
**Qualité du sol — Inhibition de la
reproduction de l'acarien prédateur
(*Hypoaspis aculeifer*) par des
contaminants du sol**

Soil quality — Inhibition of reproduction of the soil mite (Hypoaspis aculeifer) by soil contaminants

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 21285:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e10cc3-14c8-4569-a88f-3bc42a5f6803/iso-21285-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e10cc3-14c8-4569-a88f-3bc42a5f6803/iso-21285-2019>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21285:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e10cc3-14c8-4569-a88f-3bc42a5f6803/iso-21285-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

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
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
5.1 Matériel biologique.....	4
5.2 Mélanges d'essai.....	4
5.3 Substance de référence.....	6
6 Appareillage	6
7 Mode opératoire	7
7.1 Plan d'expérience.....	7
7.1.1 Généralités.....	7
7.1.2 Essai préliminaire.....	7
7.1.3 Essai définitif.....	7
7.1.4 Essai limite.....	8
7.2 Préparation des mélanges d'essai.....	8
7.2.1 Essai sur sol contaminé.....	8
7.2.2 Essai sur substances ajoutées au substrat d'essai.....	9
7.2.3 Préparation des récipients témoins.....	9
7.3 Ajout du matériel biologique.....	10
7.4 Conditions d'essai et mesurages.....	10
7.5 Alimentation des acariens.....	10
7.6 Détermination du nombre d'acariens prédateurs survivants.....	11
8 Calcul et expression des résultats	11
8.1 Calcul.....	11
8.2 Expression des résultats.....	11
9 Validité de l'essai	11
10 Analyse statistique	11
10.1 Généralités.....	11
10.2 Essais à une seule concentration.....	12
10.3 Essais à plusieurs concentrations.....	12
10.3.1 Essai préliminaire.....	12
10.3.2 Essai définitif.....	12
11 Rapport d'essai	13
Annexe A (informative) Techniques d'élevage des acariens prédateurs	15
Annexe B (normative) Détermination de la capacité de rétention d'eau	17
Annexe C (informative) Recommandations relatives à l'ajustement du pH d'un sol artificiel	19
Annexe D (informative) Extraction et comptage des acariens prédateurs	20
Annexe E (informative) Informations générales sur la biologie de <i>Hypoaspis (Geolaelaps) aculeifer</i>	21
Bibliographie	22

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 attirée 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 nature volontaire des normes, 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'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Caractérisation biologique*.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

Les systèmes d'essais écotoxicologiques sont mis en œuvre pour obtenir des informations sur les effets des contaminants présents dans les sols et sont proposés pour compléter l'analyse chimique conventionnelle (voir ISO 15799 et ISO 17616). L'ISO 15799 contient une liste et une brève caractérisation des systèmes d'essai recommandés et normalisés et l'ISO 17616 donne des recommandations sur le choix et l'évaluation des essais biologiques. Les systèmes d'essai aquatiques avec un éluat de sol sont mis en œuvre pour obtenir des informations sur la fraction des contaminants susceptibles d'être entraînés jusque dans les eaux souterraines par le cheminement de l'eau (fonction de rétention des sols), alors que les systèmes d'essai terrestres sont utilisés pour évaluer la fonction d'habitat des sols.

Les acariens représentent un groupe divers d'arthropodes, présent dans le monde entier, appartenant à la classe des Arachnides, avec plus de 40 000 espèces comptabilisées, divisé en deux super-ordres (Acariformes et Parasitiformes). En raison de leur taille relativement petite (de quelques micromètres à quelques centimètres), ils occupent des niches écologiques spécifiques sur les végétaux et dans les sols (voir Référence [13]).

Chez les acariens terricoles, le rôle de prédation est assuré, par exemple, par *Hypoaspis* sp. (Laelapidae). Étant donné qu'ils sont exposés à une contamination chimique, les acariens sont déjà pris en compte dans l'évaluation des risques environnementaux des pesticides, au titre d'organismes non cibles (voir Référence [10]). En effet, parmi les données requises pour les substances actives pesticides, les effets sur les acariens prédateurs sont évalués, à savoir pour l'espèce planticole *Typhlodromus pyri* (Phytoseiidae) et l'espèce terricole *Hypoaspis aculeifer* (Laelapidae) (voir Référence [6]).

Les premiers auteurs à avoir introduit l'espèce *H. aculeifer* comme organisme d'essai lors d'études écotoxicologiques [23][17] ont ensuite proposé un système d'essai à deux espèces dans le cadre du projet européen SECOFASE (Sublethal Effects of Chemicals on Fauna in the Soil Ecosystem), avec le collembole *Folsomia fimetaria* comme proie. Lors de l'élaboration d'un essai écotoxicologique pour l'évaluation de produits phytopharmaceutiques sur des arthropodes non cibles (voir Références [5], [6]), un autre protocole relatif aux acariens prédateurs du sol utilisant *H. aculeifer* a été proposé. Plus récemment, un protocole d'essai standardisé pour l'évaluation des produits chimiques a été mis au point pour cette espèce par l'OCDE en 2008 et a été révisé en 2016. Les résultats de l'essai interlaboratoires international associé ont été publiés dans la Référence [25].

Chez les acariens, le prédateur *Hypoaspis aculeifer* est l'espèce la plus étudiée en laboratoire. En général, le critère d'effet lié à la reproduction s'est révélé plus sensible que la mortalité et l'évitement. Comparés à d'autres invertébrés de la mésofaune du sol, les acariens se sont généralement avérés moins ou aussi sensibles que d'autres espèces d'essai, selon les critères d'effet et les produits chimiques étudiés. D'après les études réalisées dans des conditions semi-naturelles, *H. aculeifer* a été utilisé comme prédateur supérieur alors que les invertébrés du sol, notamment les collembolles, ont été classés dans le groupe des herbivores. Dans ces études, les acariens se sont montrés relativement résistants à la contamination anthropogénique. Cette observation a été corroborée par des études sur le terrain. Cependant, l'applicabilité des méthodes d'essai de laboratoire relatives à l'évaluation d'échantillons environnementaux (sols contaminés, déchets, etc.) avec des acariens est soulignée bien que, jusqu'à présent, un faible nombre d'études soit disponible.

Le présent document décrit une méthode reposant sur la détermination des effets létaux et sublétaux de sols contaminés sur des acariens prédateurs adultes de l'espèce *Hypoaspis aculeifer*. Cette espèce est considérée comme étant représentative des arthropodes prédateurs du sol. Des informations générales sur l'écologie de ces acariens et leur utilisation dans les essais écotoxicologiques sont disponibles dans la Référence [14].

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21285:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e10cc3-14c8-4569-a88f-3bc42a5f6803/iso-21285-2019>

Qualité du sol — Inhibition de la reproduction de l'acarien prédateur (*Hypoaspis aculeifer*) par des contaminants du sol

1 Domaine d'application

Le présent document décrit une méthode d'essai chronique pour évaluer la fonction d'habitat des sols et déterminer les effets des contaminants du sol et des substances sur la reproduction de l'espèce *Hypoaspis aculeifer* par — principalement — absorption par voie alimentaire. Cette méthode est applicable aux sols et matériaux du sol de qualité inconnue, par exemple, provenant de sites contaminés, de sols amendés, de sols ayant fait l'objet d'une remédiation, de sites industriels, agricoles et autres, et aux déchets (par exemple, matériau de dragage, boue résiduaire des stations d'épuration des eaux usées, engrais ou fumier, notamment ceux pour épandage éventuel). La reproduction (= nombre de juvéniles) est le paramètre mesuré au cours de l'essai. L'essai reflète la biodisponibilité d'un mélange de contaminants dans les sols naturels (sols de sites contaminés) vis-à-vis d'une espèce qui représente un niveau trophique qui n'est pas couvert par les autres normes ISO. Il n'est pas prévu d'utiliser cet essai pour remplacer les essais de reproduction vis-à-vis des vers de terre (voir ISO 11268-2) ou des collemboles (voir ISO 11267) car cette espèce appartient non seulement à un autre groupe trophique, mais également à un autre groupe taxonomique (= acariens; c'est-à-dire, arachnides) que les autres espèces utilisées habituellement.

Les effets des substances sont évalués en utilisant un sol standard, de préférence un substrat défini de sol artificiel. Pour les sols contaminés, les effets sont déterminés dans le sol à analyser et dans un sol témoin. Selon l'objectif de l'étude, le substrat témoin et le substrat de dilution (séries de dilutions du sol contaminé) sont soit un sol non contaminé comparable au sol à analyser (sol de référence), soit un sol standard (par exemple, sol artificiel).

Le présent document fournit des informations sur la façon d'utiliser cette méthode pour analyser des échantillons (sols ou substances) dans des conditions tempérées.

Il n'est pas applicable aux substances pour lesquelles le coefficient de partage air/sol est supérieur à 1, ou aux substances dont la tension de vapeur dépasse 300 Pa à 25 °C.

NOTE La stabilité de la substance d'essai ne peut pas être assurée tout au long de la période d'essai. La méthode d'essai ne prévoit pas de contrôler la persistance de la substance soumise à essai.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 11260, *Qualité du sol — Détermination de la capacité d'échange cationique 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*

ISO 18400-206, *Qualité du sol — Échantillonnage — Partie 206: Collecte, manipulation et conservation de sols destinés à l'évaluation de paramètres biologiques fonctionnels et structurels en laboratoire*

3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

3.1 contaminant

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

3.2 concentration efficace à x % CE_x

concentration (fraction massique) d'un échantillon pour essai qui engendre un effet de x % sur un critère d'effet donné durant une période d'exposition déterminée, par rapport au témoin

EXEMPLE Une CE_{50} est une concentration estimée produire un effet de 50 % d'une population exposée sur un critère d'effet donné durant une période d'exposition déterminée.

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

3.3 taux efficace RE_x

taux d'un sol soumis à essai qui engendre un effet de x % sur un critère d'effet donné durant une période d'exposition déterminée, par rapport au témoin

3.4 essai limite

essai à une seule concentration comprenant au moins quatre réplicats chacun, le sol soumis à essai sans dilution ou la concentration maximale de substance d'essai mélangée dans le sol témoin et le témoin

3.5 concentration minimale avec effet observé CMEO

concentration minimale en substance d'essai ayant un effet statistiquement significatif (probabilité $p < 0,05$)

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

3.6 taux minimal avec effet observé RMEO

taux minimal d'un sol soumis à essai dans un sol témoin pour lequel un effet statistiquement significatif est observé

3.7**concentration sans effet observé
CSEO**

concentration maximale en substance d'essai, immédiatement inférieure à la *CMEO* (3.5), à laquelle aucun effet n'est observé

Note 1 à l'article: Dans cet essai, la concentration correspondant à la CSEO ne présente aucun effet statistiquement significatif (probabilité $p < 0,05$) durant une période d'exposition déterminée, en comparaison avec le témoin.

3.8**taux sans effet observé
RSEO**

taux minimal d'un sol soumis à essai, immédiatement inférieur au *RMEO* (3.6), qui, en comparaison avec le témoin, ne présente aucun effet statistiquement significatif (probabilité $p < 0,05$) durant une période d'exposition déterminée

3.9**sol de référence**

sol non contaminé avec des propriétés pédologiques (concentrations en éléments nutritifs, pH, teneur en carbone organique et texture) comparables à celles du sol étudié

3.10**sol standard**

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

EXEMPLE Euro-sols, sol artificiel, sol LUF standard de type 2.2.

Note 1 à l'article: Les propriétés des sols standards peuvent différer de celles du sol d'essai.

3.11**sol témoin**

sol de référence ou sol standard utilisé comme témoin et comme milieu pour préparer une gamme de dilution des sols soumis à essai ou d'une substance de référence, qui satisfait aux critères de validité

Note 1 à l'article: Dans le cas d'un sol naturel, il est recommandé de démontrer sa capacité à être utilisé pour un essai et à remplir les critères de validité de l'essai avant de l'utiliser dans un essai définitif.

3.12**mélange d'essai**

mélange d'un sol contaminé ou d'une substance d'essai (par exemple, substance chimique, biosolide, déchet) avec un sol témoin

3.13**ratio de mélange d'essai**

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

4 Principe

Des femelles adultes sont exposées au sol soumis à essai et les effets mesurés sur la reproduction sont comparés à ceux observés pour des femelles exposées à un sol témoin. Si cela est approprié, les effets observés sont déterminés sur la base de l'exposition à une gamme de dilutions de sol contaminé et de sol témoin ou à une gamme de concentrations d'une substance d'essai mélangée dans le sol témoin. 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 commence avec 10 femelles adultes par récipient d'essai. Les mâles ne sont pas inclus dans l'essai car l'expérience a montré que les femelles s'accouplent dès l'éclosion du stade deutonymphe ou peu après, dès lors que des mâles sont présents. Étant donné que les femelles sont introduites dans l'essai environ 7 jours après avoir atteint le stade adulte, on peut considérer qu'elles se sont déjà accouplées ([Annexe A](#) et [Annexe E](#)). L'essai se déroule jusqu'à ce que la première larve ait atteint le stade deutonymphe. À 20 °C, la période d'exposition se termine le 14^{ème} jour, après avoir introduit

les femelles (jour 0), et est suivie de deux jours d'extraction. Le nombre de femelles survivantes et le nombre de juvéniles par récipient d'essai sont déterminés. Le taux de reproduction des acariens exposés aux mélanges d'essai est comparé à celui des témoins, afin de déterminer les concentrations sans effet observé sur la mortalité et la reproduction (RSEO/CSEO) et la concentration entraînant x % de réduction des juvéniles éclos à partir des œufs en comparaison avec le témoin (RE_x/CE_x), respectivement, selon le plan d'expérience (voir [7.1.3](#)).

Dans le cas où il n'y a aucune connaissance préalable de la dilution/concentration du sol soumis à essai ou de la substance d'essai susceptible d'avoir un effet, il est utile d'effectuer cet essai en deux étapes:

- un essai préliminaire sur la reproduction est réalisé pour obtenir une indication de la dilution/concentration produisant un effet, et de la dilution/concentration ne provoquant pas de mortalité (RSEO/CSEO). Les dilutions/concentrations à utiliser au cours de l'essai définitif peuvent ensuite être choisies;
- l'essai définitif sur la reproduction pour déterminer les effets sublétaux de (dilutions de) sols contaminés ou de la concentration d'une substance qui, lorsqu'elle est uniformément répartie dans le sol standard, n'a pas d'effet significatif sur le nombre de larves écloses des œufs comparativement au témoin (RSEO/CSEO), et la concentration minimale produisant un effet (RMEO/CMEO).

L'utilisation d'un sol de référence est une exigence essentielle pour démontrer l'état actuel de la population d'essai et éviter une mauvaise interprétation des résultats.

5 Réactifs et matériel

5.1 Matériel biologique

Dans cet essai, des acariens femelles *Hypoaspis (Geolaelaps) aculeifer* adultes (7 jours à 14 jours après avoir atteint le stade adulte; 28 jours à 35 jours après le début de la ponte lors de la synchronisation) sont requis pour commencer l'essai. Les acariens doivent être choisis parmi une cohorte synchronisée (voir [Annexe E](#)).

5.2 Mélanges d'essai

5.2.1 Sol ou déchets prélevé(s) sur le terrain Les sols prélevés sur le terrain et utilisés au cours de l'essai doivent être tamisés à 4 mm (tamis à mailles carrées), pour éliminer les gros fragments, et être soigneusement mélangés. Si nécessaire, le sol peut être séché à l'air, sans chauffage, avant le tamisage. Il convient que la conservation du sol soumis à essai soit aussi courte que possible. Le sol doit être conservé conformément à l'ISO 18400-206 en utilisant des récipients qui réduisent au minimum les pertes de contaminants du sol par sorption sur les parois des récipients. Si des sols ou des mélanges d'essai ont été conservés, il convient de les mélanger une nouvelle fois avant de les utiliser. Il convient de ne pas rectifier le pH du sol car il peut avoir une incidence 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) pH conformément à l'ISO 10390;
- b) texture (sable, limon ou loam, argile) conformément à l'ISO 11277;
- c) teneur en eau conformément à l'ISO 11465;
- d) capacité de rétention d'eau conformément à l'[Annexe B](#);
- e) capacité d'échange cationique conformément à l'ISO 11260;
- f) carbone organique conformément à l'ISO 10694;
- g) pourcentage de matériel éliminé par le tamis de 4 mm.

Il est important de déterminer 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 soit b) un sol standard permettant la présence d'acariens prédateurs. Le sol témoin et le sol utilisé pour la dilution ne doivent pas différer l'un de l'autre au cours d'un essai [soit a) soit b)].

- a) Si des sols de référence provenant de zones non contaminées voisines d'un site contaminé sont disponibles, il convient de les traiter et de les caractériser de la même manière que les sols soumis à essai. S'il est impossible d'exclure une contamination toxique ou des propriétés inhabituelles du sol, il convient de préférer des sols témoins standards.
- b) Pour évaluer les effets de substances mélangées au sol, des sols standards (par exemple, sol artificiel, sol standard LUFA de type 2.2) doivent être utilisés comme substrat d'essai. Les propriétés du sol standard prélevé sur le terrain doivent être consignées dans le rapport.

Le substrat dénommé «sol artificiel» peut être utilisé comme un sol standard et a la composition suivante:

	Pourcentage exprimé en masse sèche
— Tourbe de sphaignes, finement moulue [une granulométrie de (2 ± 1) mm est acceptable], exempte de tout résidu végétal visible	5 %
— Argile kaolinique contenant au moins 30 % de kaolinite	20 %
— Sable de quartz industriel (contenant en majorité du sable fin constitué à plus de 50 % de grains d'une granulométrie de 0,05 mm à 0,2 mm)	74 %

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

NOTE 1 Afin de prendre en compte les propriétés des substances fortement non polaires ($\log K_{ow} > 2$) ou ionisantes, 5 % de tourbe se sont avérés suffisants pour maintenir la structure souhaitée du sol artificiel.

NOTE 2 Il a été démontré que *Hypoaspis aculeifer* peut remplir les critères de validité, même en ce qui concerne la reproduction, lorsqu'il est soumis à essai dans des sols ayant une plus faible teneur en carbone organique (par exemple 2,7 %), et des expériences prouvent que cette teneur peut être obtenue dans un sol artificiel avec 5 % de tourbe. Par conséquent, avant d'utiliser un tel sol dans un essai définitif, il n'est pas nécessaire de démontrer que le sol artificiel permet de réaliser l'essai conformément aux critères de validité, sauf si la teneur en tourbe est inférieure à la valeur spécifiée ci-dessus.

Préparer le sol artificiel au moins trois jours avant le début de l'essai, en mélangeant soigneusement les constituants secs indiqués ci-dessus dans un mélangeur de laboratoire de grandes dimensions. Une partie de l'eau déionisée nécessaire est ajoutée pendant le mélange. Il convient de tenir compte de l'eau qui est utilisée pour introduire la substance d'essai dans le sol. La quantité de carbonate de calcium nécessaire peut varier selon les propriétés de chaque lot de tourbe de sphaignes et il convient qu'elle soit déterminée par des mesurages effectués sur des sous-échantillons immédiatement avant l'essai (voir [Annexe C](#)). 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 environ la moitié de la teneur finale en eau requise, comprise entre 40 % et 60 % de la capacité maximale de rétention d'eau.

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

5.3 Substance de référence

5.3.1 Généralités. Pour assurer la qualité du système d'essai, il convient d'effectuer des essais à intervalles réguliers (une ou deux fois par an) en utilisant une substance de référence.

La CSEO et/ou la CE_x d'une substance de référence doivent être déterminées pour garantir que les conditions d'essai en laboratoire sont adéquates et pour vérifier que la réponse des organismes d'essai n'a pas évolué dans le temps. La substance de référence peut être soumise à essai parallèlement à la détermination de la toxicité de chaque échantillon pour essai à une concentration qui doit être démontrée au préalable lors d'une étude dose-réponse comme produisant un effet d'environ 50 %. Dans ce cas, il convient que le nombre de réplicats soit identique à celui des témoins. Autrement, la substance de référence est soumise à essai une à deux fois par an lors d'un essai dose-réponse. Selon le dispositif choisi, le nombre de concentrations et de réplicats et le facteur de séparation différent (voir 7.1.3), mais il convient d'obtenir une réponse de 10 % à 90 % d'effet (facteur de séparation de 1,8). Le diméthoate et l'acide borique sont des substances de référence appropriées ayant montré un effet sur la reproduction [25].

Il convient que la CE_{50} du diméthoate basée sur le nombre de juvéniles se situe entre 3,0 mg s.a. (substance active)/kg de sol (masse sèche) et 7,0 mg s.a. (substance active)/kg de sol (masse sèche). D'après les résultats obtenus jusqu'ici avec l'acide borique, il convient que la CE_{50} basée sur le nombre de juvéniles se situe entre 100 mg/kg (masse sèche) de sol et 300 mg/kg (masse sèche) de sol.

5.3.2 Diméthoate (CAS 60-51-5), $C_5H_{12}NO_3PS_2$, soumis à essai sous forme de formulation [par exemple, Perfekthion¹⁾ (env. 40 % de diméthoate)].

5.3.3 Acide borique (CAS 10043-35-3), H_3BO_3 (99 %)

AVERTISSEMENT — Lors de la manipulation de ces substances, il convient de prendre toutes les précautions nécessaires pour éviter toute ingestion ou tout contact avec la peau.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e10cc3-14c8-4569-a88f-3bc42a5f6803/iso-21285-2019>

6 Appareillage

Utiliser du matériel de laboratoire et l'appareillage suivant.

6.1 Récipients d'essai, en verre ou autre matériau chimiquement inerte, d'une capacité d'environ 100 ml et d'un diamètre d'environ 5 cm, munis de couvercles (par exemple, couvercle en plastique, disques en verre ou film plastique pouvant être fermés hermétiquement).

6.2 Appareillage permettant de déterminer la masse sèche du substrat, conformément à l'ISO 11465.

6.3 Mélangeur de laboratoire de grandes dimensions, pour la préparation des mélanges d'essai (5.2).

6.4 Balances de précision adaptée.

6.5 Appareillage, permettant de mesurer le pH et la teneur en eau du substrat.

6.6 Système d'aspiration, pour le transfert des acariens (voir ISO 11267:2014, A.2).

1) Perfekthion est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve l'emploi du produit ainsi désigné.