
**Qualité du sol — Essai d'évitement pour
contrôler la qualité des sols et les effets
des produits chimiques sur le
comportement —**

Partie 1:

**Essai avec des vers de terre (*Eisenia
fetida* et *Eisenia andrei*)**

(standards.iteh.ai)

*Soil quality — Avoidance test for determining the quality of soils and
effects of chemicals on behaviour —*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/701709abbed8/iso-17512-1-2008> Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*)
701709abbed8/iso-17512-1-2008



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 17512-1:2008](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/096815d9-f80a-4bd6-92e6-701709abbeda/iso-17512-1-2008>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2008

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
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	2
4 Principe	2
5 Réactifs et matériaux	3
6 Appareillage	4
7 Mode opératoire	5
7.1 Gamme de concentrations adaptée	5
7.2 Essai sur sols	5
7.3 Essai de produit chimique	6
7.4 Substance de référence	6
7.5 Critères de validité	6
8 Calcul et expression des résultats	6
9 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Récipients d'essai	9
Annexe B (informative) Exemple de technique d'élevage des espèces <i>Eisenia fetida</i> et <i>Eisenia andrei</i>	12
Annexe C (informative) Autres organismes d'essai	13
Annexe D (informative) Contaminants pouvant être détectés et évités par les vers de terre lors de l'essai d'évitement	14
Annexe E (normative) Application des essais d'évitement aux produits chimiques	15
Annexe F (normative) Détermination de la capacité de rétention d'eau	17
Annexe G (informative) Comparaison des résultats obtenus avec les récipients à deux et à six compartiments	18
Annexe H (informative) Influence des propriétés du sol sur le comportement d'évitement — Base pour la valeur seuil de 20 %	21
Annexe I (informative) Données obtenues lors d'essais «en double» avec le même sol témoin (non traité) dans les deux compartiments des récipients d'essai	23
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 (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée 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.

L'ISO 17512-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

L'ISO 17512 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Essai d'évitement pour contrôler la qualité des sols et les effets des produits chimiques sur le comportement*:

— *Partie 1: Essai avec des vers de terre (Eisenia fetida et Eisenia andrei)*

La partie suivante est en cours de préparation:

— *Partie 2: Essai avec Collembolans (Follomia candida)*

Introduction

Les méthodes d'essai d'écotoxicité servent à obtenir des informations sur les effets des contaminants dans le sol et sont proposées en complément des analyses chimiques traditionnelles (voir l'ISO 15799). L'ISO 15799 présente une liste et une brève caractérisation des systèmes d'essais recommandés et normalisés. Les systèmes d'essais aquatiques mis en œuvre sur éluat de sol servent à recueillir des informations sur la fraction de contaminants susceptible d'atteindre les eaux souterraines du fait de la circulation de l'eau (fonction de rétention des sols) tandis que les systèmes d'essais terrestres servent à évaluer la fonction d'habitat des sols. En tant que systèmes d'essais normalisés, un essai de mortalité (ISO 11268-1) et un essai de reproduction (ISO 11268-2) sont disponibles pour évaluer la fonction d'habitat d'un sol en ce qui concerne les vers de terre considérés comme représentant de la biocénose du sol.

L'essai de reproduction des vers de terre (ISO 11268-2) sert à déterminer les effets de concentrations sublétales. De tels critères d'effet sont utilisés de préférence pour obtenir des informations sur les effets environnementaux. Cependant, l'essai de reproduction implique un travail important et un temps considérable, nécessitant de longues périodes d'exposition qui ne permettent d'obtenir les résultats qu'au bout de 56 jours. La durée d'un essai et la charge de travail déterminant le coût d'un essai donné, il est préférable d'obtenir des résultats rapidement et avec une sensibilité élevée. Ceci est particulièrement le cas pour l'évaluation des sols décontaminés. L'essai d'évitement avec les espèces *Eisenia fetida* et *Eisenia andrei* répond à ce critère. L'expérience acquise lors d'un essai interlaboratoires réalisé sur huit sols contaminés dans trois laboratoires montre que la sensibilité de l'essai d'évitement est quasi identique à celle de l'essai de reproduction (Référence [5]). Toutefois, cet essai n'est pas destiné à remplacer l'essai de reproduction des vers de terre.

NOTE Les résultats ont été comparés à ceux des essais aigus et de reproduction des vers de terre réalisés avec les mêmes sols. Les résultats ont montré qu'avec un critère correspondant à une réaction d'évitement > 80 %, une concordance des résultats de 72 % a été obtenue.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/096815d9-f80a-4bd6-92e6-701709abbeda/iso-17512-1-2008>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 17512-1:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/096815d9-f80a-4bd6-92e6-701709abbeda/iso-17512-1-2008>

Qualité du sol — Essai d'évitement pour contrôler la qualité des sols et les effets des produits chimiques sur le comportement —

Partie 1:

Essai avec des vers de terre (*Eisenia fetida* et *Eisenia andrei*)

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 17512 spécifie une méthode d'essai biologique de dépistage rapide permettant d'évaluer la fonction d'habitat des sols ainsi que l'influence des contaminants et des produits chimiques sur le comportement des vers de terre.

Cet essai sublétal constitue une méthode rapide qui reflète la biodisponibilité pour les espèces *Eisenia fetida* et *Eisenia andrei* des mélanges de contaminants dans les sols naturels et des sols dopés en substances. Le comportement d'évitement des vers constitue le critère d'effet de cet essai. Ce dernier n'est pas destiné à remplacer l'essai de reproduction (vers de terre).

Deux modèles de conception différente (récipient d'essai à deux compartiments et récipient d'essai à six compartiments) ont été mis au point et mis en œuvre avec succès. Les deux modèles conviennent soit aux essais à une seule concentration (par exemple pour évaluer la qualité d'un sol naturel), soit aux essais à plusieurs concentrations (par exemple pour évaluer la toxicité d'un sol dopé par un produit chimique). Dans les deux cas, le choix initial du compartiment où pénétrer est laissé aux vers de terre: sol témoin et un traitement [dans le récipient d'essai à deux compartiments, choix entre le côté droit ou gauche; dans le récipient d'essai à six compartiments, choix entre les compartiments disposés de façon alternée (3 + 3)].

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 10390, *Qualité du sol — Détermination du pH*

ISO 11268-2:1998, *Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (Eisenia fetida) — Partie 2: Détermination des effets sur la reproduction*

ISO 11269-2, *Qualité du sol — Détermination des effets des polluants sur la flore du sol — Partie 2: Effets des substances chimiques sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs*

ISO 11465, *Qualité du sol — Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau — Méthode gravimétrique*

ISO 15799, *Qualité du sol — Lignes directrices relatives à la caractérisation écotoxicologique des sols et des matériaux du sol*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

comportement d'évitement

tendance (d'un organisme) à éviter le sol soumis à essai en faveur du sol témoin

3.2

fonction d'habitat

aptitude des sols/matériaux du sol à assurer l'habitat des micro-organismes, des plantes, des animaux vivant dans le sol, et leurs interactions

[ISO 15799:2003]

NOTE En tant qu'indicateurs de la fonction d'habitat, les essais d'écotoxicité fournissent des informations relatives aux paramètres respectifs mesurés, par exemple l'essai de toxicité aiguë pour la survie ou les essais de toxicité chronique pour la reproduction.

3.3

fonction d'habitat limitée

fonction d'habitat (3.2) considérée comme limitée si, en moyenne, plus de 80 % des vers sont trouvés dans le sol témoin (indication d'un effet sur le comportement)

3.4

concentration efficace

CE_x

concentration à laquelle est décelé un effet spécifique [où x est un pourcentage (10, 25, 50) de cet effet; par exemple, évitement]

EXEMPLE Dans la présente partie de l'ISO 17512, CE₅₀ désigne la concentration d'une substance ou d'un mélange de substances dans un sol qui est considérée comme étant à l'origine d'une réponse comportementale chez 50 % des vers de terre soumis à essai.

4 Principe

Dix vers de terre adultes (de l'espèce *Eisenia fetida* ou *Eisenia andrei*) sont exposés simultanément au sol témoin et à un sol contaminé ou à un sol contenant des substances pour essai. Le sol soumis à essai et le sol témoin sont placés dans chaque récipient d'essai et les vers de terre ont ainsi le choix entre ces deux sols. Deux types de récipients sont disponibles:

- a) un récipient d'essai à deux compartiments; et
- b) un récipient d'essai à six compartiments.

Après une période d'exposition de deux jours, le nombre de vers présents dans chacun des compartiments des récipients est déterminé.

Des études individuelles (par exemple, l'essai avec l'acide borique dans l'un des deux modèles dans différents laboratoires) ou des examens comparatifs (essai du même produit chimique ou sol dans le même laboratoire, par exemple Référence [8]) ont dans certains cas montré des résultats différents. Récemment, les deux modèles ont été validés dans des essais interlaboratoires conduits au Canada (Référence [2]) et en France; toutefois, jusqu'à présent aucun essai interlaboratoires international utilisant simultanément les deux modèles n'a été réalisé. Par conséquent, pour le moment, le choix du modèle est laissé à la discrétion de l'opérateur. Lors du choix, il convient de prendre en compte des considérations pratiques telles que le coût des récipients d'essai ainsi que la quantité de déchets produite.

5 Réactifs et matériaux

5.1 Substance de référence acide borique, recommandé. H_3BO_3 est utilisé depuis longtemps comme chimio-stérilisant des sols et constitue un biocide efficace, non sélectif (masse molaire: 61,81 g). Les vers de terre sont capables de détecter et d'éviter des concentrations sublétales nocives pour la reproduction. L'acide borique répond aux critères suivants, attestant de son aptitude en tant que substance de référence:

- a) il est efficace à des concentrations relativement faibles, peu dépendantes de la nature du substrat;
- b) il est relativement stable et persistant, de sorte que les concentrations ne varient pas rapidement au cours de l'essai;
- c) il est relativement hydrosoluble ou miscible dans l'eau, n'est pas facilement volatil et se mélange bien avec les sols;
- d) il existe une méthode normalisée de mesurage des concentrations d'acide borique dans le sol;
- e) il représente un risque mineur pour les techniciens et ne présente aucun problème en terme d'élimination.

5.2 Matériel biologique, constitué de vers de terre adultes de l'espèce *Eisenia fetida* ou *Eisenia andrei* (masse individuelle comprise entre 300 mg et 600 mg). La synchronisation de l'élevage des organismes est inutile dans le cadre de cet essai. L'Annexe B donne un exemple de technique d'élevage des vers de compost.

Conditionner les vers sélectionnés pendant au moins une journée dans le sol témoin choisi (5.4).

NOTE Les espèces *Eisenia fetida* et *Eisenia andrei* sont des vers de compost. D'un point de vue écologique, ces espèces ne sont pas les plus importantes présentes dans les sols (Référence [7]). D'un point de vue pratique en revanche, les vers de compost sont bien plus adaptés que toutes les autres espèces de lombricidés en raison de leur rapidité et de leur facilité de reproduction en laboratoire (possibilité d'élevage de masse). De plus, la sensibilité de ces espèces est plus ou moins du même ordre de grandeur que celle des autres espèces de vers de terre. Dans la plupart des cas, les différences entre les espèces – selon le produit chimique ou le mélange de contaminant soumis à essai – sont inférieures ou égales à un facteur 10 lors des essais de toxicité aiguë et chronique (Références [6], [7]). Malgré le fait que d'autres espèces de vers de terre ont déjà été utilisées avec succès dans des essais d'évitement (voir l'Annexe C), un facteur décrivant l'étendue de leur réaction d'évitement n'est pas encore connu.

5.3 Substrat d'essai. Il convient de tamiser (dimension nominale d'ouvertures, 2 mm) le sol soumis à essai, puis d'ajuster sa teneur en eau pour atteindre environ 60 % de la capacité maximale de rétention d'eau. La teneur en eau optimale est obtenue lorsqu'il n'y a plus d'eau visible ou d'eau qui apparaît quand le sol est comprimé.

NOTE Dans le cas de sols très limoneux ou argileux, il est parfois difficile d'obtenir une quantité suffisante de sol tamisé à une valeur ≤ 2 mm pour un temps de travail acceptable. Les mailles du tamis peuvent se boucher en quelques minutes. Un nettoyage fréquent est nécessaire. Dans ce cas, il est acceptable de tamiser la quantité de sol requise pour l'essai à une valeur ≤ 4 mm.

Immédiatement avant le début de l'essai, déterminer la teneur en eau et le pH en présence de KCl à 1 mol/l, conformément respectivement à l'ISO 11465 et à l'ISO 10390. De plus, la capacité maximale de rétention d'eau doit être déterminée conformément à l'Annexe F.

5.4 Sol témoin: il existe trois possibilités de choix (voir également l'ISO 15799). L'option a), est recommandée mais, dans la mesure où un tel sol n'est que rarement disponible, soit un sol standard, b), soit un sol artificiel, c), est acceptable (les influences possibles de ces sols sont couvertes par le critère d'évaluation de 80 % (voir l'Article 8).

- a) Sol témoin dont les caractéristiques sont identiques au sol soumis à essai, si ce n'est la présence de contaminants;

- b) Sol dont les caractéristiques sont conformes à l'ISO 11269-2 [$C_{org} \leq 1,5 \%$, teneur en sable (0,063 mm à 2 mm) de 50 % à 75 %, teneur en particules inférieures à 0,02 mm < 20 %, pH de 5 à 7,5];
- c) Sol artificiel conforme à l'ISO 11268-2.

Il convient de tamiser les sols naturels et d'ajuster la teneur en eau conformément à 5.3.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et en particulier ce qui suit.

6.1 Récipients (voir l'Annexe A).

6.1.1 Récipient à deux compartiments: récipients de 1 l à 2 l de contenance, dont la section représente une surface d'environ 0,02 m², permettant ainsi d'atteindre une profondeur de sol de 50 mm à 60 mm.

Les récipients d'essai doivent permettre l'échange gazeux entre le milieu et l'atmosphère ainsi que le passage de la lumière (par exemple, au moyen d'un couvercle transparent perforé) et doivent être munis de dispositifs empêchant les vers de s'échapper (par exemple, en fixant le couvercle à l'aide de ruban adhésif). Afin d'éviter les effets latéraux de la lumière, les récipients en verre doivent être recouverts.

Des récipients à deux compartiments sont disponibles dans le commerce¹⁾.

NOTE En raison de la courte durée de l'essai et, proportionnellement, du volume important de sol dans les récipients, la diminution de la concentration en produit chimique dans le sol due à la sorption par les parois du récipient est négligeable. Néanmoins, l'utilisation de matériaux inertes (comme le verre ou l'acier inoxydable) est préférable.

6.1.2 Récipient à six compartiments (récipients d'essai circulaires ou autres récipients):

- a) acier inoxydable pour l'essai du sol contaminé par des composés organiques;
- b) plastique (matériau inerte haute densité) pour l'essai du sol contaminé par des métaux ou des composés métalliques.

Le récipient d'essai circulaire comporte une cavité centrale divisée en six compartiments disposés en «camembert», dans lesquels le sol est placé. Des trous à la base des parois des compartiments (trois sur chaque côté) et de la cavité centrale (deux sur chaque côté) permettent aux vers de se déplacer librement d'un compartiment à l'autre. Il convient d'envelopper le récipient d'essai en plastique d'un matériau opaque (papier d'aluminium) afin d'empêcher le passage de la lumière. Des dispositifs empêchant les vers de s'échapper sont nécessaires.

Le récipient à six compartiments n'est pas disponible dans le commerce. De ce fait, tous les détails nécessaires pour fabriquer de tels récipients sont présentés dans les figures et dans le corps du texte.

6.2 Cloison (par exemple, plastique ou fine tôle métallique):

- a) pour le récipient à deux compartiments, afin de diviser le récipient verticalement en deux parties égales;
- b) pour le récipient à six compartiments, à placer le long des parois des compartiments à la fin de l'essai, afin d'isoler chaque section.

6.3 Appareil de mesure de la teneur en eau d'un substrat (conformément à l'ISO 11465).

1) Bellaplast N°507 est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 17512 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

6.4 Environnement de l'essai.

6.4.1 Enceinte ou chambre climatique, dont la température peut être maintenue à (20 ± 2) °C.

6.4.2 Source lumineuse, pouvant fournir une intensité lumineuse constante de 400 lx à 800 lx au niveau des récipients avec un cycle de lumière/obscurité contrôlé compris entre 12 h/12 h et 16 h/8 h.

NOTE Un cycle jour/nuit a été choisi pour que les conditions soient comparables à l'essai aigu et à l'essai de reproduction.

7 Mode opératoire

7.1 Gamme de concentrations adaptée

L'essai d'évitement est destiné à déterminer les effets sublétaux. C'est pourquoi, l'essai est invalide si un ou plusieurs vers par récipient (c'est-à-dire 1 sur 10) sont morts ou manquants à la fin de l'essai (voir 7.5). Il est recommandé de réaliser un essai préliminaire afin d'éviter la mortalité.

7.2 Essai sur sols

7.2.1 Récipient à deux compartiments

Au début de l'essai, les récipients (6.1.1) sont divisés en deux compartiments égaux au moyen d'une cloison introduite verticalement. Les récipients sont remplis de sol tamisé sur une hauteur d'environ 50 mm à 60 mm. Une moitié du récipient est remplie avec le sol pour essai (compartiment A) et l'autre moitié est remplie avec le sol témoin (compartiment B). La cloison est ensuite retirée et 10 vers sont placés sur la ligne de séparation de chaque récipient d'essai (à partir de là, ils ont la possibilité de s'enterrer rapidement dans le sol en passant par la fente laissée par la cloison). Les récipients sont couverts conformément à 6.1.1 et placés dans l'enceinte climatique ou dans l'enceinte d'essai (6.4.1).

Il est inutile de nourrir les animaux au cours de l'essai.

L'essai est réalisé avec cinq réplicats par traitement (sols soumis à essai, sols témoins ou substance de référence). Pour obtenir une quantification plus précise de l'effet comportemental, il est possible de préparer une gamme de dilutions. Il convient d'utiliser le sol témoin pour diluer le sol contaminé.

À la fin de la période d'essai (48 h), le sol témoin est séparé du sol soumis à essai dans chaque récipient à l'aide de cloisons. Les cloisons doivent être introduites avant de retirer les récipients d'essai de l'enceinte climatique. Le nombre de vers est déterminé dans chacun des deux compartiments des récipients. Les vers coupés en deux lors de l'introduction de la cloison comptent pour 0,5, indépendamment de la longueur de la section restante du corps. Les vers manquants sont considérés soit comme s'étant échappés du récipient d'essai, soit comme étant morts ou s'étant désintégré au cours de l'essai (voir 7.1).

7.2.2 Récipient à six compartiments

Le sol soumis à essai et le sol témoin sont préparés (tamisés, hydratés et mélangés) et placés sur une hauteur de 50 mm à 60 mm (350 ml de sol), alternativement, dans trois compartiments chacun (par exemple, les compartiments 1, 3 et 5 contiennent le sol soumis à essai et les compartiments 2, 4 et 6 contiennent le sol témoin) (voir également l'Annexe E). La cavité centrale reste vide. Placer 10 vers, un par un, dans la cavité centrale et noter le compartiment dans lequel chacun d'entre eux pénètre. Les récipients sont couverts (6.1.2) et placés dans une enceinte climatique (6.4.1).

Il est inutile de nourrir les animaux au cours de l'essai.

L'essai est réalisé avec cinq réplicats dans le cas d'un essai à une seule concentration et au moins avec des duplicats dans le cas d'un essai à plusieurs concentrations. Pour les essais à plusieurs concentrations, le sol soumis à essai est constitué du sol du site dilué avec le sol témoin approprié.

À la fin de la période d'essai (48 h), les cloisons sont positionnées afin d'empêcher tout déplacement des vers de terre d'un compartiment à l'autre. Les cloisons doivent être introduites avant de retirer les récipients de l'enceinte climatique. Le nombre de vers dans chaque compartiment est enregistré et le nombre total de vers est déterminé pour chaque condition d'essai, dans chaque récipient d'essai. Les vers coupés en deux par inadvertance lors de l'introduction des cloisons comptent pour 0,5, indépendamment de la longueur de la section restante du corps. Les vers manquants sont considérés soit comme s'étant échappés du récipient d'essai, soit comme étant morts ou s'étant désintégré au cours de l'essai (voir 7.1).

NOTE L'essai est fondé sur l'hypothèse qu'au début de l'essai, la répartition des vers dans les différents compartiments est aléatoire et qu'à la fin de l'essai, pour une réelle réaction d'évitement, la répartition des vers dans les compartiments du récipient n'est plus aléatoire. Si, au début de l'essai, la répartition des vers n'est pas aléatoire, il est possible de n'obtenir aucune réaction d'évitement. En revanche, il est également possible d'obtenir une réaction d'évitement dès le début de l'essai si les vers refusent immédiatement de pénétrer dans les compartiments contenant du sol contaminé. Cela se produit rarement dans le cas de concentrations sublétales.

7.3 Essai de produit chimique

Même si les essais d'évitement servent principalement à tester les sols potentiellement contaminés, le présent essai peut être utilisé également pour évaluer les effets de produits chimiques seuls après ajout dans le sol. (l'Annexe D donne des exemples de produits chimiques détectés par les vers de terre). L'Annexe E spécifie les modifications requises pour tester des produits chimiques seuls (y compris les procédures statistiques).

7.4 Substance de référence

L'acide borique est la substance de référence recommandée. Avec un sol artificiel ou un autre sol témoin, il convient d'obtenir un comportement d'évitement à une concentration de 750 mg d' H_3BO_3 par kilogramme de sol (poids sec). Un essai réalisé par le laboratoire de toxicologie du sol de l'Environnement Canada a conduit à une CE_{50} de 618 mg/kg pour l'acide borique lors de l'étude du comportement d'évitement dans un récipient d'essai à six compartiments avec un sol témoin limono-argileux (chernozem) dopé à l'acide borique (Référence [8]). Accompagner les valeurs CE_{50} enregistrées par l'indication des principales propriétés du sol (c'est-à-dire le pH, la texture et la teneur en matières organiques).

7.5 Critères de validité

L'essai est invalide si le nombre de vers morts ou manquants par traitement est $> 10 \%$.

Afin de valider le dispositif expérimental, vérifier la répartition homogène des vers. Pour ce faire, remplir l'ensemble du récipient d'essai du même sol et faire en sorte d'orienter tous les récipients d'essai de la même manière dans la pièce. En moyenne, il convient que le nombre de vers soit dans un rapport 60 % : 40 %. L'Annexe I fournit plus d'informations concernant la répartition des vers lors de tels essais en double utilisant différents sols.

8 Calcul et expression des résultats

La moyenne \pm l'écart-type du nombre d'individus vivants dans le sol soumis à essai est déterminée pour chaque traitement à la fin de l'essai. Dans le cas d'essais réalisés dans des récipients à deux ou à six compartiments, les résultats sont présentés en nombre d'individus dans le sol soumis à essai, par récipient d'essai.

Si le sol soumis à essai et le sol témoin diffèrent uniquement en terme de contamination, les calculs statistiques peuvent être effectués de la façon suivante.

Dans le cas d'un essai avec une concentration unique, le nombre moyen d'individus présents au moins à la fin de l'essai dans le sol soumis à essai est comparé à la moyenne du sol témoin à l'aide d'un test exact de Fisher ou d'une autre méthode statistique adaptée de comparaison appariée [Référence 15]. Les résultats présentant un nombre moyen de vers survivants nettement inférieur dans le sol soumis à essai par rapport à