

---

---

**Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de  
croissance sur la macro algue d'eaux  
marine et saumâtre *Ceramium tenuicorne***

*Water quality — Growth inhibition test with the marine and brackish  
water macroalga Ceramium tenuicorne*

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

[ISO 10710:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-  
cc2d34ed1429/iso-10710-2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010)



**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 10710:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2010

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
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Termes et définitions</b> .....	1
3 <b>Principe</b> .....	2
4 <b>Organismes d'essai, nutriments, milieux et matériaux</b> .....	3
4.1 <b>Organismes d'essai</b> .....	3
4.2 <b>Eau de mer naturelle et artificielle</b> .....	3
4.3 <b>Nutriments</b> .....	4
4.4 <b>Milieu</b> .....	5
5 <b>Culture</b> .....	6
6 <b>Appareillage</b> .....	7
7 <b>Mode opératoire</b> .....	7
7.1 <b>Algues</b> .....	7
7.2 <b>Préparation de l'eau de dilution</b> .....	8
7.3 <b>Choix des concentrations d'essai</b> .....	9
7.4 <b>Démarrage de l'essai</b> .....	9
7.5 <b>Incubation</b> .....	9
7.6 <b>Mesurage</b> .....	10
7.7 <b>Essai avec substances de référence</b> .....	10
8 <b>Critères de validité</b> .....	10
9 <b>Évaluation des résultats</b> .....	10
9.1 <b>Calculs</b> .....	10
9.2 <b>Détermination de la <math>C_xE_r</math></b> .....	11
9.3 <b>Expression des résultats</b> .....	11
9.4 <b>Interprétation des résultats</b> .....	11
10 <b>Reproductibilité</b> .....	11
11 <b>Rapport d'essai</b> .....	12
<b>Annexe A (informative) Modèle de croissance de <i>Ceramium tenuicorne</i> aux salinités 7S et 20S</b> .....	13
<b>Annexe B (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires avec <i>Ceramium tenuicorne</i> à la salinité 20S</b> .....	16
<b>Bibliographie</b> .....	17

## 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 10710 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

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

[ISO 10710:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010>

## Introduction

La macro algue rouge *Ceramium tenuicorne* appartient aux Ceramiaceae, Rhodophyta. L'espèce peut être utilisée comme organisme modèle pour l'écosystème côtier. Cette espèce existe dans les eaux marines tempérées des hémisphères nord et sud et elle est donc représentative de grandes zones. En tant que producteurs primaires, les macro algues sont une source de nourriture pour de nombreux invertébrés et servent d'habitat aux bactéries, invertébrés et aux juvéniles de poissons. Elles servent aussi de substrat à de nombreuses espèces de poissons ovipares.

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

[ISO 10710:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010>

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

ISO 10710:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010>

# Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de croissance sur la macro algue d'eaux marine et saumâtre *Ceramium tenuicorne*

**AVERTISSEMENT** — Il convient que l'utilisateur de la présente Norme internationale connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. La présente Norme internationale n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité, et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur.

**IMPORTANT** — Il est absolument essentiel que les essais réalisés conformément à la présente Norme internationale soient exécutés par un personnel ayant reçu une formation adéquate.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination de l'inhibition de la croissance de la macro algue *Ceramium tenuicorne* par des substances et des mélanges contenus dans l'eau de mer ou par des eaux usées dont les salinités sont comprises entre 4S et 32S. Cette méthode est applicable à des substances qui sont facilement hydrosolubles.

**NOTE** Les effets inhibiteurs des matériaux organiques et inorganiques faiblement solubles, des composés volatils, des métaux, des eaux résiduaires, des échantillons d'eau de mer et des éluviats de sédiments peuvent être soumis à essai, avec des modifications telles que celles décrites dans l'ISO 14442<sup>[4]</sup> et dans l'ISO 5667-16<sup>[2]</sup>.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010>

## 2 Termes et définitions

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

### 2.1

#### longueur de l'algue

longueur depuis la première division jusqu'au bourgeon le plus distant de l'algue

**NOTE** La longueur de l'algue est exprimée en millimètres.

Voir Figure 1.

### 2.2

#### milieu témoin

combinaison de l'eau de dilution et/ou du milieu nutritif utilisée pour l'essai

[ISO 20079:2005<sup>[5]</sup>, 3.6]

### 2.3

#### lot témoin

milieu témoin, incluant les organismes utilisés pour l'essai

[ISO 20079:2005<sup>[5]</sup>, 3.5]

## 2.4

### concentration effective

$C_{x,E_r}$

concentration de l'échantillon pour essai à laquelle un effet de  $x$  % est mesuré par rapport au témoin

[ISO 20079:2005<sup>[5]</sup>, 3.9]

## 2.5

### milieu de croissance

mélange d'eau de mer naturelle et de nutriments utilisé pour les précultures des algues, dans lequel les cellules algales sont incubées

NOTE Adapté de l'ISO 8692:2004<sup>[3]</sup>, 3.3.

## 2.6

### taux de croissance

$\mu$

(qualité de l'eau) taux proportionnel de croissance en longueur de l'algue par jour

NOTE Voir l'Article 9.

## 2.7

### salinité

#### salinité pratique

$S$

(eau de mer) rapport  $K_{15}$  entre la conductivité électrique de l'échantillon d'eau de mer à la température de 15 °C et sous une pression d'une atmosphère normale et celle d'une solution de chlorure de potassium dont la fraction massique de KCl est de  $32,4356 \times 10^{-3}$ , à la même température et à la même pression

NOTE Adapté de la Référence [14], p. 28.

[ISO 10710:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010>

## 2.8

### milieu d'essai

mélange d'eau de mer, de nutriments et d'échantillon pour essai

NOTE Adapté de l'ISO 8692:2004<sup>[3]</sup>, 3.5.

## 2.9

### échantillon pour essai

(qualité de l'eau) échantillon aqueux, par exemple substance chimique, mélange de produits chimiques ou eaux résiduaires, pour lequel les effets inhibiteurs sur la croissance des algues doivent être déterminés

NOTE Adapté de l'ISO 8692:2004<sup>[3]</sup>, 3.4.

## 3 Principe

Les bourgeons d'algues provenant de monocultures de gamétophytes femelles de *Ceramium* sont cultivés dans des conditions d'essai définies et dans un milieu défini contenant une plage de concentrations de l'échantillon pour essai. Les solutions d'essai sont incubées pendant une période de sept jours après laquelle l'augmentation de longueur est mesurée et le taux de croissance calculé. L'inhibition de la croissance est déterminée comme une réduction du taux de croissance par rapport aux cultures témoin cultivées dans des conditions identiques.

Lorsque la toxicité des échantillons est comparée à celle d'autres produits chimiques ou d'eaux usées, les essais peuvent être réalisés dans de l'eau de mer artificielle. Si l'essai est destiné à évaluer et à prédire les effets pour une masse d'eau réceptrice spécifique, les essais peuvent être effectués avec une algue adaptée à la salinité de la masse d'eau réceptrice. Dans ce cas, de l'eau de mer naturelle provenant d'un site non contaminé ayant les mêmes propriétés est utilisée.

## 4 Organismes d'essai, nutriments, milieux et matériaux

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

### 4.1 Organismes d'essai

Utiliser l'un des clones d'algues marines suivants:

- a) *Ceramium tenuicorne* Kützing Waern (clone 7S originaire de la mer Baltique);
- b) *C. tenuicorne* Kützing Waern (clone 20S et 30S originaire du fjord d'Oslo).

Ces algues sont des espèces de macro algues largement distribuées (phylum Rhodophyta) dans les zones estuariennes et côtières. Les souches recommandées sont disponibles en cultures unialgales, non axéniques<sup>1)</sup>.

NOTE 1 Cet essai d'inhibition de croissance est fondé sur deux clones, considérés auparavant comme deux espèces différentes. Ces espèces étaient la *Ceramium strictum* Harvey sensu Kylin et l'espèce d'eau saumâtre *C. tenuicorne* Kützing Waern. Les données complètes sur le croisement (Références [11] et [12]) et l'ADN (Référence [10]) ont montré que les deux entités appartiennent à la même espèce, avec *C. tenuicorne* comme nom valide. Le clone marin (anciennement *C. strictum*) utilisé dans cet essai a été isolé en 1973 et est originaire du fjord d'Oslo (salinité 20S à 25S). Il est maintenu en culture au laboratoire depuis plus de 30 ans. Le clone d'eau saumâtre a été isolé en 1995 et est originaire de la mer Baltique, à 20 km au sud du laboratoire Åsko dans le nord de la Baltique proprement dite (salinité de 6S à 7S). Les cultures peuvent être maintenues dans le milieu spécifié à l'Article 5. Un repiquage régulier est nécessaire.

NOTE 2 Parmi les algues rouges, des changements se produisent entre les générations haploïdes et diploïdes. Dans l'essai d'inhibition de croissance, la génération gamétophyte femelle est utilisée puisqu'elle a un type de croissance dichotomique régulier et le taux de croissance le plus rapide. Dans la nature, il est difficile de faire la distinction entre les plants mâles et femelles. Cela peut être fait au laboratoire où les spermatanges sont trouvés sur les branches des thalles mâles et les trichogynes peuvent être observés sur les extrémités des griffes des thalles femelles.

NOTE 3 Le clone originaire de la mer Baltique peut être adapté et utilisé dans les essais à des salinités comprises entre 4S et 12S. Le clone marin peut être utilisé comme organisme d'essai à des salinités comprises entre 12S et 32S.

### 4.2 Eau de mer naturelle et artificielle

#### 4.2.1 Généralités

L'eau de mer naturelle est utilisée pour la culture de l'algue et il convient d'employer soit de l'eau de mer naturelle soit de l'eau de mer artificielle pour l'essai. Le type d'eau de mer à utiliser dépend des objectifs de l'essai. Lorsque de l'eau de mer naturelle est utilisée, il faut veiller à ce qu'elle ne soit pas polluée. Il faut veiller en particulier à éviter la contamination de l'eau par des substances organiques ou inorganiques pendant la préparation et le stockage. Les équipements en cuivre ne doivent pas être utilisés.

#### 4.2.2 Eau de mer artificielle

Préparer les solutions mères pour l'eau de mer artificielle conformément au Tableau 1.

Démarrer avec environ un tiers du volume d'eau désiré, ajouter les produits chimiques pesés en quantité requise conformément au Tableau 1 et compléter au volume avec de l'eau.

1) Des fournisseurs appropriés sont: a) ITM, Department of Applied Environmental Research of Science, Stockholm University, S-106 91 Stockholm, Suède; b) University of Oslo, Department of Biology, P.O. Box 1066 Blindern, N-0316 Oslo, Norvège. 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 des fournisseurs ainsi désignés.

Cette solution mère d'une salinité de 100S (équivalant à 10 % en masse par volume) est stable pendant au moins six mois si elle est stockée à l'abri de la lumière à température ambiante. Avant utilisation, il convient de diluer la solution mère avec de l'eau jusqu'à la salinité désirée. Ajuster le pH à  $8,0 \pm 0,2$  avec une solution de HCl à 1 mol/l ou de NaOH à 1 mol/l.

L'eau de mer artificielle doit être stérilisée en autoclave ou par filtration stérile (porosité de 0,2 µm) avant utilisation. Procéder à une seconde vérification du pH après stérilisation, puis l'ajuster si nécessaire avant utilisation au pH  $8,0 \pm 0,2$  avec une solution de HCl à 1 mol/l ou de NaOH à 1 mol/l.

**Tableau 1 — Eau de mer artificielle avec une salinité de 10 % en masse par volume ou 100S**  
(adapté d'après la Référence [13])

Substance	Quantité pour 1 l de milieu g/l	Quantité pour 5 l de milieu g/5 l	Quantité pour 10 l de milieu g/10 l
NaCl	70,1	351	702
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	11,7	58,7	117
KCl	2,03	10,2	20,3
KBr	0,293	1,47	2,93
Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> · 10H <sub>2</sub> O	0,113	0,567	1,13
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	31,7	158	317
CaCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	6,6	33	66
SrCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,066	0,334	0,668

iteh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 10710:2010

4.2.3 Eau de mer naturelle <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8b3f7c8-53f4-4b7a-ba90-cc2d34ed1429/iso-10710-2010>

L'eau de mer naturelle doit provenir d'un site non contaminé. Filtrer pour retirer les particules plus grandes. Si nécessaire, diluer avec de l'eau. Il convient d'augmenter la salinité avec de l'eau de mer naturelle d'une salinité plus élevée ou avec de l'eau de mer artificielle (voir Tableau 1). Vérifier le pH et l'ajuster si nécessaire à  $8,0 \pm 0,2$  avec une solution de HCl à 1 mol/l ou de NaOH à 1 mol/l.

L'eau de mer naturelle doit être stérilisée en autoclave ou par filtration stérile (porosité de 0,2 µm) avant utilisation. Procéder à une seconde vérification du pH après stérilisation, puis l'ajuster si nécessaire avant utilisation au pH  $8,0 \pm 0,2$  avec une solution de HCl à 1 mol/l ou de NaOH à 1 mol/l.

NOTE 1 Un filtre en papier d'une porosité d'environ 30 µm est suffisant.

NOTE 2 L'eau de mer naturelle peut être stockée congelée à des températures inférieures à -18 °C pendant plusieurs années avant emploi.

4.3 Nutriments

Préparer les six solutions de nutriments dans de l'eau, selon les compositions données dans le Tableau 2.

Les solutions 1, 2, 3, 4 et 6 dans le Tableau 2 sont préparées dans des fioles jaugées à un trait (6.14) de 100 ml. Il est recommandé de préparer la solution mère 5 dans une fiole jaugée à un trait (6.14) de 1 l en raison des faibles masses des éléments à l'état de trace. La précipitation dans la solution des éléments à l'état de trace est évitée par ajustement au pH 8 avec du NaOH. La solution mère d'éléments à l'état de trace (solution 5) doit être diluée 10 fois avant utilisation dans le milieu de culture (voir Tableau 3). Après dilution, une solution 3 de fer fraîchement préparée peut être ajoutée à la solution 5 d'éléments à l'état de trace pour augmenter la stabilité du fer.

La solution de fer ne doit pas avoir plus d'un mois.

Ces solutions mères sont enfin diluées conformément au Tableau 3 pour obtenir les concentrations finales de nutriments dans les milieux de culture et d'essai. Les concentrations finales dans le milieu sont données dans les deux dernières colonnes du Tableau 2.

#### 4.4 Milieu

Les ajouts de solutions mères à l'eau salée pour la préparation du milieu sont présentés dans le Tableau 3. Pour la culture, pour les essais dans l'eau de mer naturelle et pour les essais dans l'eau de mer artificielle, les ajouts doivent être réalisés conformément aux colonnes A, B et C, respectivement.

**Tableau 2 — Solutions mères de nutriments** (adapté d'après la Référence [9])

Réactif	Concentration massique du composé	Teneurs dans le milieu après ajouts conformément au Tableau 3	
		concentration massique de l'élément  µg/l	concentration en quantité de matière de l'élément  µmol/l
<b>1 — Solution d'azote</b>			
KNO <sub>3</sub>	5 000 mg/100 ml	3 462 (N)	247 (N)
<b>2 — Solution de phosphore</b>			
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	680 mg/100 ml	775 (P)	25 (P)
<b>3 — Solution de fer</b>			
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	100 mg/100 ml	103 (Fe)	1,9 (Fe)
<b>4 — Solution de carbone</b>			
NaHCO <sub>3</sub>	5 760 mg/100 ml	16 480 (C)	1 370 (C)
<b>5 — Solution d'éléments à l'état de trace</b>			
Na <sub>2</sub> EDTA	6 000 mg/l		
MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	620 mg/l	10 (Mn)	0,18 (Mn)
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	250 mg/l	2,84 (Zn)	0,043 (Zn)
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	130 mg/l	2,58 (Mo)	0,027 (Mo)
CoSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	4 mg/l	0,042 (Co)	0,000 7 (Co)
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	4 mg/l	0,05 (Cu)	0,000 8 (Cu)
<b>6 — Solution de vitamines</b>			
Thiamine (B1)	10 mg/100 ml	50	
Cyanocobalamine (B12)	0,1 mg/100 ml	0,5	
Biotine	0,1 mg/100 ml	0,5	