

---

---

**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**

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.itteh.ai)

*Soil quality — Sampling —*

<https://standards.itteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5e165b4/iso-10381-6-2009>

*Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil under aerobic conditions for the assessment of microbiological processes, biomass and diversity in the laboratory*



**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 10381-6:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5c165b4/iso-10381-6-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5c165b4/iso-10381-6-2009>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2009

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

**Sommaire**

Page

Avant-propos .....	iv
Introduction .....	v
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>1</b>
<b>3.1</b> <b>Choix des sites d'échantillonnage</b> .....	<b>1</b>
<b>3.2</b> <b>Description du lieu de prélèvement</b> .....	<b>2</b>
<b>3.3</b> <b>Conditions d'échantillonnage</b> .....	<b>2</b>
<b>3.4</b> <b>Méthodes d'échantillonnage</b> .....	<b>2</b>
<b>3.5</b> <b>Étiquetage des échantillons</b> .....	<b>2</b>
<b>3.6</b> <b>Conditions de transport</b> .....	<b>2</b>
<b>3.7</b> <b>Traitement du sol</b> .....	<b>2</b>
<b>3.8</b> <b>Conditions et durées de conservation</b> .....	<b>3</b>
<b>3.9</b> <b>Pré-incubation</b> .....	<b>4</b>
<b>4</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>4</b>
Bibliographie .....	6

iTech STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

ISO 10381-6:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5c165b4/iso-10381-6-2009>

## 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 10381-6 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 10381-6:1993), dont les paragraphes 3.6, 3.7 et 3.8 et l'Article 4 ont fait l'objet d'une révision technique. Le Tableau 1 a été ajouté.

L'ISO 10381 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Échantillonnage*:

- *Partie 1: Lignes directrices pour l'établissement des programmes d'échantillonnage*
- *Partie 2: Lignes directrices pour les techniques d'échantillonnage*
- *Partie 3: Lignes directrices relatives à la sécurité*
- *Partie 4: Lignes directrices pour les procédures d'investigation des sites naturels, quasi naturels et cultivés*
- *Partie 5: Lignes directrices pour la procédure d'investigation des sols pollués en sites urbains et industriels*
- *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*
- *Partie 7: Lignes directrices pour l'échantillonnage des gaz du sol*
- *Partie 8: Lignes directrices pour l'échantillonnage des stocks de réserve*

## Introduction

Les sols sont à la fois complexes et hétérogènes car ils se composent d'éléments biotiques et abiotiques se présentant sous des combinaisons diverses. Il convient donc de tenir compte de l'état du sol, de sa collecte à l'aboutissement d'une expérience, tout en observant les répercussions que ces pratiques peuvent avoir sur sa microflore. Il est bien connu que la température, la teneur en eau, la disponibilité en oxygène et la durée de conservation affectent la microflore du sol et par conséquent, les processus microbiens qui en résultent.

Les sols peuvent néanmoins être employés de manière efficace dans des dispositifs de laboratoire afin d'étudier des processus microbiens, à condition de prendre en considération les dynamiques de la microflore vivante. La présente partie de l'ISO 10381 propose des lignes directrices relatives à la collecte, la manipulation et la conservation de sols destinés principalement à l'étude en laboratoire de l'activité microbienne aérobie. Elle décrit comment réduire les conséquences des différences de température, de la teneur en eau et en oxygène disponible sur les processus aérobies afin d'obtenir des mesures reproductibles en laboratoire [10], [11].

## iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 10381-6:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5c165b4/iso-10381-6-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5c165b4/iso-10381-6-2009>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 10381-6:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5c165b4/iso-10381-6-2009>

# 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

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 10381 propose des lignes directrices pour la collecte, la manipulation et la conservation, dans des conditions aérobies, de sols destinés à des essais en laboratoire.

La présente partie de l'ISO 10381 s'applique principalement aux sols tempérés. Les sols collectés de lieux où les climats sont extrêmes (par exemple le pergélisol, les sols tropicaux) peuvent nécessiter une manipulation particulière.

### 2 Termes et définitions

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

#### 2.1

##### **aérobic**

description d'un état se caractérisant par une libre disponibilité de l'oxygène moléculaire

#### 2.2

##### **anaérobic**

description d'un état se caractérisant par une absence d'oxygène moléculaire

#### 2.3

##### **teneur en eau pondérable**

masse d'eau qui s'évapore du sol lorsqu'il est séché jusqu'à masse constante à 105 °C, divisée par la masse de sol sec et multipliée par 100

[ISO 11465:1993, 3.2]

### 3 Mode opératoire

#### 3.1 Choix des sites d'échantillonnage

Il convient de choisir les sites de prélèvement des échantillons en fonction des objectifs de l'étude.

Il convient d'identifier et d'enregistrer ces lieux sur une carte, par exemple en prenant comme point de repère des éléments statiques, faciles à reconnaître, sur une carte de référence détaillée ou par SIG (Système d'Information Géographique). Dans la mesure du possible, il convient de marquer les emplacements de manière qu'ils puissent être utilisés pour des essais comparatifs ou pour la réplication des échantillons.

### 3.2 Description du lieu de prélèvement

Le choix du site de prélèvement de sol dépend de l'étude particulière envisagée et il est toujours préférable de connaître l'historique du site de prélèvement. Il convient donc de faire une description précise du site en question et de fournir son historique. Il convient également d'enregistrer et de noter dans le rapport d'essai les détails relatifs à la couverture végétale, à la morphologie du site de prélèvement (par exemple s'il s'agit d'une zone plate, de pentes, d'inclinaisons), aux traitements chimiques et biologiques ainsi qu'à toute pollution accidentelle.

### 3.3 Conditions d'échantillonnage

Il convient, dans la mesure du possible, de prélever le sol nécessaire aux études en laboratoire sur le site avec une teneur en eau du sol facilitant son tamisage. Il convient donc d'éviter de prélever des échantillons pendant de longues périodes (un mois par exemple), de sécheresse, de gel ou d'inondation ou juste après, à moins que les besoins de l'étude n'exigent de procéder différemment. Si les essais en laboratoire ont pour objet la surveillance du lieu de prélèvement, il convient de respecter les conditions telles qu'elles existent sur le terrain. Il est possible de congeler des échantillons de sol avant d'entreprendre des analyses (par exemple l'oxydation d'ammonium).

### 3.4 Méthodes d'échantillonnage

La technique d'échantillonnage dépend des objectifs de l'étude. S'il est nécessaire d'utiliser du sol agricole aérobie, il est en général échantillonné à la profondeur de labour. Il convient d'éliminer la couverture végétale, la litière, les racines apparentes, les morceaux de plante importants ou les débris ligneux et la faune du sol apparente afin de réduire l'apport de carbone organique frais au sol. En effet, l'introduction de composés organiques provenant de racines ou d'autres sources peut provoquer des changements imprévisibles de l'activité et de la composition de la microflore du sol. Si les sols naturels présentent des horizons différents, il convient de prélever des échantillons de chacun de ces horizons.

### 3.5 Étiquetage des échantillons

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fa740578-9049-494e-8a90-1c9dc5c165b4/iso-10381-6-2009>

Il convient d'étiqueter et d'identifier clairement et sans ambiguïté les récipients contenant chaque échantillon de façon à pouvoir faire le lien avec leur lieu de prélèvement. Il convient d'éviter l'utilisation de récipients qui absorbent l'eau du sol ou qui libèrent des composés, par exemple des solvants ou des plastifiants, dans le sol.

### 3.6 Conditions de transport

Il convient de transporter les échantillons de façon à limiter les modifications de la teneur en eau du sol, et il convient de les conserver à l'abri de la lumière et en présence d'air. En général, un sac en polyéthylène entrouvert convient très bien au transport. Il convient d'éviter les conditions environnementales extrêmes et de conserver le sol le plus frais possible, mais il est impératif qu'il ne se s'assèche pas ou qu'il ne s'engorge pas d'eau. Il convient d'éviter l'exposition du sol à la lumière pendant une durée prolongée car cela favorise la croissance d'algues à la surface du sol. Il convient, dans la mesure du possible, d'éviter de le tasser.

Les échantillons de sol destinés à l'analyse d'ADN ou d'ARN doivent être congelés rapidement et sur place à l'aide de neige carbonique. Au cours du transport au laboratoire, de la neige carbonique doit être utilisée pour maintenir la température des échantillons de sol destinés à l'analyse d'ARN. Quant aux échantillons destinés à l'analyse d'ADN, ils peuvent être transportés dans une glacière, à moins que les circonstances ne fassent qu'ils nécessitent un transport dans la neige carbonique également.

### 3.7 Traitement du sol

Il convient de traiter le sol dans les plus brefs délais après l'échantillonnage. Il convient d'enlever la végétation, la faune du sol la plus importante et les cailloux, avant de le passer au tamis de 2 mm. Ce tamisage à 2 mm est recommandé car il facilite les échanges gazeux entre les particules et permet donc de conserver la nature aérobie du sol. Il permet également de se débarrasser des petits cailloux, de la faune et des débris végétaux. Il convient de tamiser à 5 mm et à l'état humide certaines matières organiques comme les couches de mor ou la tourbe qui ont des difficultés à passer au tamis de 2 mm. Cela nécessite une opération manuelle et la

qualité du matériau tamisé dépend de la personne qui l'effectue. Si le sol est trop humide pour être tamisé, il convient de l'étaler et de le placer dans la mesure du possible, sous un léger courant d'air, pour favoriser sa dessiccation uniforme. Il convient d'écraser le sol entre les doigts et de le retourner fréquemment pour éviter qu'il ne se dessèche trop en surface. En général, il convient de réaliser cette opération à température ambiante. Si le séchage est nécessaire, il convient de ne pas sécher le sol plus que nécessaire pour faciliter son tamisage. D'ordinaire, le séchage des sols n'est pas recommandé, bien que le séchage à l'air et la ré-humidification soit une contrainte courante pour les communautés microbiennes de l'horizon superficiel des sols. Il a été prouvé que les phénomènes de dessiccation et de ré-humidification peuvent induire des changements considérables de la dynamique du carbone et de l'azote microbiens qui peuvent persister plus d'un mois après la dernière contrainte [12]. La ré-humidification après dessiccation provoque des pics de respiration et la prolifération de certaines populations bactériennes [15]. En cas de conservation à plus long terme suivant ce traitement, il convient de prendre en compte les paramètres énoncés en 3.8.

### 3.8 Conditions et durées de conservation

Il convient de conserver les échantillons à l'abri de la lumière à  $(4 \pm 2)$  °C et en présence d'air. En général, un sac en polyéthylène entrouvert ou un objet s'en rapprochant convient très bien. Il convient de s'assurer que le sol n'est pas conservé en quantité qui favoriserait l'apparition de conditions anaérobies au fond des récipients de conservation. Il convient de traiter le sol (voir 3.7) avant sa conservation de manière à assurer des conditions aérobies stables. Il est impératif que le sol ne puisse pas sécher ou s'engorger d'eau au cours de la conservation. Il convient également de ne pas empiler les échantillons les uns sur les autres. Il est préférable d'utiliser les sols le plus rapidement possible après échantillonnage et de limiter les retards liés au transport. Si la conservation des échantillons est inévitable, il convient qu'elle n'excède pas trois mois, à moins de fournir la preuve d'une activité microbienne. Il convient de congeler les échantillons de sol soumis à une analyse ADN à  $-20$  °C s'ils ne sont pas analysés immédiatement. Pour une analyse ARN, il convient de congeler les échantillons à  $-80$  °C.

S'il faut conserver les échantillons de sol sur une durée plus longue (supérieure à trois mois), il est possible de les congeler à  $-20$  °C, à  $-80$  °C ou à  $-180$  °C, bien que cela ne soit pas recommandé en général. Des exemples de conditions de conservation appropriées pour différents objectifs d'essai, sont donnés dans le Tableau 1. Il a été démontré sur de nombreux échantillons de sol (issus d'endroits où le climat est tempéré, que la conservation à  $-20$  °C pendant plus de 12 mois n'inhibe pas l'activité microbienne (par exemple l'oxydation d'ammonium). De plus, les échantillons de sols destinés à l'analyse des acides gras phospholipidiques (PLFA) et de l'ADN peuvent être conservés à  $-20$  °C pendant un à deux ans, tandis que les échantillons destinés à l'analyse d'ARN peuvent être conservés à  $-80$  °C pendant la même période. Il est recommandé de congeler par choc thermique à l'aide d'azote liquide les échantillons soumis aux analyses d'ADN, d'ARN et de PLFA/PLEL.

Des durées de conservation plus longues sont principalement nécessaires si l'influence des polluants ajoutés sur les microbes du sol et sur les processus microbiens est testée sur un échantillon de sol identique ou si la structure de la communauté des sols (PLFA, ADN, ARN) est évaluée à un moment différent au cours de l'année. Dans ces cas-là, le temps nécessaire aux analyses peut facilement dépasser trois mois (essai chimique, polluant). La conservation à  $4$  °C n'est pas adaptée aux analyses de la structure de la microflore.