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

Partie 2:

**Essai avec des collemboles (*Folsomia
candida*)
(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/11ba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011>
Part 2: Test with collembolans (*Folsomia candida*)



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 17512-2:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2011

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	2
5 Réactifs et matériels	3
6 Appareillage	4
7 Mode opératoire	5
7.1 Gamme de concentrations/dilutions adaptée.....	5
7.2 Essais sur sols.....	5
7.3 Substance de référence.....	5
7.4 Critères de validité.....	6
8 Calcul et expression des résultats	6
8.1 Généralités.....	6
8.2 Calcul du pourcentage d'évitement.....	6
8.3 Calcul de la CSEO/CMEO.....	6
8.4 Calcul de CE _y	7
9 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Techniques d'élevage des collemboles	8
Annexe B (informative) Chambres d'essai	10
Annexe C (normative) Application des essais d'évitement aux produits chimiques	11
Annexe D (normative) Détermination de la capacité de rétention d'eau	14
Bibliographie	15

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

La tâche principale des comités techniques consiste à élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Norme internationale 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 17512-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Caractérisation biologique*.

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)*

— *Partie 2: Essai avec des collemboles (Folsomia candida)*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 17512-2:2011
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011

Introduction

L'utilisation du comportement d'évitement des invertébrés du sol comme indicateur de conditions défavorables permet une évaluation préliminaire des sols pollués sur une courte période, avec un haut niveau de sensibilité. Rapides, économiques et pertinents du point de vue écologique, les essais d'évitement avec des vers de terre ont été proposés en complément d'une analyse chimique conventionnelle. Les essais biologiques d'évitement peuvent être utilisés à l'appui des résultats obtenus lors des essais chroniques et servir de premier outil de criblage pour l'évaluation de la fonction d'habitat des sols. Compte tenu du fait que la réaction d'évitement des invertébrés du sol diffère entre les espèces en raison de leur sensibilité distincte aux polluants et aux modes d'exposition, il est recommandé de normaliser un second essai biologique d'évitement rapide, économique et écologiquement pertinent.

Comparés aux vers de terre, les collemboles présentent une sensibilité distincte vis-à-vis de plusieurs polluants, et permettent de compléter les informations obtenues lors des essais d'évitement avec des vers de terre^{[1][2]}. Jusqu'à présent, *Folsomia candida* a été l'espèce d'essai de collembole la plus souvent utilisée en raison de la grande facilité de conservation des cultures en laboratoire et de leur haute capacité locomotrice^[3]. *Folsomia candida* est considérée comme une espèce hémi-édaphique, ce qui signifie qu'elle vit principalement dans le sol. Par ailleurs, cette espèce est déjà utilisée dans l'ISO 11267.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 17512-2:2011](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 17512-2:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011>

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

Partie 2:

Essai avec des collemboles (*Folsomia candida*)

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 17512 spécifie une méthode de criblage rapide permettant d'évaluer la fonction d'habitat des sols sur la base du comportement d'évitement des collemboles.

Cet essai correspond à une méthode rapide qui reflète la biodisponibilité des polluants dans les sols naturels et des substances introduites dans le sol vis-à-vis de *Folsomia candida*. Dans les deux cas, il est possible d'établir une relation dose-réponse. Le comportement d'évitement des collemboles constitue le critère d'effet de cet essai. Cet essai n'est pas destiné à remplacer l'essai de reproduction des collemboles.

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*
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d35/iso-17512-2-2011>

ISO 11267:1999, *Qualité du sol — Inhibition de la reproduction de Collembola (*Folsomia candida*) par des contaminants du sol*

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 sols contaminés 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

[SOURCE: ISO 17512-1:2008]

3.2

sol soumis à essai

sol propre, naturel ou artificiel, dans lequel la substance d'essai ou un sol naturel pollué (sol du site) est introduit

3.3

sol témoin

sol non pollué, naturel ou artificiel

3.4

fonction d'habitat limitée

la fonction d'habitat est limitée si, en moyenne, > 70 % des collemboles sont trouvés dans le sol témoin (indication d'un effet sur le comportement) après que le choix entre le sol témoin et le sol soumis à essai leur ait été laissé

3.5

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]

Note 1 à l'article: Dans la présente partie de l'ISO 17512-2, CE_{50} désigne la concentration d'une substance d'essai, ou une dilution d'un sol pollué soumis à essai, qui est considérée comme étant à l'origine d'une réaction d'évitement de 50 %.

EXEMPLE Un évitement de 50 % se produit lorsque le nombre de collemboles dans le sol soumis à essai représente 50 % du nombre qu'il convient d'avoir en cas d'absence d'évitement: aucun évitement (sol témoin = 10 individus; sol soumis à essai = 10 individus); 50 % d'évitement (sol témoin = 15 individus; sol soumis à essai = 5 individus).

3.6

concentration minimale avec effet observé

CME0

plus faible concentration soumise à essai d'une substance d'essai, ou dilution d'un sol pollué soumis à essai, à laquelle est observée une réaction d'évitement statistiquement significative ($p \leq 0,05$)

Note 1 à l'article: Dans le cas d'une substance d'essai, la concentration est exprimée en masse de substance d'essai par masse sèche de substrat d'essai; dans le cas d'un sol pollué soumis à essai, elle est exprimée en pourcentage de dilution du sol soumis à essai.

Note 2 à l'article: Il convient que toutes les concentrations/dilutions soumises à essai supérieures à la CME0 aient un effet nocif supérieur ou égal à ceux observés à la CME0. Lorsque cette condition n'est pas satisfaite, il est recommandé d'expliquer dans le détail la façon dont la CME0 (et par conséquent la CSEO) a été sélectionnée.

3.7

concentration sans effet observé

CSEO

concentration d'essai/dilution soumise à essai juste au-dessous de la CME0, qui entraîne une réaction d'évitement statistiquement non significative ($p > 0,05$)

4 Principe

Des collemboles (*Folsomia candida*) sont exposés simultanément au sol témoin et au sol soumis à essai. Ces sols sont placés dans les deux compartiments du même récipient. Après une période d'incubation de deux jours, le nombre de collemboles présents dans chaque compartiment des récipients est déterminé.

5 Réactifs et matériels

5.1 Matériel biologique. Il convient d'utiliser uniquement des collemboles de l'espèce *Folsomia candida* (Willem) (voir A.2.6) issue de cultures synchronisées.

NOTE En général, des collemboles âgés de 10 jours à 12 jours peuvent être utilisés pour cet essai (ou sinon des collemboles adultes, par exemple âgés de 20 jours à 22 jours).

5.2 Substrat d'essai. Dans le cas d'un sol naturel, il convient de tamiser (2 mm) le substrat à soumettre à essai et d'ajuster le taux d'humidité pour atteindre environ 40 % à 60 % de la capacité maximale de rétention d'eau. S'il n'y a plus d'eau visible ou d'eau qui apparaît lorsque le sol est comprimé avant d'atteindre le pourcentage souhaité de CRE maximale, un pourcentage moins élevé peut être utilisé. 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 ≤ 5 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 D](#).

Si l'essai porte sur une substance, il convient d'appliquer un autre mode opératoire (voir l'[Annexe C](#)).

5.3 Sol témoin. Deux choix sont possibles (voir également l'ISO 15799): a) soit un sol de référence, b) soit un sol standard qui permet la présence de collemboles.

- a) Si des sols de référence issus de zones non polluées proches d'un site pollué sont disponibles, il convient de les traiter et de les caractériser comme les sols soumis à essai. S'il est impossible d'exclure une pollution toxique ou des propriétés inhabituelles du sol, il est recommandé de privilégier des sols témoins standards.
- b) Pour les essais portant sur les effets de substances mélangées dans le sol ou pour les dilutions du sol soumis à essai, des sols standards (LUF 2.2, par exemple) doivent être utilisés en tant que substrat d'essai. Les propriétés d'un sol standard prélevé sur le terrain doivent être consignées dans le rapport d'essai.

Le substrat qualifié de sol artificiel peut être utilisé en tant que sol standard et présente la composition suivante:

	Pourcentage exprimé sur la base de la masse sèche
— Tourbe de sphaigne finement broyée et sans résidus végétaux apparents	10 %
— Argile kaolinique contenant au moins 30 % de kaolinite	20 %
— Sable de quartz industriel (principalement du sable fin dont plus de 50 % des particules ont une taille comprise entre 0,05 mm et 0,2 mm)	69 %

Ajouter environ 0,3 % à 1,0 % de carbonate de calcium (CaCO_3 , pulvérisé, de qualité analytique) pour obtenir un pH de $6,0 \pm 0,5$.

Il convient de tamiser le sol naturel et d'ajuster la teneur en eau conformément à [5.2](#).

5.4 Substance de référence, dont le seul ingrédient actif est le phenmédiphame.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et ce qui suit. [ISO 17512-2:2011](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1bba0478-76dc-474b-a516-b3917d186d33/iso-17512-2-2011>

6.1 Récipients (voir l'[Annexe B](#)).

Récipients cylindriques de 200 ml à 300 ml de contenance, dont la section représente une surface d'environ 50 cm², permettant ainsi d'atteindre une profondeur de sol de 3 cm à 4 cm.

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 collemboles de s'échapper (par exemple, en fixant le couvercle à l'aide de ruban adhésif). Pour éviter les effets latéraux de la lumière, il convient que les récipients d'essai soient constitués d'un matériau opaque; sinon, il est recommandé de les envelopper dans un film d'aluminium.

NOTE En raison de la courte durée de l'essai et, proportionnellement, du volume important de sol dans les récipients (compte tenu de la faible quantité de sol requise par les collemboles), la diminution de la concentration en produit chimique dans le sol due à la sorption par les parois du récipient est négligeable. Par conséquent, des récipients en plastique peuvent être utilisés, bien que l'emploi d'un matériau inerte (verre ou acier inoxydable, par exemple) soit préféré lorsque ce type de matériau est disponible.

6.2 Cloison, en plastique ou en fine tôle métallique. Elle doit diviser verticalement les récipients d'essai en deux compartiments identiques.

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

6.4 Appareil de mesure du pH du substrat.

6.5 Appareil d'aspiration, pour transférer les collemboles (voir [A.3](#)).

6.6 Environnement d'essai.

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

6.6.2 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.

7 Mode opératoire

7.1 Gamme de concentrations/dilutions adaptée

L'essai d'évitement est destiné à déterminer les effets sublétaux. Par conséquent, l'essai est invalide si plus de 20 % du nombre total de collemboles sont morts ou manquants à la fin de l'essai (voir 7.4). Afin d'éviter la mortalité, il est recommandé de réaliser un essai préliminaire dans les cas où les essais portent sur une substance ou un gradient de dilution d'un sol naturel pollué.

7.2 Essais sur sols

Au début de l'essai, les récipients (6.1) sont divisés en deux compartiments égaux au moyen d'une cloison (6.2) introduite verticalement. Les récipients sont remplis de sol tamisé sur une hauteur de 3 cm à 4 cm (± 30 g de masse humide par côté; le sol est fraîchement humidifié et il convient de ne pas le comprimer). Une moitié du récipient est remplie avec le sol soumis à essai (compartiment A) et l'autre moitié est remplie avec le sol témoin (compartiment B). La cloison est ensuite retirée et 20 collemboles sont placés sur la ligne de séparation des deux sols de chaque récipient d'essai. Les récipients sont couverts conformément à 6.1 et placés dans la chambre climatique ou dans l'enceinte (6.6.1).

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

L'essai est réalisé avec cinq réplicats. Pour faciliter le contrôle du pH et de l'humidité des substrats d'essai à la fin de l'essai, il est recommandé d'utiliser un récipient supplémentaire sans animaux pour chaque combinaison soumise à essai. Pour obtenir une quantification plus précise de l'effet comportemental, il est admis de préparer une gamme de dilutions. Il convient d'utiliser le sol témoin pour diluer le sol pollué.

À la fin de l'essai (48 h), le sol témoin est séparé du sol soumis à essai dans chaque récipient à l'aide de la cloison. La cloison doit être introduite avant de retirer les récipients de la chambre climatique. Un compartiment du récipient d'essai est vidé (tour à tour le compartiment du sol témoin et celui du sol soumis à essai afin d'éviter les erreurs systématiques) dans un petit récipient, puis la cloison est retirée. Une fois séparés, les deux sols sont inondés d'eau et, après l'ajout de quelques gouttes d'encre et agitation en douceur à l'aide d'une spatule, les animaux flottant à la surface de l'eau sont comptés. Les collemboles manquants sont considérés comme des organismes morts.

NOTE Bien que plusieurs études aient révélé que *Folsomia candida* puisse avoir une réaction d'évitement avant 48 h d'exposition pour certaines substances^{[4][5][6]}, l'utilisation de la durée d'essai de 48 h pour les essais d'évitement avec des collemboles est toujours recommandée.

7.3 Substance de référence

Il est recommandé d'utiliser les substances dont le seul ingrédient actif (5.4) est le phenmédiphame comme substances toxiques de référence pour cet essai, dans le cadre d'un traitement témoin positif. Les collemboles sont capables de détecter et d'éviter des concentrations sublétales nocives pour la reproduction^{[4][7]}. Lorsqu'un sol artificiel est utilisé^[2], il convient d'obtenir un comportement d'évitement significatif (voir l'Article 8) dans une plage de 5 mg à 20 mg de substances toxiques de référence (5.4) par kilogramme de sol mesuré sur la base de la masse sèche.

L'acide borique peut également être utilisé en tant que substance de référence. Lorsqu'un sol artificiel est utilisé^[10], il convient d'obtenir un comportement d'évitement significatif (voir l'Article 8) dans une plage de 700 mg à 2 800 mg d'acide borique par kilogramme de sol mesuré sur la base de la masse sèche.