



Observatoire
de Rennes



Protocole Moutarde Tri Manuel

Matériel nécessaire

(kit de prélèvement ou références disponibles auprès de l'UnivRennes1)

- **Cadre rigide d'1m²** pour délimiter la placette de prélèvement
- 1 arrosoir de 11 L + rampe d'arrosage + agitateur (= *grand fouet de cuisine* ou 3 piquets pour brasser la solution juste avant usage)
- 8 boîtes à bords hauts (min. 10*10*10 cm), équipées de couvercles, pour stocker les vers de terre pendant le prélèvement et réaliser le tri des individus prélevés en 4 groupes
- Pince à épiler plate
- Surface claire pour l'identification (ex : bâche blanche)
- Gants (*évités de vous frotter le visage avec le gant*)
- Eau 65L (3*20 L par m² et 5 L pour mettre dans les boîtes contenant des vers de terre)
- Moutarde **AMORA fine et forte (1,8 kg)** ouverte le jour même (*les pots de 5kg sont donc à éviter si vous les utilisez en intégralité dans la journée*)
- Doseur OPVT (volume prévu pour 300 g de moutarde)
- Shaker pour homogénéiser la solution d'eau moutardée avant de la verser dans l'arrosoir
- 1 bêche
- 1 mètre ruban
- 1 cadrat de 25 x 25 cm
- 3 seaux ou bacs
- 15 piluliers (4 groupes *3 répétitions)
avec alcool non dénaturé d'une pureté maximale (*min 90°, 95°*)
- 1 sonde thermique (pour mesurer la température du sol à -10 cm)
- Appareil photo numérique (ou téléphone portable avec appareil photo)
- Feuille de terrain pour quantifier les vers de terre
- Cisaille à haie (pour supprimer, si besoin, la végétation)

Conditions de mise en œuvre du protocole

Intervenir *si possible* avant toute intervention ou si impossible, au moins **4 semaines après** toute intervention (travail du sol, traitements, fertilisants).

Positionnement : Sur une zone homogène et représentative de la surface considérée à 10 mètres des bordures (dans la mesure du possible). Eviter les allées et les zones de passage.

Durée : Compter environ 4 à 5 h minimum pour une personne seule pour la totalité de la manipulation (1 h 30/m²). Privilégier si possible les prélèvements à plusieurs, plus stimulants (unicité de temps entre les 3 répétitions = 2h au total).

Dates : **Janvier – Avril** (sur sol dégelé et ressuyé; décalage dans les zones montagneuses). Il est très important de réaliser les prélèvements durant cette période car celle-ci est liée à la période d'activité maximale des vers de terre. En dehors de cette période, les abondances recueillies seront moindres et non comparables aux autres.

Humidité du sol : **impérativement** humide mais **non engorgé** (ressuyé).

Moment de la journée : De préférence **le matin**.

Météo : T°C de l'air entre approximativement 8 et 15°C. **Temps couvert** (n'hésitez pas à faire de l'ombre sur les zones observées si soleil ponctuellement chaud).

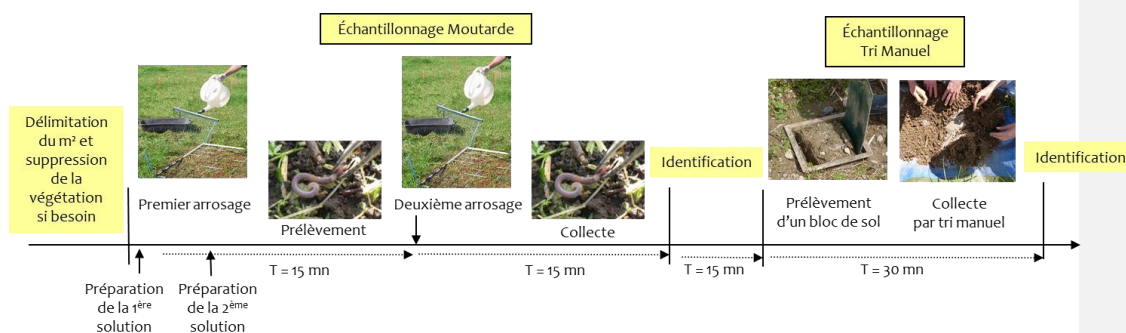
Température du sol : **Sol dégelé** avec une température à -10 cm **> 42,8°F soit > 6°C**.

Plan d'échantillonnage pour les observations

Les prélèvements lombriciens sont répétés, pour chaque parcelle, sur **3 placettes de 1m²**.

Au cours d'un suivi sur 5 ans par ex., aucun prélèvement lombricien ne doit être réalisé sur une zone déjà prélevée. Si possible, géoréférencer chacune des zones prélevées.

Déroulement du protocole sur le terrain



Le protocole Moutarde Tri Manuel s'échantillonne au sein de 3 m².

Il comporte deux étapes:

- => Chaque m² est arrosé à 15 minutes d'intervalle de 2 solutions moutardées. Les vers de terre, irrités par la moutarde, remontent à la surface et sont ramassés pendant 30 minutes à compter de la fin du premier arrosage ;
- => Au centre de chaque m², un bloc de sol de 25 x 25 x 20 cm est extrait puis trié manuellement. Les vers de terre qui ne sont pas sortis lors des arrosages sont alors récoltés.

1. Préparation des zones d'observation

Positionner les **3 zones d'échantillonnage de 1 m²** espacées, si possible, d'au moins 6 mètres ; choisir une surface homogène et représentative à plus de 10 mètres des bordures (dans la mesure du possible). De préférence une surface plane, hors allées et zones de passage.

Eviter de marcher à l'endroit où vous allez positionner vos cadres de prélèvement.

Il est important de nettoyer la surface d'échantillonnage (ainsi que 20 cm autour du cadre). Soit en retirant délicatement les résidus de culture, soit en coupant soigneusement la végétation en place. Le but étant de pouvoir voir la surface du sol, afin de déceler le mouvement d'un petit ver de terre (d'environ 1 cm).

En coupant la végétation, attention toutefois à ne pas trop perturber la surface du sol (ne pas arracher les mottes et les racines ou enlever les cabanes de vers de terre).

Remarques :

- i) si lors de cette étape, des vers de terre sont observés au sein du m² à la surface du sol, les récupérer et les disposer dans les boîtes prévues à cet effet
- ii) En cas de grande densité de végétation, vous avez la possibilité d'utiliser un rotofil, mais au plus tard la veille car cet outil crée de nombreuses vibrations qui risque de biaiser l'échantillonnage. Pensez à laisser la végétation coupée durant la nuit, en la retirant avant l'échantillonnage.

=> 1^{ère} étape : Arrosages de solutions moutardées

2. Préparation des solutions

Préparer les solutions de moutarde sur place : pour chaque arrosage (2 par placette d'1m²). Pour cela, il suffit de remplir le doseur avec 300 g de moutarde *Amora Fine et Forte*, l'introduire dans le shaker et le remplir avec de l'eau jusqu'à la moitié, puis agiter.

Verser cette solution dans l'arrosoir en rinçant le shaker et compléter à 10L avec de l'eau claire. Penser à ne pas perdre de moutarde à chaque étape (bien nettoyer le matériel qui a servi à faire le mélange).

Penser à mélanger la solution avant arrosage, à l'aide de piquets ou fouet.

Remarque : pour une personne travaillant seule, la deuxième solution doit être préparée tout de suite après le premier arrosage ; les vers de terre ne remontant pas instantanément à la surface du sol.

3. Epandage des solutions et ramassage des vers de terre

Pour chacune des trois zones d'1m² étudiées, appliquer à **15 minutes d'intervalle, 2 épandages de moutarde diluée**. Lancer le chronomètre à la fin du premier arrosage. Arroser de façon homogène toute cette surface grâce à une rampe d'arrosage (arroser sur 1,30m², soit 10-15 cm autour du m²).

Remarque : La rampe d'arrosage a l'avantage, par rapport à la pomme, d'arroser la zone de manière plus homogène et de permettre une infiltration plus progressive de la solution dans le sol.

Entre les deux épandages et un quart d'heure à la suite du deuxième, récolter seulement dans la zone délimitée de 1m² **tous** les vers de terre qui remontent à la surface. Les placer dans une bassine remplie d'eau munie d'un couvercle (cela permet de rincer les individus et limiter leur fuite durant les 30 minutes de capture). En arrosant, minimiser vos déplacements autour du cadre et le balancement de l'arrosoir (la rampe doit toujours se déplacer sur le même plan horizontal). Si vous constatez une perte importante de la solution, en dehors du cadre, limiter son écoulement (faire barrage à un écoulement préférentiel, et en parcelle en pente, privilégier l'arrosage en haut du cadre).

Remarques et Précautions :

- i) Si les individus continuent à sortir au bout du 1^{er} quart d'heure, retarder le deuxième arrosage de quelques minutes en continuant à ramasser les vers en priorité.
- ii) Lors du ramassage des vers, bien attendre qu'ils soient complètement sortis de leurs galeries ; si le ver est coupé en 2 ou+, prendre tous les morceaux.
- iii) Limiter vos déplacements autour du cadre de prélèvement. Les vibrations générées par le piétinement pourraient influencer les abondances lombriciennes recueillies.

=> 2nd étape : Tri manuel d'un bloc de sol

4. Extraction d'un bloc de sol

Pour chacune des zones étudiées, placer le patron de 25 x 25 cm au centre du mètre carré et extraire un bloc de sol de 25 x 25 x 20 cm. Pour faciliter l'extraction, prédécouper les côtés du bloc de sol à la bêche. Lors de cette étape, veiller à ne pas « laisser échapper » les vers de terre présents au sein du bloc. Déposer le bloc dans le bac ou le seau prévu à cet effet.

Bien vérifier la profondeur du bloc prélevé. En cas d'impossibilité de faire un bloc de 20 cm de profondeur, il est important de le préciser sur la fiche de terrain et lors de la saisie de vos données.

5. Récupération des vers de terre

Trier les blocs de sols en émiettant la terre jusqu'à obtenir des mottes de moins de 1 cm de diamètre. Veiller à être particulièrement vigilant lors de la prospection du mât racinaire, s'il est présent. Les vers de terre trouvés lors de ce tri doivent être placés dans un bac d'eau différent de celui utilisé lors de l'extraction à la moutarde. En effet, ils seront comptés séparément des vers issus des arrosages.

Remarques et Précautions :

- i) Si vous êtes seul, il est préférable de privilégier les arrosages. Après avoir extrait le premier bloc de sol, conservez-le dans un bac ou un seau et allez arroser le second mètre carré. Le bloc de sol sera trié une fois tous les arrosages des trois zones d'échantillonnage effectués.
- ii) Il ne faut pas mélanger les vers de terre récoltés lors des arrosages et ceux récoltés dans les blocs de sols

=> Pour faciliter votre organisation et garantir des prélèvements groupés le matin, les étapes suivantes peuvent être réalisées au retour du terrain. Les vers de terre doivent alors être stockés dans des boîtes avec couvercle étanche, généreusement remplies

d'eau fraîche. Attention toutefois de ne pas mélanger les vers de terre issus de chaque étape (moutarde puis tri manuel), ainsi que les 3 placettes/répétitions, et à bien coder vos boîtes (6 boîtes au total).

6. Identification des vers de terre

Rincer et **étaler les vers sur une surface de couleur claire** (bâche blanche par exemple). Grouper les individus qui se ressemblent.

Déterminer les vers à l'aide de la fiche d'identification et de **la clef de détermination**. Penser à les séparer selon le stade de maturité sexuelle (adulte ou juvénile) et commencer à observer les adultes pour les classer 4 groupes écologiques (répartition en utilisant les 8 bassines disponibles). Compter les individus par bassine et reporter les résultats sur la feuille de terrain.

Les vers de terre issus du tri des blocs de sol sont multipliés par 16 pour rapporter les résultats à l'échelle du mètre carré.

7. Photographie des vers de terre (facultatif*)

Prendre des photos des groupes : pensez à prendre une photo de toutes les bassines afin que l'Université de Rennes 1 puisse avoir une vue d'ensemble de vos individus (cela pourrait permettre de trouver un individu qui poserait question lors de la détermination à défaut d'une photo individuelle).

Séparer ensuite au sein de chaque groupe écologique, **les morphotypes** (c'est-à-dire les vers de terre présentant un ensemble de caractères morphologiques permettant de former des groupes homogènes par leurs longueur, largeur, couleur, gradient de décoloration, transparence de l'épiderme, ...).

Prendre des photos de ces morphotypes identifiés (un ou deux individus sur la photo), à côté d'une pièce de 1 € (pour l'échelle). Si un morphotype n'est représenté que par un seul individu: prendre plusieurs photos de cet individu (face dorsale et ventrale), même si l'individu est juvénile. Vous pouvez également placer dans le cadrage de la photo, un papier où est inscrit le code du pilulier pour vous aider à renommer les photos.

Assurez-vous de la qualité de vos photos et posez-vous toujours la question suivante: **Seront-elles exploitables?** (exposition, netteté, ...)

Remarques :

- i) L'alcool décolorant les vers de terre, les photos sont indispensables pour l'identification certifiée des espèces et sous-espèces au laboratoire.
- ii) La qualité photographique d'un téléphone portable peut être suffisante. Toutefois, veiller à ne pas transmettre des photos floues.
- iii) Vous pouvez réduire la qualité de vos photos pour faciliter les transferts (utilisation de logiciels simples type easyimagemodifier.exe par exemple).

Conseil : prendre une photo du code de la parcelle avant les photos de vers de terre. Répéter cette opération pour chaque nouvelle parcelle et renommer les photos dès que possible.

8. Stockage de tous les vers de terre dans les piluliers (facultatif*)

Attention : Tous les vers de terre échantillonnés doivent être déposés dans les piluliers

Pour les vers de terre collectés via les arrosages et pour chaque placette, regrouper ensemble tous les individus d'un même groupe (Epigés ou TR (Têtes Rouges) ou TN (Têtes Noires) ou Endogés) et placer les dans un pilulier contenant de l'alcool (un pilulier par groupe).

Pour les vers de terre collectés via le tri manuel d'un bloc de sol et pour chaque placette, disposer tous les individus, tous groupes fonctionnels confondus, dans un pilulier contenant de l'alcool (un pilulier unique par bloc de sol).

Au total, pour chaque observation vous devez avoir 5 piluliers : 4 pour les vers de terre issus de l'arrosage et 1 pour ceux issus du tri manuel.

→ Consignes pour assurer une bonne conservation des vers de terre

Pour éviter une dilution trop importante de l'alcool, pensez à poser vos individus quelques secondes sur un papier absorbant avant de les introduire dans les piluliers.

Ne pas dépasser 2/3 du volume du pilulier en volume de vers de terre. Si les piluliers sont trop remplis, les vers de terre stockés pourraient se décomposer. Si la contenance des piluliers n'est pas suffisante pour un groupe, utiliser un pilulier qui n'a pas été utilisé (en indiquant bien que c'est un complément de pilulier).

→ Consignes pour assurer la traçabilité de vos échantillons

Noter sur les piluliers vos codes relatifs à votre prélèvement :

Proposition = Région (2 premières lettres)/Code parcelle/ Année (ex. -12 pour 2012)/ Numéro de la placette (R1 ou R2 ou R3)/ Etape de prélèvement (M = Moutarde ou TM = Tri Manuel)/ Groupe Lombricien (EPI ou TR ou TN ou END). -> faire deux ligne de code

Pour assurer une meilleure traçabilité, joindre dans le pilulier, un papier sur lequel est noté, au crayon de papier, ce même code.

Attention, un même numéro de placette/répétition noté sur des piluliers et la fiche de terrain doit renvoyer à la même observation.

Remarques :

- i) Il est préférable d'inscrire les codes sur les piluliers avant d'aller sur le terrain
- ii) Si des vers de terre de plus de 50 cm sont prélevés, ne conserver qu'un seul individu (de préférence un adulte) dans l'alcool. Remettre les autres en terre à 2 m minimum de la zone prélevée. Seuls les préleveurs du sud de la France sont réellement concernés.

* ces étapes concernent les préleveurs transférant leurs échantillons à l'Université de Rennes 1, pour les autres les données peuvent être saisies en ligne sur le site de l'OPVT : http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/OPVT_accueil.php

Commentaire [JS1]: Phrase pour dire qu'ils ne sont pas traités de la même manière à faire ressortir en orange comme pour les deux phases du protocole

Commentaire [JS2]: ne pas employer le terme de placette

Commentaire [JS3]: Epi-anécique (anécique tête rouge)

Commentaire [JS4]: Anécique strict (anécique tête noire)

Adresse postale & Contacts

Equipe OPVT
OSUR/Univ. Rennes1 – UMR CNRS 6553 EcoBio
Station Biologique de Paimpont
35800 PAIMPONT

Daniel Cluzeau, Enseignant-Chercheur sur l'écologie des vers de terre dans les agrosystèmes
(daniel.cluzeau@univ-rennes1.fr)



Annexe 3_B : Saisie

FEUILLE DE SAISIE POUR LES LOMBRICIENS COMMUNS EN MILIEU AGRICOLE

Nom de l'exploitation :

Commune :

Observateur :

Parcelle et environnement : compléter la fiche de données paysagères et culturales jointe en annexe (fichier Excel).

CONDITIONS DES OBSERVATIONS		Date :/...../.....	Heure de début :	Heure de fin :
Météo : T C	Ensoleillement : <input type="checkbox"/> soleil <input type="checkbox"/> peu nuageux <input type="checkbox"/> couvert	Pluie : <input type="checkbox"/> nulle <input type="checkbox"/> légère <input type="checkbox"/> forte		
Vent : <input type="checkbox"/> nul <input type="checkbox"/> léger <input type="checkbox"/> fort	Humidité du sol : <input type="checkbox"/> sec, <input type="checkbox"/> humide, <input type="checkbox"/> engorgé	Date dernière pluie et gelée :/...../.....		



1- Déterminer si l'individu est adulte ou juvénile
S'il est adulte, le ver de terre possède un anneau coloré, appelé **clitellum**, sur le premier tiers du corps.

2- Observer la couleur du ver de terre

Individu coloré

- Rouge-orangé
- Rouge-bordeaux
- Noir

Une décoloration peut être observée de la tête à la queue

3- Observer la taille du ver de terre

Petite taille
1-5 cm

Grande taille
(10 - 100 cm)

Anéciques

Epigé
(Rouge bordeaux)

Epi-anécique
Tête Rouge
(clitellum orange)

Anécique strict
Tête Noire
(clitellum marron, marron clair)

Individu faiblement coloré

Rose, gris-clair, vert

Petite à moyenne taille
(3-20 cm)

Endogé

Endogé

Attention, les tailles notées ci-dessus s'appliquent aux vers de terre adultes.

Individus Indéterminés →

Laissez les vers complètement sortir avant de les prélever du côté de la queue pour ne pas les casser.
Lorsque vous trouvez plusieurs morceaux de vers de terre dans votre bloc, vérifiez s'ils proviennent du même individu avant de les compter.

Total observation
Total tri manuel (à multiplier par 16)
Total observation + tri manuel en nombre de vers de terre par m²

		Observation 1	Observation 2	Observation 3
		Tri manuel 1	Tri manuel 2	Tri manuel 3
Adultes	Epigé	TM	TM	TM
	Epi-anécique	TM	TM	TM
Juvéniles	Epigé	TM	TM	TM
	Epi-anécique	TM	TM	TM
Adultes	Anécique strict	TM	TM	TM
	Epi-anécique	TM	TM	TM
Juvéniles	Anécique strict	TM	TM	TM
	Epi-anécique	TM	TM	TM
Adultes	Endogé	TM	TM	TM
	Epi-anécique	TM	TM	TM
Juvéniles	Endogé	TM	TM	TM
	Epi-anécique	TM	TM	TM
Individus Indéterminés		TM	TM	TM
Total observation		x 16 TM	x 16 TM	x 16 TM
Total observation + tri manuel en nombre de vers de terre par m ²		x 16 TM	x 16 TM	x 16 TM

