
**Qualité du sol — Méthodes
biologiques — Toxicité chronique sur les
plantes supérieures**

Soil quality — Biological methods — Chronic toxicity in higher plants

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22030:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>



PDF – Exonération de responsabilité

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

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 22030:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>

© ISO 2005

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	4
5 Matériaux	4
5.1 Plantes testées	4
5.2 Sol et stockage du sol	5
5.2.1 Généralités	5
5.2.2 Sol d'essai	5
5.2.3 Sol témoin	6
5.3 Substance de référence	7
6 Équipement	7
7 Méthodes	9
7.1 Montage expérimental	9
7.2 Essai préalable	9
7.3 Essai préliminaire (détermination de la plage de concentrations)	9
7.4 Essai final	9
7.5 Préparation des pots	9
7.6 Préparation des graines	10
7.7 Conditions de croissance	10
7.8 Début de l'essai	10
7.9 Manipulation au cours de l'essai	11
7.9.1 Nombre de plantes et éclaircissage	11
7.9.2 Arrosage	11
7.9.3 Nouvelle disposition des récipients d'essai	11
7.9.4 Pollinisation	11
7.9.5 Compte rendu	11
7.10 Mesure des points de mesure	12
7.10.1 Germination de plantules	12
7.10.2 Récolte au 14^{ème} jour	12
7.10.3 Récolte finale	12
7.11 Récapitulatif et calendrier de l'essai	13
8 Critères de validité	14
9 Évaluation des résultats	14
9.1 Présentation des mesures	14
9.2 Analyse statistique	15
9.2.1 Essai préliminaire	15
9.2.2 Essai final	15
9.2.3 Approche CSEO (concentration sans effet observé)	15
9.2.4 Approche CE_x (concentration avec effet)	15
10 Rapport d'essai	16
Annexe A (informative) Essais des produits chimiques dans le sol	17
Bibliographie	18

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

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

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

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 22030 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 22030:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>

Introduction

La présente Norme internationale décrit une méthode d'évaluation de la qualité des sols d'origine diverse présentant des contaminations inconnues. Légèrement modifiée, la méthode peut également être utilisée pour mesurer la toxicité de produits chimiques connus incorporés dans le sol.

L'évaluation de l'inhibition et de la toxicité chronique repose sur la germination, la croissance végétative et la capacité de reproduction d'au moins deux espèces de plantes supérieures.

La présente Norme internationale se fonde sur

- a) les résultats du projet de recherche «Développement d'un bio-essai chronique à l'aide de plantes supérieures» parrainé par le Ministère allemand de l'éducation et de la recherche (BMBF) [3], et
- b) les discussions menées dans le cadre du projet commun «Batteries d'essai écotoxicologiques» au sein du Groupe de recherche commun du BMBF «Procédés de bioréhabilitation du sol» [10].

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 22030:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22030:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>

Qualité du sol — Méthodes biologiques — Toxicité chronique sur les plantes supérieures

AVERTISSEMENT — Les sols contaminés peuvent contenir des mélanges inconnus de produits chimiques toxiques, mutagènes ou de nocivité autre ou des micro-organismes infectieux. La poussière ou les produits chimiques qui en émanent au cours de la manipulation et de l'incubation peuvent engendrer des risques pour la santé sur les lieux de travail. De plus, les plantes testées pourraient absorber des produits chimiques provenant du sol et il convient également d'envisager de prendre des mesures de sécurité lors de la manipulation de ces plantes.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode de détermination de l'inhibition de la croissance et de la capacité de reproduction des plantes supérieures par les sols dans des conditions contrôlées. Deux espèces sont recommandées: une variante de colza à cycle rapide (*Brassica rapa* CrGC syn. Rbr) et l'avoine (*Avena sativa*). Il convient que la durée de l'essai soit suffisante pour inclure les points de mesure chroniques qui apportent la preuve de la capacité de reproduction des plantes soumises à l'essai.

En utilisant des sols d'essai naturels (provenant, par exemple, de sites contaminés ou de sols réhabilités), et en comparant le développement des plantes testées dans ces sols à celui des plantes testées dans les sols de référence ou les sols témoins standard, l'essai peut permettre d'évaluer la qualité du sol, notamment sa fonction d'habitat des plantes.

L'Annexe A décrit des modifications permettant d'exploiter l'analyse chronique des plantes pour les essais de substances ou de produits chimiques incorporés dans le sol. En préparant une série de dilutions d'une substance dans des sols témoins standard, il est possible de déterminer les mêmes points de mesure afin d'évaluer la toxicité chronique de ces substances ou de ces produits chimiques. Cette méthode n'est pas applicable aux substances volatiles, c'est-à-dire celles 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 à 25 °C.

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 11268-1:1993, *Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (Eisenia fetida) — Partie 1: Détermination de la toxicité aiguë en utilisant des substrats de sol artificiel*

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

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

ISO 15176:2002, *Qualité du sol — Caractérisation de la terre excavée et d'autres matériaux du sol destinés à la réutilisation*

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

ASTM D1076:2002, *Standard Specification for Rubber-Concentrated, Ammonia Preserved, Creamed, and Centrifuged Natural Latex*

3 Termes et définitions

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

3.1

sol artificiel

mélange de sable, de kaolinite, de tourbe et de carbonate de calcium

NOTE L'ISO 11268-1 décrit ce type de sol pour des essais de toxicité utilisant des vers de terre. Il convient de ne pas utiliser de sable de quartz pur, de laine minérale, de vermiculite ou d'autres substrats de synthèse.

3.2

biomasse

ensemble des pousses, des fleurs et des gousses

NOTE 1 La biomasse est exprimée en masse sèche par plante ou, si nécessaire, en masse sèche par pot.

NOTE 2 Au cours de la période d'essai, certaines plantes testées peuvent atteindre différents stades de croissance et leur teneur en eau peut varier lors de leur récolte. La masse sèche représente donc mieux la biomasse produite durant la croissance.

3.3

concentration

masse de substance expérimentée par quantité de sol

ISO 22030:2005
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>

NOTE La concentration est exprimée, en fraction massique, en milligrammes par kilogramme (mg/kg) de sol sec.

3.4

contaminant

substance ou agent présent(e) dans le sol et résultant de l'activité humaine

[ISO 15176:2002]

3.5

sol témoin

substrat non contaminé utilisé comme témoin et comme milieu de préparation des dilutions sériées avec les sols ou les produits chimiques d'essai et permettant la croissance de plantes saines

NOTE Des sols standard artificiels et naturels ou de référence peuvent être utilisés s'il est possible d'y escompter une croissance sans entrave des plantes testées. En tout état de cause, les différences de niveau nutritif entre un sol d'essai et un sol témoin peuvent avoir une incidence sur le profil dose-réponse. Un sol témoin beaucoup plus riche en substances nutritives qu'un sol d'essai peut, par exemple, donner un résultat positif erroné (c'est-à-dire que le sol d'essai semble avoir un effet «toxique» sur la croissance des plantes testées). Dans le cas d'un sol témoin plus pauvre en substances nutritives qu'un sol d'essai, on peut s'attendre à un phénomène d'hormesis (voir 3.9) à des concentrations faibles de mélange, voire même à une relation dose/effet inversée, si l'apport en substances nutritives devient le principal effet. La présente Norme internationale ne donne pas de valeurs numériques pour les substances nutritives.

3.6

concentration des effets

CE_x

concentration (fraction massique) d'une substance ou d'un produit chimique d'essai ou pourcentage (fraction massique) d'un sol d'essai pour lequel un effet de x % par rapport au témoin est observé

NOTE La concentration des effets (CE_x) est exprimée en milligrammes par kilogramme. Dans le cas d'essais de substances ou de produits chimiques, CE_x est exprimée en masse de substance expérimentée par masse sèche de sol et, dans le cas d'essais de sols, en pourcentage de masse sèche de sol d'essai par masse sèche de mélange de sols.

3.7

germination

développement du germe contenu dans une graine, mettant fin à la période de latence

NOTE La germination est exprimée en pourcentage de plantules qui germent par rapport aux pots témoins.

3.8

fonction habitat

aptitude des sols et des matériaux du sol à servir d'habitat aux micro-organismes, aux plantes, aux animaux vivants dans le sol et leurs interactions (biocénose)

[ISO 15799]

3.9

hormesis

amélioration de la germination, de la croissance ou de la survie des plantules (ou autre réponse des plantes testées), à des concentrations faibles de substances ou de produits chimiques ou de mélanges de sols toxiques en cas d'application à des niveaux plus élevés que celui du témoin [1]

3.10

concentration minimale avec effet observé

CMEO

concentration (fraction massique) testée la plus faible d'une substance expérimentée dans le sol pour laquelle on observe un effet statistiquement significatif pour un point de mesure donné ($p < 0,05$) par rapport au témoin

Voir CSEO (3.11)

NOTE Par analogie, le terme CMEO est employé pour la concentration de mélange la plus faible soumise à essai dans un sol de référence ou un sol témoin standard, à laquelle on observe un effet statistiquement significatif. La CMEO est exprimée en masse de substance expérimentée par masse de sol sec ou, dans le dernier cas, en pourcentage de masse sèche de sol d'essai par masse sèche de mélange de sols. Toutes les concentrations d'essai supérieures à la CMEO ont un effet nocif égal ou supérieur à celui observé à la CMEO. S'il n'est pas possible de respecter cette condition, il convient de donner une explication sur le mode de choix de la CMEO et de la concentration sans effet observé.

3.11

concentration sans effet observé

CSEO

concentration (fraction massique) de substance expérimentée ou proportion de mélanges de sols immédiatement inférieure à la CMEO qui n'a pas d'effet statistiquement significatif, comparé au témoin ($p < 0,05$)

Voir CMEO (3.10)

3.12

sol de référence

sol non contaminé spécifique d'un site (par exemple collecté à proximité d'un site contaminé), ayant des propriétés analogues (concentrations en substances nutritives, pH, teneur en carbone organique et texture) à celles du sol d'essai

3.13

concentration de mélange de sols

rapport entre la masse sèche de sol d'essai et la masse sèche de sol de référence/témoin

NOTE Elle est exprimée en pourcentage.

3.14

sol standard

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

EXEMPLE Sols euro, sol artificiel.

NOTE Les propriétés des sols standard peuvent différer de celles du sol d'essai.

4 Principe

La présente Norme internationale décrit un essai de plantes comportant des points de mesure aigus et chroniques. L'essai mesure la germination, la croissance précoce et la reproduction de deux espèces de plantes terrestres (*Avena sativa* et une variété à cycle rapide de *Brassica rapa* sont recommandées). L'essai compare les réponses des plantes dans un sol d'essai et/ou celles d'une série de dilutions avec un sol témoin. Cette méthode peut également être utilisée pour les essais de substances ou de produits chimiques en appliquant diverses concentrations de la substance expérimentée à un sol témoin standard. Les graines de deux espèces de plantes sont plantées dans des pots contenant le sol/les mélanges de sols et dans des pots témoins contenant un sol de référence ou standard. Les pots sont placés dans un local à température et lumière contrôlées ou chambre de croissance. Ils sont humidifiés à l'aide de mèches. À l'issue de la germination des plantes, on détermine les taux de germination et les plantes sont éclaircies pour n'en conserver qu'un nombre spécifié. Après deux semaines, une partie des plantes est récoltée afin de déterminer leur biomasse. Trois à quatre semaines (*Brassica rapa* à cycle rapide) ou cinq à six semaines plus tard (*Avena sativa*), les plantes restantes sont récoltées afin de mesurer les effets caractéristiques de leur potentiel de reproduction. Dans tous les cas, il convient que la durée de l'essai soit suffisante pour déterminer les points de mesure de reproduction (par exemple, le nombre ou la biomasse des fleurs ou des graines ou encore des fruits).

Généralement, 10 graines par pot sont semées dans quatre pots d'essai en réplicat. Les plantes sont éclaircies à raison de 8 par pot et, dans chacun, quatre plantes sont récoltées le 14^{ème} jour puis à la fin de l'essai. Si moins de 8 plantes ont levé dans un pot, le nombre de plantes récoltées au 14^{ème} jour doit être réduit de manière à laisser quatre plantes pour la récolte finale.

L'inhibition relative dans les sols d'essai non dilués est déterminée afin d'évaluer si le sol convient aux plantes. En se basant sur une série de dilutions, il est en outre possible de calculer les valeurs de CSEO, CME0 et CE_x à partir des courbes dose/effet, la dernière étant requise en cas d'essai de substances ou produits chimiques.

5 Matériaux

5.1 Plantes testées

Une espèce monocotylédone et une espèce dicotylédone sont soumises à essai en parallèle. L'avoine (*Avena sativa*) est recommandée comme espèce monocotylédone et *Brassica rapa* comme espèce dicotylédone.

Il est vivement recommandé d'utiliser une variété de colza à cycle rapide (*Brassica rapa* CrGC syn. Rbr) afin de raccourcir la période d'essai¹⁾. La floraison débute au bout de deux semaines et la production de graines peut être déterminée au bout de cinq semaines environ.

1) Des kits de graines et de plantes à croissance rapide, dans le cadre du «Wisconsin Fast Plants Program» (Programme de croissance rapide de plantes du Wisconsin) sont des produits appropriés distribués par la société «Carolina Biological Supply Company». Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

D'autres espèces pourraient être sélectionnées, par exemple dans la liste donnée dans l'ISO 11269-2, de même que des plantes ayant des caractéristiques physiologiques spécifiques comme les plantes C-4 (maïs, canne à sucre, millet), des plantes en symbiose avec les bactéries fixant l'azote (par exemple *Fabaceae*) ou des plantes ayant une importance écologique ou économique dans certaines régions du monde. Ces plantes doivent croître sans entrave dans le sol témoin, dans les conditions spécifiées. Il convient de sélectionner uniquement les plantes qui supportent les propriétés des sols d'essai et les conditions d'essai (outre leur contamination chimique). Il convient, par exemple, de ne pas utiliser une espèce sensible à de faibles valeurs du pH pour les essais de sols forestiers à faible pH. L'avoine et le colza à cycle rapide poussent dans un sol sablonneux ou argileux, ayant une teneur en eau variable et un pH dans une plage de valeurs comprises entre 5,0 et 7,5. Il convient de ne pas associer à une hydratation par mèche les espèces qui ne supportent pas les sols humides. Les motifs de sélection d'espèces autres que l'avoine et le colza doivent être justifiés dans le rapport d'essai.

5.2 Sol et stockage du sol

5.2.1 Généralités

La description des méthodes d'échantillonnage représentatif de sols provenant de sites contaminés n'entre pas dans le domaine d'application de la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage appropriée est donnée dans l'ISO 10381-6 ^[13].

L'essai chronique sur plantes peut être réalisé pour évaluer le potentiel toxique de sols naturels provenant de divers sites contaminés. Il peut également permettre d'évaluer la qualité de sols réhabilités. Après tamisage, il convient que les sols sélectionnés aient un pH qui se situe dans une plage non toxique pour les plantes testées, par exemple entre 5,0 et 7,5 pour *Brassica rapa* et *Avena sativa*. Les sols d'essai doivent être passés au tamis de 4 mm à 5 mm d'ouverture de maille afin d'éliminer les fragments grossiers puis soigneusement homogénéisés. Si nécessaire, le sol peut être séché à l'air sans chauffage avant tamisage. Il convient que le stockage des sols d'essai soit aussi court que possible. Il est recommandé de stocker les sols à 4 °C environ, dans des récipients réduisant les pertes de contaminants du sol par volatilisation et sorption dans les parois du récipient.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/90cd9c8b-3fc1-4f37-ae80-c3591ba424f8/iso-22030-2005>

5.2.2 Sol d'essai

La capacité de rétention d'eau doit être mesurée pour tous les mélanges utilisés lors de l'essai.

Il convient également que les sols d'essai soient caractérisés par:

- la texture (sable, limon, argile);
- le pH;
- la salinité;
- le carbone organique;
- les quantités totales et solubles dans l'eau de potassium, d'azote et de phosphore.

Il convient de ne pas corriger le pH du sol. La mesure des contaminants du sol (métaux lourds, hydrocarbures, pesticides, explosifs, PCB, etc.) n'est pas obligatoire.

Il convient de vérifier que le sol d'essai absorbe suffisamment l'eau par les mèches (voir 5.4). Une hydrophobicité ou un mauvais transport de l'eau peuvent apparaître avec les sols sablonneux, les sols fortement contaminés par les hydrocarbures, voire même les sols à haute teneur en argile qui ont tendance à se compacter, même s'ils ont une capacité élevée de rétention d'eau (déterminée après avoir préalablement noyé les sols). Afin de garantir le fonctionnement du système d'arrosage, il convient de procéder sur deux réplicats à un essai préalable portant sur tous les sols sélectionnés pour l'essai afin de déterminer si l'arrosage par mèche est suffisant ou si un arrosage manuel est nécessaire.