
**Qualité du sol — Effets des polluants
vis-à-vis des vers de terre —**

**Partie 3:
Lignes directrices relatives à la
détermination des effets sur site**

iTeh STANDARD PREVIEW
Soil quality — Effects of pollutants on earthworms —
Part 3. Guidance on the determination of effects in field situations
(standards.iteh.ai)

[ISO 11268-3:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6eec91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbfe/iso-11268-3-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6eec91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbfe/iso-11268-3-2014>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 11268-3:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6eec91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbfe/iso-11268-3-2014>



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 Unités	1
4 Principe	1
5 Réactifs et matériel	2
6 Appareillage	2
7 Mode opératoire	3
7.1 Échantillonnage des populations de vers de terre.....	3
7.2 Conservation.....	3
7.3 Détermination de la biomasse.....	3
8 Préparation de l'essai	3
8.1 Site d'essai.....	3
8.1.1 Sélection et description.....	3
8.1.2 Conception expérimentale.....	4
8.1.3 Entretien des terrains d'essai.....	6
9 Mode opératoire	6
9.1 Application de la substance d'essai.....	6
9.2 Dates d'échantillonnage.....	7
9.3 Substance de référence.....	7
10 Évaluation des données	8
10.1 Effets.....	8
10.2 Identification des espèces de vers de terre.....	8
10.3 Détermination de la biomasse avec le contenu du tube digestif.....	9
11 Calcul et expression des résultats	9
12 Validité de l'essai	9
13 Rapport d'essai	9
Annexe A (informative) Exigences supplémentaires pour les essais de pesticides	11
Annexe B (informative) Informations concernant les espèces ou communautés spécifiques de vers de terre dans différentes régions climatiques ou géographiques	12
Bibliographie	13

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 procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, 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/IEC, 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 dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information 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](http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0ccc91c-8233-425c-b2c4-5392cebedbf6/iso-11268-3-2014).

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 11268-3:1999), qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 11268 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre*:

- *Partie 1: Détermination de la toxicité aiguë vis-à-vis de Eisenia fetida/Eisenia andrei*
- *Partie 2: Détermination des effets sur la reproduction de Eisenia fetida/Eisenia andrei*
- *Partie 3: Lignes directrices relatives à la détermination des effets sur site*

Introduction

L'essai sur le terrain relatif aux vers de terre est fondé sur une méthode développée pour les essais de pesticides [6] par le Centre fédéral allemand de recherches biologiques dans les domaines agricole et forestier. Il a ensuite été normalisé à l'échelle internationale par l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) en tenant compte des résultats et des recommandations d'un atelier international sur l'« Écotoxicologie des vers de terre », qui s'est tenu à Sheffield (Royaume-Uni) en 1991, [7] afin de servir d'outil pour la caractérisation de la qualité du sol. L'expérience acquise a démontré que la performance pratique de l'essai peut être améliorée. Lors de deux réunions organisées par le Centre fédéral de recherches biologiques dans les domaines agricole et forestier (Braunschweig, 2002) et par l'Agence fédérale allemande de protection des consommateurs et de salubrité des aliments (Lille, 2005), un groupe de travail ad hoc constitué d'experts provenant de différents pays et institutions a présenté des recommandations à prendre en compte si la révision est approuvée par vote lors de la revue périodique. Un compte-rendu des discussions, des commentaires et des recommandations a été publié [8].

Lorsque des vers de terre et d'autres organismes sont utilisés comme bio-indicateurs pour évaluer la qualité du sol d'un site en tant qu'habitat pour les organismes du sol, des lignes directrices concernant les modes opératoires d'extraction et des conseils pour planifier une étude sont donnés dans les normes ISO 23611-1 à ISO 23611-6.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 11268-3:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6eec91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbf8/iso-11268-3-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6eec91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbf8/iso-11268-3-2014>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11268-3:2014](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6eec91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbfe/iso-11268-3-2014>

Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre —

Partie 3: Lignes directrices relatives à la détermination des effets sur site

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 11268 décrit des techniques utilisées pour étudier les effets de substances sur les vers de terre sur le terrain et constitue une base pour la détermination des effets des produits chimiques appliqués ou incorporés au sol, y compris des injections dans le sol ou l'enfouissement de granulés par semoirs.

2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à 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 10694, *Qualité du sol — Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire)*

ISO 11274, *Qualité du sol — Détermination des caractéristiques de la rétention en eau — Méthodes de laboratoire*

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

ISO 23611-1, *Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol — Partie 1: Tri manuel et extraction au formol des vers de terre*

3 Unités

Les taux d'application des substances d'essai sont exprimés en kilogrammes par hectare (kg/ha) ou en litres par hectare (l/ha) de substance appliquée. Lorsqu'il s'agit d'un matériau composé, le taux d'application est exprimé en fonction de la quantité de matière active appliquée.

Les concentrations de substances d'essai incorporées dans le sol sont données en mg de matière active (m.a.)/kg de masse sèche du sol, d_m . Les mêmes unités sont utilisées pour comparer les résultats du présent essai sur le terrain avec ceux obtenus lors d'études en laboratoire.

4 Principe

Les espèces, le nombre et la biomasse de vers de terre recueillis par parcelles d'échantillonnage traitées avec la substance d'essai sont comparés à ceux recueillis dans les parcelles témoins et dans les parcelles traitées de référence. L'échantillonnage est effectué comme spécifié dans l'ISO 23611-1. La durée de

l'étude dépend des caractéristiques de la substance d'essai, mais elle est généralement fixée à 1 année. Les dates d'échantillonnage sont choisies pour coïncider avec les périodes d'activité des vers de terre.

L'essai est réalisé avec un plan d'expérience complet randomisé à quatre réplicats par traitement. L'analyse statistique de la population de chaque espèce prélevée à chaque échantillonnage permet de déterminer les effets des traitements en comparant l'abondance, la biomasse et la diversité entre les parcelles témoins et traitées.

NOTE L'essai comporte également des échantillons de vers de terre prélevés dans des parcelles traitées pour une analyse des résidus, si celle-ci est appropriée.

5 Réactifs et matériel

- 5.1 **Formol** [solution de formaldéhyde, 4 % (fraction volumique)].
- 5.2 **Formol** [solution de formaldéhyde, 37 % (fraction volumique)].
- 5.3 **Éthanol**, 70 % (fraction volumique).
- 5.4 **Carbendazime**, appliquée par exemple sous forme de Derosal®¹⁾ (formulation à 360 g m.a./l) comme substance de référence.

6 Appareillage

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Utiliser du matériel courant de laboratoire ainsi que ce qui suit.

- 6.1 **Récipients en plastique** (250 ml et 500 ml) pour conserver les vers de terre.
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6ecc91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbf8/iso-11268-3-2014>
- 6.2 **Gants en plastique.**
- 6.3 **Pinces.**
- 6.4 **Morceau de plastique épais** (1 m² à 2 m²).
- 6.5 **Bêche ou pelle.**
- 6.6 **Microscope de dissection** à faible grossissement (10 fois à 40 fois).
- 6.7 **Balance** (0,01 g à 200 g).
- 6.8 **Bidon d'eau** (de préférence 20 l) rempli d'eau (20 l par parcelle d'échantillonnage).
- 6.9 **Crayon, carnet de notes, marqueur indélébile, étiquettes.**
- 6.10 **Thermomètre**, par exemple pour mesurer la température de l'air.
- 6.11 **Armoire de séchage**, pour la détermination de la teneur en eau du sol.

1) Derosal est un exemple de produit adapté disponible dans le commerce. Ces informations sont données à titre pratique aux utilisateurs du présent document et ne signifient nullement l'approbation de ce produit par l'ISO.

7 Mode opératoire

7.1 Échantillonnage des populations de vers de terre

L'échantillonnage des vers de terre est réalisé en combinant deux méthodes différentes: le tri manuel et l'extraction au formol. Sur la base de plusieurs études comparatives, cette combinaison est clairement recommandée dans les diverses revues relatives à l'écologie des vers de terre (par exemple, [9], [10], [13]). Pour des informations détaillées concernant les modes opératoires d'extraction, voir l'ISO 23611-1.

Il convient de procéder à l'échantillonnage à des périodes de l'année durant lesquelles les animaux ne sont pas contraints par les conditions environnementales (c'est-à-dire faible teneur en eau du sol et/ou températures extrêmement élevées ou extrêmement basses) à entrer en diapause (c'est-à-dire qu'ils ne réagissent pas au formol).

En raison de la taille individuelle des vers, une grande parcelle doit être identifiée: un carré de 50 cm × 50 cm suffit souvent dans la zone holarctique où la plupart des vers de terre adultes ont une longueur approximativement comprise entre 1 cm et 20 cm. Toutefois, dans les endroits où la densité en vers de terre est faible [par exemple les sols à faible pH (< 4,5) ou qui sont exploités par l'homme comme les lieux de culture], de plus grandes parcelles (c'est-à-dire de 1 m²) sont recommandées. En revanche, dans les endroits où la densité en vers de terre est élevée (par exemple les nombreuses prairies des régions tempérées), une parcelle plus petite de 0,125 m² suffit [12]. Les échantillons individuels sont prélevés de manière aléatoire sur la parcelle d'essai.

NOTE Si, dans des situations particulières comme dans le Sud de l'Europe, les espèces anéciques n'apparaissent pas, un échantillonnage du sol par tri manuel jusqu'à une profondeur de 30 cm suffit. Lorsque les conditions d'échantillonnage ne sont pas optimales, par exemple lorsque la teneur en eau du sol est extrêmement faible ou lorsque la couche de racines est dense, le tri manuel peut même être la seule méthode d'extraction efficace.

Lorsque, dans une méthode d'échantillonnage éthologique, seul le formol est utilisé, il convient de procéder à un contrôle d'efficacité supplémentaire par tri manuel comme décrit dans la présente Norme internationale. Un tri manuel combiné à la méthode d'extraction au formol donne généralement des résultats satisfaisants. Lorsqu'une combinaison de tri manuel et d'une méthode d'extraction est utilisée, aucun contrôle d'efficacité supplémentaire n'est nécessaire.

7.2 Conservation

La conservation doit être effectuée conformément à l'ISO 23611-1.

7.3 Détermination de la biomasse

La biomasse doit être déterminée conformément à l'ISO 23611-1.

8 Préparation de l'essai

8.1 Site d'essai

8.1.1 Sélection et description

En général, il convient que le site d'essai soit aussi homogène que possible afin d'améliorer la fiabilité statistique de l'essai. Il convient d'éviter les gradients dans les conditions environnementales (par exemple des fossés adjacents), l'influence des frondaisons comme en lisière de bois ou les ornières compactées laissées par les tracteurs sur le site. Il convient que le site soit situé sur un terrain plat et qu'il présente les mêmes caractéristiques de végétation et de composition du sol sur toute sa surface.

Les prairies sont le site d'étude préférentiel pour évaluer les effets de substances sur les vers de terre. Dans les prairies, la densité et la diversité des vers de terre sont généralement plus élevées et plus stables que dans les terres arables, ce qui facilite la détection d'effets significatifs sur les populations de vers de terre. Si les effets sur les vers de terre sont observés sur le site d'une prairie, il convient que

l'évaluation affinée des risques comprenne des scénarios spécifiques (cultures et régions) couvrant les usages prévus de la substance d'essai (par exemple pesticide). Les vergers ne sont pas recommandés pour les essais en raison de l'hétérogénéité du site due aux rangées d'arbres et aux bandes sans arbres. Lorsqu'un verger est utilisé, il faut s'assurer que la grande variabilité est compensée en prélevant un plus grand nombre d'échantillons ou en limitant l'échantillonnage à des zones spécifiques. Pour qu'une surface d'essai dans une prairie soit acceptable, il convient qu'elle ait une densité en vers de terre d'au moins 100 individus par mètre carré. Si la densité de population est inférieure, il convient de prélever un plus grand nombre d'échantillons que celui recommandé en [8.1.3](#).

Lorsqu'il est nécessaire d'obtenir des informations relatives aux effets sur des sols nus, il est possible d'utiliser des parcelles arables à condition qu'elles comportent au minimum 60 vers de terre par mètre carré au début de l'essai conformément aux résultats de l'échantillonnage préalable.

Il convient que les parcelles expérimentales comportent une population mixte de vers de terre [\[11\]](#), généralement représentatifs du type d'environnement choisi. Dans les régions agricoles, par exemple, il convient que les principales espèces anéciques et endogées soient présentes à une densité suffisamment élevée (10 % de la population au moins pour chaque groupe) pour que les parcelles soient considérées comme représentatives. Il convient de veiller à ne pas sélectionner de parcelles qui présentent essentiellement des espèces non représentatives.

NOTE Pour des raisons naturelles, il est possible qu'un certain groupe écologique n'apparaisse pas dans certaines régions (par exemple, les vers anéciques dans certaines régions de la Méditerranée). Dans ce cas, des connaissances d'expert sont requises pour identifier les espèces les plus importantes d'un point de vue écologie de cette région.

Afin de satisfaire à ces exigences, il convient de prélever des échantillons à partir de parcelles prospectives avant le début de l'étude préliminaire sur la répartition des espèces.

Il convient d'éviter de sélectionner comme site d'essai des types de sols extrêmes, tels que les sols très sablonneux, les terres argileuses et les landes.

Il convient que la description du site d'essai comprenne les données physico-chimiques et biologiques suivantes:

- la répartition granulométrique des particules (comme spécifié dans l'ISO 11277);
- la teneur en carbone organique (comme spécifié dans l'ISO 10694);
- la valeur du pH (comme spécifié dans l'ISO 10390);
- la capacité de rétention en eau, WHC_{max} (dans l'horizon A, comme spécifié dans l'ISO 11274);
- une description de la végétation.

Il convient de déterminer ces caractéristiques à l'aide de méthodes normalisées.

Les mesurages microclimatiques (température du sol et de l'air, teneur en eau du sol, quantité de précipitation, durée d'ensoleillement) sont particulièrement importants pour la période d'application des produits chimiques, et il convient que la température et la quantité de précipitation soient enregistrées sur l'ensemble de l'année.

Il convient de connaître l'histoire du site d'essai (par exemple applications de pesticides, de fertilisants minéraux, de boues d'assainissement, travail du sol).

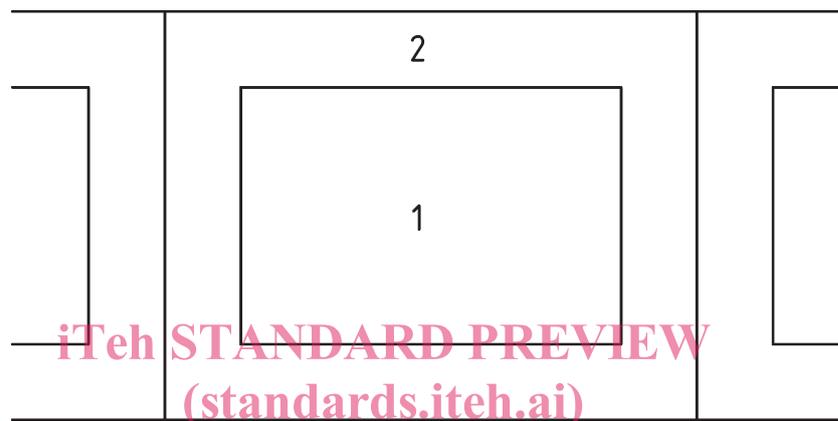
8.1.2 Conception expérimentale

Le plan d'expérimentation dépend des objectifs de l'étude et de la quantité et de la qualité des informations disponibles concernant le site d'étude. En général, (c'est-à-dire dans le cas d'essais sur une substance chimique), un témoin négatif (c'est-à-dire des parcelles pulvérisées uniquement avec de l'eau) et un témoin positif (c'est-à-dire des parcelles pulvérisées avec une substance de référence, par exemple, une substance connue pour être toxique vis-à-vis des vers de terre) sont pulvérisés. En général, il convient de tenir compte du fait qu'une conception dose-réponse facilite clairement l'évaluation des risques liés

à l'environnement par rapport à des études à dose unique. Dans tous les cas, les raisons du choix d'une conception expérimentale donnée doivent être expliquées dans le rapport de l'étude.

Il convient que l'essai soit conçu comme un plan d'expérience complet randomisé. Le nombre de groupes de traitement et les dates d'échantillonnage planifiées déterminent le nombre de parcelles et donc la superficie du terrain.

Toutefois, il convient que l'aire de chaque parcelle d'étude soit d'au moins 100 m² (10 m x 10 m). Les échantillons sont prélevés exclusivement dans la zone centrale des parcelles de manière à réserver une bordure également traitée d'une largeur de 1 m à 2 m autour de la surface d'échantillonnage (voir [Figure 1](#)). La surface d'échantillonnage correspondant aux échantillons prélevés par traitement, par parcelle (réplicat) et par date dépend de la densité en vers de terre et de leur répartition sur le terrain expérimental sélectionné (voir [7.1](#)) et peut aller de 1 m² à 0,125 m², mais, le plus souvent, une surface de 0,25 m² est appropriée.



Légende

- 1 surface d'échantillonnage
 - 2 bordure
- ISO 11268-3:2014
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e6ecc91c-8235-425c-b2e4-5392cebedbf8/iso-11268-3-2014>

Figure 1 — Vue schématique d'une parcelle d'essai

Il convient que les échantillons prélevés à la même date soient espacés d'au moins 2 m et que les surfaces utilisées pour l'échantillonnage ne soient pas réutilisées pour un échantillonnage à une date ultérieure.

Le nombre requis d'échantillons aléatoires dépend, entre autres, de la densité et de la répartition de la population de vers de terre sur la surface d'essai.^[14]

Pour chaque variable d'essai (témoin, substance de référence, substance d'essai), il convient d'utiliser au moins quatre réplicats et de prélever au hasard quatre échantillons par réplicat (c'est-à-dire 16 échantillons individuels par variable d'essai).

Pour les prairies, une surface d'échantillonnage de 0,25 m² par échantillon individuel est suffisante. Il est recommandé d'utiliser une enceinte en métal ou en plastique d'une dimension de 50 cm × 50 cm (carré) ou d'un diamètre de 56 cm et d'une hauteur de 10 cm à 15 cm. Pour une terre arable, la surface d'échantillonnage doit normalement être étendue à 1 m² en raison de la faible densité de population ou de la répartition non homogène de la population animale.

Pour les prairies, il convient que la végétation sur la zone d'échantillonnage soit soigneusement coupée avant l'échantillonnage afin de pouvoir voir et recueillir tous les vers de terre apparaissant à la surface.

Il convient de veiller à ce que les orifices de passage des vers de terre ne soient pas obstrués et, par conséquent, que le personnel procédant à l'essai évite de marcher sur les surfaces d'échantillonnage.

NOTE Des lignes directrices concernant les taux d'application des pesticides sont données à l'[Annexe A](#).