldéhyde pur	Enchytraeidae		Nematoda	
	m	Sm	m	Sm
0 (témoin)	67,8	18,40	6,8	4,65
0,10	54,0	19,39	1,4	2,06
0,25	51,4	31,36	4,2	4,08
0,5	162,4	17,28	13,6	3,54
1	143,0	9,00	13,2	3,81
2	83,4	11,17	11,0	2,95
Dynamique:	Figure n° 5		Figure n° 6	

La pauvreté en Nématodes des échantillons et probablement la relative inefficacité de la méthode pour ces animaux, ne permettent pas d'avoir une opinion très sûre pour ce groupe qui semble cependant se comporter comme les Enchytraeidae.

Pour les Enchytraeidae, l'efficacité maximale est voisine de 0,5 à 1 pour mille de formaldéhyde pur, la presque totalité des animaux étant récoltée en 30 minutes.

L'observation directe des échantillons soumis au formol révèle une très grande activité motrice non orientée des Enchytraeidae: la réduction du volume de terre facilite la chute des animaux sur le tamis.

En conclusion, le formol permet la définition d'un procédé simple et rapide d'extraction des Enchytraeidae dans les conditions suivantes: durée 2 heures (par sécurité) à 30 minutes (par défaut); température 20–25 °C; formol 2,5‰ dans l'eau ordinaire (= 0,83‰ de formaldéhyde); sol 50 cm<sup>3</sup> pour 112 cm<sup>2</sup> de tamis; éclairage naturel (l'obscurité ralentissant

Figure 4. Dynamique de l'extraction des Nématodes en fonction de l'éclairage par fluorescence (Fluo), du formol 2,5‰ et du sulfate de cuivre 1‰ (SO<sub>4</sub>Cu) (cf. légende fig. 1).

Fig. 4. Dynamic of the nematods extraction in terms of the fluorescent lighting (Fluo), of the formaldehyde (formol) 2,5% and of the copper sulphate 1% (SO<sub>4</sub>Cu) (cf. legend fig. 1).

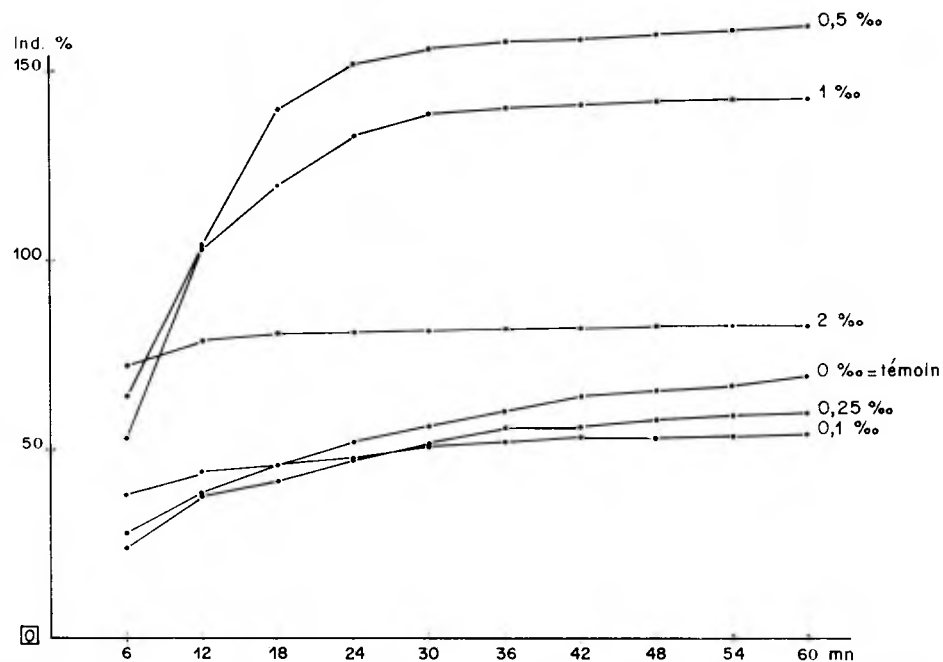
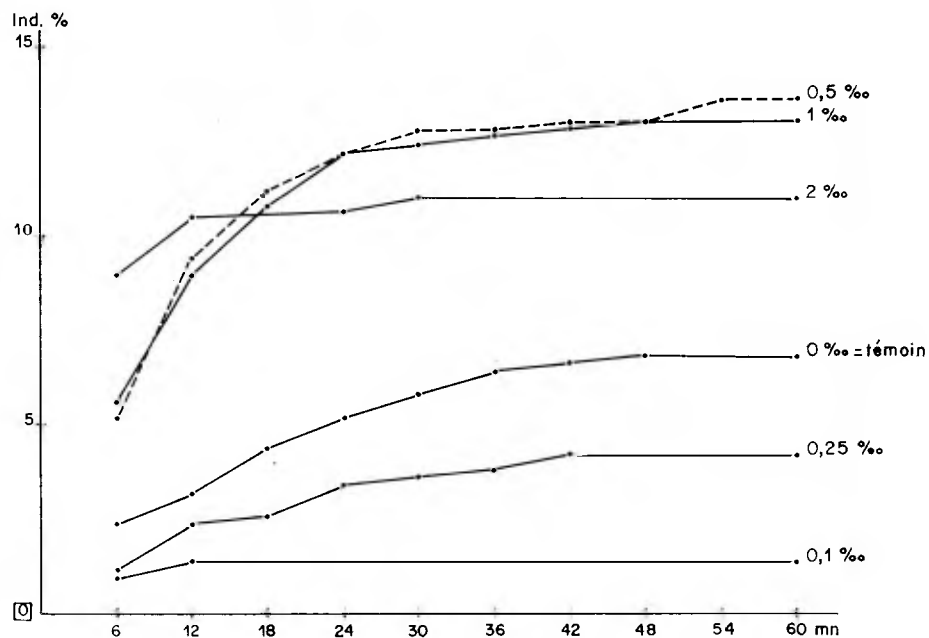


Figure 5. Dynamique de l'extraction des Enchytraeidae à des doses variables de formaldéhyde (cf. légende fig. 1).

Fig. 5. Dynamic of the enchytraeids extraction with different proportions of formaldehyde (cf. legend fig. 1).



toujours l'extraction comme nous avons pu le constater avec l'effet de fluorescence et dans des essais préliminaires). Cette technique sera retenue temporairement comme méthode normale dans la R. C. P. 165.

## 2.5. Recherches de nouveaux excitants chimiques

Une nouvelle série d'essais a été effectuée en décembre 1971 sur des échantillons provenant de la même localité; la sécheresse qui a sévi pendant cette année a entraîné un abaissement considérable du niveau faunique. Ces essais avaient pour but de comparer différentes substances chimiques usuelles à l'unique concentration de 1 ‰ de produit pur.

L'expérience a été conduite à 20 °C, sur des échantillons de 50 ml (10 par essai) de sol, dans l'obscurité, pendant une heure (10 fractions de 6 minutes).

Tableau 5 Effets de divers produits chimiques sur l'extraction  
Effects of various chemicals on extraction

Concentration (1 ‰)	Résultats rapportés à 100 ml de sol			
	Enchytraeidae		Nematoda	
	m	Sm	m	Sm
Formol	95,8	6,59	9,0	3,79
Cl Na	37,2	13,24	6,2	4,42
Ethanol	31,8	4,46	3,4	2,43
Saccharose	21,0	5,48	3,8	3,70
SO <sub>4</sub> Fe	15,8	8,98	4,8	2,70
SO <sub>4</sub> Cu	23,2	7,84	2,4	2,72
Eau de Javel				
(Hypochlorite de soude)	12,0	4,84	5,0	3,37
Phénol	12,8	2,52	1,6	1,68
MnO <sub>4</sub> K <sub>2</sub>	12,6	4,25	2,2	1,55
Acide acétique	5,8	2,40	1,2	1,51
Ammoniaque	4,4	1,85	0,8	1,01
Potasse	2,6	2,31	0,6	0,88
Chaux éteinte	1,4	1,77	1,4	1,47
Soude	0	0	0	0

Ce tableau montre que les substances les plus efficaces, pour les Nématodes et les Enchytraeidae, appartiennent à des familles chimiques fort différentes mais toutes connues pour leur effet irritant. Ces substances sont par ailleurs peu sensibles aux conditions chimiques de l'eau ordinaire dans le temps de l'expérience (cette eau est, à Dijon, très calcaire). Les bases sont toutes inefficaces aux doses employées mais semblent entraîner la mort ou l'inactivité des animaux dans le substrat car les récoltes sont très faibles ou nulles. La recherche d'une nouvelle gamme de substances irritantes, peu toxiques et à des doses variées, est très souhaitable.

Figure 6. Dynamique de l'extraction des Nématodes à des doses variables de formaldéhyde (cf. légende fig. 1).

Fig. 6. Dynamic of the nematods extraction with different proportions of formaldehyde (cf. legend fig. 1).

### 3. Conclusions et perspectives

Les résultats que nous présentons sont essentiellement préliminaires, les divers facteurs ayant été étudiés sur un seul peuplement de vers. Du point de vue nématologique, les rendements sont toujours très faibles mais les types de réponses sont assez comparables à ce qui s'observe pour les Enchytraeidae. Les Enchytraeidae sont sensibles à certains facteurs chimiques et à la lumière "froide", ce qui a permis de définir une nouvelle méthode provisoire d'extraction quantitative. Les recherches devront être poursuivies en variant les types de faunes, en élargissant la gamme de facteurs étudiés afin d'étendre nos connaissances sur les divers stimulus susceptibles d'agir.

Pour une méthode quantitative, on cherchera à obtenir rapidement l'extraction en stimulant la mobilité des animaux ayant conservé leur vitalité initiale, c'est-à-dire en augmentant la probabilité qu'ils s'échappent du sol par un accroissement de leur activité locomotrice. L'expérience devra être aussi brève que possible notamment pour les Enchytraeidae qui éclatent après un séjour prolongé dans l'eau et ceci d'autant plus tôt que la température du liquide-milieu est élevée; par contre, l'élévation de température doit stimuler l'activité motrice de ces animaux poïkilothermes. A l'avenir, une méthode optimale utilisant une combinaison factorielle (température relativement élevée, éclairage, chimisme, temps d'extraction, volume de l'échantillon) pourra être définie; c'est seulement à ce stade qu'une comparaison avec les procédés classiques sera démonstrative.

### 4. Résumé · Summary · Zusammenfassung

Des résultats préliminaires, relatifs à une première série d'extractions éthologiques de Nématodes et Enchytraeidae, sont présentés. Les essais portent sur le degré d'immersion des échantillons, et les conditions thermiques et chimiques optimales. Une méthode d'extraction rapide des Enchytraeidae en est déduite.

Preliminary results of a first series of ethological extractions relative to Nematods and Enchytraeidae are presented. These experiments concern the immersion degree of the samples, the optimal temperatures and chemical conditions. They led us to determine a quick extraction method for Enchytraeidae.

Die vorläufigen Ergebnisse einer ersten Reihe ethologischer Extraktionen von Nematoden und Enchytraeiden werden beschrieben. Diese Versuche betreffen den Untertauchensgrad der Proben, die optimalen Temperaturen und chemischen Bedingungen. Daraus wird eine schnelle Extraktionsmethode für Enchytraeiden abgeleitet.

### 5. Références bibliographiques

- BOUCHÉ, M. B., 1969. L'échantillonnage des peuplements d'Oligochètes terricoles. In: M. LAMOTTE et F. BOURLIERE: Problèmes d'écologie: l'échantillonnage des peuplements animaux des milieux terrestres. Masson et Cie, Paris, 273—287.
- BOUCHÉ, M. B., avec S. STAWIECKI, 1973. L'extraction ethométrique de la faune hydrocinétique endogée. I et II. *Pedobiologia* **13**, 2, 107—122.
- LAMOTTE, M., 1967. Initiation aux méthodes statistiques en biologie. Masson et Cie, Paris, 1—144.

Adresse des auteurs: Dr. Marcel B. BOUCHÉ et L. BONNEL, Institut National de la Recherche Agronomique, Station de Recherches sur la Faune du Sol, 7, rue Sully, F-21 Dijon, France