
**Qualité du sol — Effets des
contaminants sur les *Enchytraeidae*
(*Enchytraeus* sp.) — Détermination
des effets sur la survie et la
reproduction**

*Soil quality — Effects of contaminants on Enchytraeidae
(Enchytraeus sp.) — Determination of effects on reproduction*
(standards.iteh.ai)

[ISO 16387:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/166234b8-26a9-48d0-8ff4-c55a275744e8/iso-16387-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/166234b8-26a9-48d0-8ff4-c55a275744e8/iso-16387-2014>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16387:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/166234b8-26a9-48d0-8ff4-c55a275744e8/iso-16387-2014>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2014

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées 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 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	3
5 Réactifs et matériel	4
6 Appareillage	6
7 Environnement d'essai	7
8 Mode opératoire	7
8.1 Dispositif expérimental.....	7
8.2 Préparation des mélanges d'essai.....	8
8.3 Ajout du matériel biologique.....	10
8.4 Conditions d'essai et mesurages.....	10
8.5 Substance de référence.....	10
9 Calcul et expression des résultats	10
9.1 Calcul.....	10
9.2 Expression des résultats.....	11
10 Validité de l'essai	11
11 Analyse statistique	11
11.1 Généralités.....	11
11.2 Essai préliminaire.....	11
11.3 Essai définitif.....	11
12 Rapport d'essai	12
Annexe A (informative) Conditions de culture d'<i>Enchytraeus</i> sp	14
Annexe B (informative) Mode opératoire d'essais menés avec d'autres espèces du genre <i>Enchytraeus</i>	16
Annexe C (informative) Détermination de la capacité maximale de rétention d'eau	18
Annexe D (informative) Description détaillée des techniques d'extraction	19
Annexe E (informative) Présentation de l'évaluation statistique des données (détermination de la CSEO)	20
Bibliographie	21

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 procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/CEI, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou sur la liste ISO des déclarations de brevets reçus (voir www.iso.org/brevets).

Les éventuelles appellations commerciales utilisées dans le présent document sont données pour information à l'intention des utilisateurs et ne constituent pas une approbation ou une recommandation.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, aussi bien que pour des informations au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC) voir le lien suivant: Avant-propos — Informations supplémentaires. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/166234b8-26a9-48d0-8ff4-c55e275744e8/iso-16387-2014>

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 16387:2004), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Introduction

Les systèmes d'essais écotoxicologiques sont mis en œuvre pour obtenir des informations sur les effets des contaminants du sol et sont proposés en complément des analyses chimiques conventionnelles. L'ISO 15799 comporte une liste ainsi qu'une brève caractérisation des systèmes d'essais recommandés et normalisés. Les systèmes d'essais aquatiques mis en œuvre sur éluat de sol sont utilisés pour obtenir 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. Concernant les seconds, un système d'essai normalisé utilisant des Enchytraeidae (un essai chronique prenant la reproduction comme critère d'effet) est proposé.

La présente Norme internationale décrit une méthode basée sur la détermination des effets aigus et sublétaux des sols contaminés sur les Enchytraeidae adultes du genre *Enchytraeus*. La méthode peut éventuellement être utilisée pour évaluer le potentiel toxique subléthal sur les Enchytraeidae de substances ajoutées à un sol standard (par exemple un sol artificiel).

Les annélides du genre *Enchytraeus* vivant dans le sol sont pertinents sur le plan écologique, car ils abondent dans un grand nombre de sols pauvres en vers de terre; cependant, ils peuvent également atteindre de fortes densités de population dans des sols largement peuplés de vers de terre. Les Enchytraeidae se prêtent à des essais en laboratoire ainsi qu'à des études en conditions semi-contrôlées et à des études *in situ*. D'un point de vue pratique, de nombreuses espèces d'*Enchytraeus* sont faciles à manipuler et à élever et leur temps de génération est nettement plus court que celui des vers de terre [la durée des essais de reproduction des Enchytraeidae est de quatre à six semaines, contre huit semaines (12 semaines en incluant la synchronisation) pour les vers de terre]. De plus, le volume de sol nécessaire pour les essais menés sur les Enchytraeidae est nettement inférieur au volume nécessaire pour les essais sur les vers de terre.

(standards.iteh.ai)

La présente Norme internationale a été rédigée en tenant compte des modes opératoires d'essai recommandés par l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) (voir [22], [24]).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/166234b8-26a9-48d0-8ff4-c55a275744e8/iso-16387-2014>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16387:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/166234b8-26a9-48d0-8ff4-c55a275744e8/iso-16387-2014>

Qualité du sol — Effets des contaminants sur les *Enchytraeidae* (*Enchytraeus* sp.) — Détermination des effets sur la survie et la reproduction

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie l'une des méthodes permettant d'évaluer la fonction d'habitat des sols et de déterminer les effets des contaminants et des substances du sol sur la reproduction d'*Enchytraeus* sp. par absorption cutanée et ingestion au cours d'un essai chronique. Elle est applicable aux sols et aux matériaux de type sol de qualité inconnue provenant, par exemple, de sites contaminés, de sols amendés, de sols après remédiation, de sols agricoles ou d'autres sites d'intérêt, et de déchets.

Les effets des substances sont évalués à l'aide d'un sol standard, de préférence un substrat de sol artificiel défini. Pour les sols contaminés, les effets sont déterminés dans le sol soumis à essai et dans un sol témoin. Selon l'objectif de l'étude, il convient que les substrats témoin et de dilution (gamme de dilutions d'un sol contaminé) soient un sol non contaminé comparable au soumis à essai (sol de référence) ou un sol standard (par exemple, sol artificiel).

La présente Norme internationale fournit des informations sur la manière d'utiliser cette méthode pour évaluer des substances en conditions tempérées.

Cette méthode ne s'applique pas aux substances volatiles, c'est-à-dire aux substances pour lesquelles H (constante de Henry) ou le coefficient de partage air/eau est supérieur à 1, ou pour lesquelles la pression de vapeur à 25 °C est supérieure à 0,013 3 Pa.

NOTE La méthode d'essai ne contient aucune disposition permettant de surveiller la persistance de la substance soumise à essai.

2 Références normatives

Les documents suivants, en totalité ou en partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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 10381-6, *Qualité du sol — Échantillonnage — Partie 6: Lignes directrices pour la collecte, la manipulation et la conservation, dans des conditions aérobies, de sols destinés à l'évaluation en laboratoire des processus, de la biomasse et de la diversité microbiens*

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

ISO 10694, *Qualité du sol — Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire)*

ISO 11260, *Qualité du sol — Détermination de la capacité d'échange cationique effective et du taux de saturation en bases échangeables à l'aide d'une solution de chlorure de baryum*

ISO 11277, *Qualité du sol — Détermination de la répartition granulométrique de la matière minérale des sols — Méthode par tamisage et sédimentation*

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

3 Termes et définitions

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

3.1 reproduction

nombre moyen de jeunes produits par récipient d'essai après incubation dans les conditions d'essai spécifiées

Note 1 à l'article: La période d'essai d'évaluation de la reproduction (essai définitif) est de six semaines.

Note 2 à l'article: Jeunes produits = jeunes Enchytraeidae éclos.

3.2 taux de reproduction

nombre moyen de jeunes produits par un certain nombre d'adultes au cours de la période d'essai

Note 1 à l'article: La période d'essai d'évaluation de la reproduction (essai définitif) est de six semaines.

Note 2 à l'article: Jeunes produits = jeunes Enchytraeidae éclos.

3.3 CEx

concentration efficace à x %

concentration (fraction massique) d'une substance soumise à essai qui, par rapport à un témoin, engendre x % d'un effet sur un critère d'effet donné pendant une période d'exposition définie

EXEMPLE CE50 est une concentration dont on estime qu'elle provoque un effet sur un critère d'effet faisant l'objet d'un essai chez 50 % d'une population exposée sur une période d'exposition définie.

Note 1 à l'article: La CEx est exprimée en pourcentage du sol soumis à essai (masse sèche) par mélange de sols (masse sèche). Lorsque des substances sont soumises à essai, la CEx est exprimée en masse de la substance soumise à essai par masse sèche de sol, en milligrammes par kilogramme.

3.4 CME0

concentration minimale avec effet observé

plus faible concentration de substance soumise à essai ayant un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$)

Note 1 à l'article: Dans le présent essai, la CME0 est exprimée en masse de substance soumise à essai par masse sèche du sol soumis à essai. Il convient que toutes les concentrations d'essai supérieures à la CME0 aient généralement un effet statistiquement différent du témoin.

3.5 CSEO

concentration sans effet observé

plus haute concentration de substance soumise à essai immédiatement inférieure à la CME0, à laquelle aucun effet n'est observé

Note 1 à l'article: Dans le présent essai, la concentration correspondant à la CSEO n'a pas d'effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) par rapport au témoin au cours d'une période d'exposition définie.

3.6 mélange d'essai

mélange de sol contaminé ou de substance soumise à essai (par exemple substance chimique, biosolides, déchets) et de sol témoin

3.7 rapport du mélange d'essai

rapport entre le sol soumis à essai et le sol témoin dans un mélange d'essai

3.8**contaminant**

substance ou agent présent dans le sol du fait de l'activité humaine

3.9**sol de référence**

sol non contaminé possédant des propriétés pédologiques similaires (concentrations en éléments nutritifs, pH, teneur en carbone organique et texture) à celles du sol analysé

3.10**sol standard**

sol prélevé sur le terrain ou sol artificiel dont les propriétés principales (pH, texture, teneur en matières organiques) se situent dans une gamme connue

EXEMPLE Sols Euro, sol artificiel, sol standard LUFA.

Note 1 à l'article: Les propriétés des sols standard peuvent être différentes de celles du sol soumis à essai.

3.11**sol témoin**

sol de référence ou sol standard satisfaisant aux critères de validité, et utilisé comme témoin et comme milieu de préparation des gammes de dilutions avec les sols soumis à essai ou avec une substance de référence

Note 1 à l'article: Dans le cas d'un sol naturel, il est conseillé de démontrer son aptitude à l'essai et sa capacité à satisfaire aux critères de validité de l'essai avant de l'utiliser dans un essai définitif.

iteh STANDARD PREVIEW

4 Principe

(standards.iteh.ai)

Les effets sur la survie et la reproduction d'Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.) adultes exposés à une gamme de dilutions d'un sol contaminé ou à une gamme de concentrations d'une substance soumise à essai sont déterminés. Les mélanges d'essai sont préparés au début de l'essai et ne sont pas renouvelés au cours de la période d'essai.

L'essai peut être scindé en deux étapes distinctes: un essai de courte durée (deux semaines), au cours duquel la gamme de concentrations entraînant des effets toxiques (principalement la mortalité) est déterminée, et un essai définitif à long terme (six semaines), au cours duquel la survie des vers adultes et la fécondité (nombre de jeunes) sont mesurées. Les résultats obtenus lors des essais sont comparés à ceux obtenus avec un témoin et utilisés pour déterminer les dilutions ou les concentrations qui ne provoquent pas d'effet sur la survie et la reproduction (CSEO) et la concentration (dilution) qui entraîne une réduction de x % du nombre de jeunes éclos des cocons par rapport au témoin (CEx, 42 j).

Toutes les dilutions/concentrations d'essai supérieures à la CME0 ont un effet nocif égal ou supérieur à celui observé à la CME0. Lorsque la dilution/concentration à laquelle la substance soumise à essai est susceptible de produire un effet n'est pas connue au préalable, il est utile de réaliser l'essai en deux étapes:

- un essai de toxicité aiguë (essai préliminaire), pour obtenir une indication de la dilution/concentration produisant un effet et de la dilution/concentration n'entraînant pas de mortalité (CSEO). Les dilutions/concentrations à utiliser pour l'essai définitif peuvent ensuite être choisies;
- l'essai définitif sur la reproduction, pour déterminer les effets sublétaux (des dilutions) du sol contaminé ou de la concentration d'une substance qui, réparti(e) de façon homogène dans le sol standard, n'a pas d'effet significatif sur le nombre de jeunes éclos des cocons comparé au témoin (CSEO), ainsi que la plus faible concentration produisant un effet (CME0).

NOTE L'utilisation d'un sol de référence approprié est une exigence essentielle pour démontrer l'état actuel de la population soumise à essai et pour éviter toute erreur d'interprétation des résultats.

5 Réactifs et matériel

5.1 Matériel biologique, l'espèce recommandée pour l'essai est *Enchytraeus albidus* Henle 1837 (ver blanc; Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida). *E. albidus*, l'une des plus grandes espèces d'Enchytraeidae, se caractérise par une taille de 15 mm à 40 mm et une répartition géographique mondiale (voir par exemple [21], [31]). Cette espèce est facilement reconnaissable grâce à deux caractéristiques: quatre soies par faisceau sur la face ventrale et un très long canal séminal dans la région du clitellum et de quelques segments postérieurs. On rencontre cette espèce en habitat marin, limnique et terrestre, principalement dans les matières organiques en décomposition (varech, compost) et seulement rarement dans les prairies. Cette tolérance écologique très étendue, ainsi que certaines variations morphologiques, indiquent que cette espèce englobe probablement plusieurs races (ou écotypes). *E. albidus* peut être obtenu dans le commerce, puisqu'il est vendu comme nourriture pour poissons. Il convient de vérifier si ce type de culture n'est pas contaminé par d'autres espèces de taille généralement inférieure (voir par exemple [7], [10], [32]). En cas de contamination, tous les vers sont lavés à l'eau dans une boîte de Petri. Les spécimens adultes d'*E. albidus* de grande taille sont sélectionnés à l'aide d'une loupe binoculaire pour démarrer une nouvelle culture. Tous les autres vers issus de la culture initiale sont éliminés. *E. albidus* peut être facilement élevé dans un grand nombre de matériaux organiques (voir l'Annexe A) et présente un cycle de vie court, la maturité étant atteinte entre 33 j (à 18 °C) et 74 j (à 12 °C). Seules les cultures ayant été conservées au laboratoire pendant au moins cinq semaines (soit un cycle de génération) sans problème doivent être utilisées pour les essais.

D'autres espèces du genre *Enchytraeus*, telles que *E. crypticus* Westheide et Graefe 1992 ou *E. buchholzi* Vejdovsky 1879, populations vivant réellement dans le sol, mais plus petites, sont également admises en tant qu'organismes soumis à essai (voir l'Annexe B). Si d'autres espèces du genre *Enchytraeus* sont utilisées, elles doivent être clairement identifiées et il convient de mentionner les raisons pour lesquelles ces espèces ont été choisies, ainsi que les écarts par rapport à la méthode d'essai. Il convient que les vers soumis aux essais soient des individus adultes porteurs d'œufs (points blancs) dans la région du clitellum et qu'ils soient de taille approximativement égale (environ 15 mm). Il n'est pas nécessaire de synchroniser la culture d'élevage. Il convient d'acclimater les Enchytraeidae dans un sol artificiel non traité, dans les conditions de l'essai, pendant au moins 24 h avant l'essai. Durant cette période, il convient de distribuer, en quantité suffisante, la nourriture qui sera également utilisée comme source d'alimentation durant l'essai.

Il convient, pour un essai, de prélever dans la boîte d'élevage un échantillon surnuméraire de vers adultes possédant un clitellum, sans les observer en détail, afin de disposer d'une population de vers appropriée suffisante. Au terme de la période d'acclimatation, seuls les vers porteurs d'œufs et présentant un comportement habituel (par exemple n'essayant pas de s'échapper du sol artificiel) sont sélectionnés pour l'essai. La sélection est effectuée en observant à la loupe binoculaire les vers placés dans une boîte de Petri contenant une faible quantité d'eau et en éliminant les animaux dépourvus d'œufs. Il convient d'utiliser, de préférence, un milieu d'eau douce (par exemple, de l'eau reconstituée selon [23]), car l'eau déminéralisée ou l'eau du robinet (risque de contamination au cuivre) peut s'avérer nocive pour les Enchytraeidae. Au cours de ce processus, les autres organismes vivant dans les cultures, tels que les acariens, sont également séparés des vers.

NOTE Un exemple de culture d'*Enchytraeus* sp. est donné dans l'Annexe A.

5.2 Mélange d'essai, qui peut être constitué d'un sol prélevé sur le terrain ou d'un sol témoin amendé par la substance soumise à essai.

5.2.1 Sol prélevé sur le terrain ou déchets

Le (les) échantillon(s) de sol peut (peuvent) être un sol prélevé sur un site industriel, agricole ou un autre site d'intérêt, ou des déchets (par exemple, matériau de dragage, boue de station d'épuration des eaux usées urbaines, matériau composite ou fumier) dont une éventuelle mise en décharge est envisagée.

Les sols prélevés sur le terrain et utilisés pour l'essai doivent être tamisés au moyen d'un tamis à mailles carrées de 4 mm pour éliminer les fragments grossiers, puis soigneusement mélangés. Si nécessaire, le sol peut être séché à l'air, sans chauffage, avant d'être tamisé. Il convient que la durée de conservation des

sols soumis à essai soit la plus courte possible. Le sol doit être conservé conformément à l'ISO 10381-6, en utilisant des récipients qui réduisent au minimum les pertes de contaminants du sol par volatilisation et par sorption sur les parois du récipient. Il convient de ne pas corriger le pH du sol car il peut influencer sur la biodisponibilité des contaminants du sol.

Pour l'interprétation des résultats d'essai, les caractéristiques suivantes doivent être déterminées pour chaque échantillon de sol prélevé sur site:

- a) le pH conformément à l'ISO 10390;
- b) la texture (sable, limon, vase) conformément à l'ISO 11277;
- c) la teneur en eau conformément à l'ISO 11465;
- d) la capacité de rétention d'eau selon l'Annexe C;
- e) la capacité d'échange cationique conformément à l'ISO 11260;
- f) la teneur en carbone organique conformément à l'ISO 10694.

NOTE Il est important de mesurer la capacité de rétention d'eau de tous les mélanges utilisés dans l'essai

5.2.2 Sol témoin, soit a) un sol de référence (3.9), soit b) un sol standard (3.10) qui permet la présence des Enchytraeidae [les critères de validité doivent être satisfaits, au minimum]. Le sol témoin et le sol utilisé pour la dilution doivent être les mêmes dans tous les essais (soit a), soit b)].

- a) Si l'on dispose de sols de référence provenant de zones non contaminées proches d'un site contaminé, il convient de les traiter et de les caractériser de la même manière que les sols soumis à essai. Si une contamination toxique ou des propriétés pédologiques inhabituelles ne peuvent être exclues, il convient de privilégier des sols témoins standard.
- b) Pour évaluer les effets des substances mélangées au sol, des sols standard (par exemple, sol artificiel, sol LUFA) doivent être utilisés comme substrat d'essai. Les propriétés du sol standard prélevé sur le terrain doivent être consignées dans le rapport.

Le substrat appelé «sol artificiel» peut être utilisé comme sol standard et présente la composition suivante:

	Pourcentage exprimé sur la base de la masse sèche
- Tourbe de sphaigne finement broyée et exempte de tout résidu végétal visible	10 %
- Argile kaolinite contenant au minimum 30 % de kaolinite	20 %
- Sable de quartz industriel (sable fin dominant, avec plus de 50 % des grains présentant une granulométrie de 0,05 mm à 0,2 mm)	69 %

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

NOTE 1 Considérant les propriétés des substances fortement apolaires ($\log K_{ow} > 2$) ou des substances ionisantes, un pourcentage de 5 % de tourbe s'est avéré suffisant pour maintenir la structure souhaitée du sol artificiel.[22]

Préparer le sol artificiel au moins trois jours avant le début de l'essai, en mélangeant soigneusement les constituants secs énumérés ci-dessus dans un mélangeur de laboratoire de grande capacité. Une partie de l'eau déionisée nécessaire est ajoutée au cours du mélange. La quantité de carbonate de calcium requise peut varier en fonction des propriétés du lot de tourbe de sphaigne concerné; il convient par

conséquent de la déterminer en mesurant des sous-échantillons juste avant l'essai. Conserver le sol artificiel mélangé à température ambiante pendant au moins deux jours pour équilibrer l'acidité. Pour déterminer le pH et la capacité maximale de rétention d'eau, le sol artificiel sec est pré-humidifié un ou deux jours avant le début de l'essai en ajoutant de l'eau déionisée, de manière à atteindre la moitié de la teneur en eau finale requise, correspondant à 40 % à 60 % de la capacité maximale de rétention d'eau.

La capacité de rétention d'eau totale est déterminée selon l'[Annexe C](#), le pH est déterminé conformément à l'ISO 10390.

NOTE 2 Il convient de tenir compte de l'eau qui sera éventuellement utilisée pour introduire la substance soumise à essai dans le sol.

5.3 Alimentation

Les flocons d'avoine, de préférence autoclavés (ou éventuellement chauffés) avant usage afin d'éviter l'infection par d'autres organismes, se sont révélés adaptés^[31]. La première distribution de nourriture est effectuée en mélangeant au sol 50 mg de flocons d'avoine broyés par récipient d'essai (après application de la substance soumise à essai, mais avant d'ajouter les vers); les distributions ultérieures (25 mg par récipient et par semaine, sauf au-delà de 28 j) sont effectuées uniquement en surface, afin d'éviter de blesser les vers. Les besoins en nourriture pouvant varier d'un récipient à l'autre, il convient d'ajuster la distribution à la demande (en d'autres termes, toute suralimentation doit être évitée). Il convient de recouvrir les flocons de quelques particules de sol afin de réduire le développement de champignons.

5.4 Réactifs

5.4.1 Rouge bengale.

5.4.2 Éthanol.

5.4.3 Acide borique, adapté pour servir de substance de référence.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16387:2014

<http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/166234b8-26a9-48d0-8ff4-c55a275744e8/iso-16387-2014>

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et les éléments suivants.

6.1 Récipients d'essai, de 0,20 l à 0,25 l de contenance et d'un diamètre (par exemple 5 cm) permettant de recevoir une épaisseur de sol de 1,5 cm à 2 cm, munis de couvercles (par exemple verre ou film plastique perforé). Les béciers doivent convenir comme récipients d'essai, et contiennent une quantité de sol artificiel équivalant à 20 g de masse sèche. Les couvercles doivent permettre les échanges gazeux entre le substrat de sol et l'atmosphère.

6.2 Étuve de séchage.

6.3 Loupe binoculaire.

6.4 Balances, permettant des pesées de 50 g à 32 kg et d'une exactitude d'au moins 1 g.

6.5 Balance d'analyse, permettant des pesées de 10 mg à 200 g et d'une exactitude d'au moins 1 mg.

6.6 pH-mètre.

6.7 Enregistreur de température (par exemple thermomètre/hygromètre).

6.8 Luxmètre.