
**Qualité du sol — Détermination des effets
des polluants sur la flore du sol —**

Partie 2:

**Effets des sols contaminés sur
l'émergence et la croissance des
végétaux supérieurs**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Soil quality — Determination of the effects of pollutants on soil flora —
Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth
of higher plants*

[ISO 11269-2:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-60898b82ca53/iso-11269-2-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-60898b82ca53/iso-11269-2-2012>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 11269-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-60898b82ca53/iso-11269-2-2012>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2012

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 Unités	3
5 Principe	3
6 Végétaux d'essai	3
7 Matériaux	4
7.1 Réipients pour essais	4
7.2 Sol	4
8 Équipement	6
9 Substance de référence	6
10 Mode opératoire	7
10.1 Dispositif expérimental	7
10.2 Préparation des pots	8
10.3 Préparation des semences	8
10.4 Conditions de croissance	8
10.5 Mise en route de l'essai	9
10.6 Manipulation au cours de l'essai	9
11 Critères de validité	10
12 Évaluation des résultats	10
12.1 Présentation des données	10
12.2 Expression des résultats	10
13 Analyse statistique	11
13.1 Généralités	11
13.2 Essai préliminaire	11
13.3 Essai définitif	11
14 Rapport d'essai	12
Annexe A (informative) Espèces végétales supplémentaires préconisées sur la base de résultats d'essai obtenus en appliquant la méthode d'essai «Environment Canada: EPS 1/RM/45»^[4]	14
Annexe B (informative) Données de phytotoxicité pour les composés de référence: trichloroacétate de sodium et acide borique	17
Annexe C (informative) Méthode recommandée pour mesurer la capacité de rétention en eau du sol ... 18	18
Annexe D (informative) Recommandations pour l'alimentation des sols en éléments nutritifs	19
Bibliographie	20

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 11269-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 11269-2:2005), qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 11269 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Détermination des effets des polluants sur la flore du sol*:

- *Partie 1: Méthode de mesurage de l'inhibition de la croissance des racines*
- *Partie 2: Effets des sols contaminés sur l'émergence et la croissance précoce des végétaux supérieurs*

ISO 11269-2:2012
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-60898b82ca53/iso-11269-2-2012>

Introduction

La présente partie de l'ISO 11269 décrit un mode opératoire d'évaluation de la qualité des sols de différentes origines porteurs de contaminations inconnues. L'évaluation des effets sur la croissance des végétaux est basée sur l'émergence et les effets inhibiteurs sur les premiers stades de croissance d'au moins deux espèces de végétaux supérieurs. Des orientations pour l'évaluation des effets potentiels de substances sur l'émergence et la croissance de plantules sont données dans les lignes directrices 208 de l'OCDE^[14].

La présente partie de l'ISO 11269 se réfère étroitement à l'ISO 22030 et s'appuie sur:

- a) les résultats du projet de recherche allemand «Entwicklung eines innovativen und technischen Instrumentariums zur Optimierung der ökotoxikologischen Bewertung von Böden im Hinblick auf Sanierungsziele und Schutzerfordernisse» (Développement d'un instrument technologique innovant pour l'évaluation des sols à des fins d'assainissement et en tenant compte des exigences de protection);
- b) les discussions dans le cadre du projet commun «Ecotoxicological Test Batteries» (batteries d'essais écotoxicologiques) qui fait partie du Groupe de recherche interdisciplinaire du BMFB (Ministère fédéral allemand de l'éducation et de la recherche) «Processes for the Bioremediation of Soil» (Procédés de bio-réhabilitation du sol)^[23];
- c) les résultats du Groupe de recherche interdisciplinaire ERNTE «Erprobung und Vorbereitung einer praktischen Nutzung ökotoxikologischer Testsysteme» (Mise à l'épreuve et préparation d'une application pratique de systèmes d'essais écotoxicologiques) du BMFB^[17];
- d) les résultats de l'essai interlaboratoires «Ecotoxicological Characterisation of Waste — Results and Experiences from an International Ring Test» (Caractérisation écotoxicologique des déchets — Résultats et expériences d'un essai interlaboratoires international)^[8].

La croissance des végétaux peut être fortement influencée par les propriétés du sol, telles que la texture, le pH ou le niveau d'éléments nutritifs. Lors des essais menés sur des sols naturels, on utilise comme substrat de mélange et substrat témoin soit des sols de référence (sols non contaminés ayant les mêmes propriétés que le sol d'essai), soit des sols standards. Dans le deuxième cas, les variations de croissance des végétaux peuvent résulter soit de la présence de contaminants dans le sol, soit de différences dans les propriétés du sol telles que les éléments nutritifs et la texture. Par conséquent, les résultats d'essais menés sur les sols sont moins faciles à interpréter que les résultats d'essais sur substances chimiques.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 11269-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-60898b82ca53/iso-11269-2-2012>

Qualité du sol — Détermination des effets des polluants sur la flore du sol —

Partie 2:

Effets des sols contaminés sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs

AVERTISSEMENT — Les sols contaminés peuvent contenir des mélanges inconnus de substances chimiques toxiques, mutagènes ou autrement dangereux ou des micro-organismes infectieux. La poussière ou les substances chimiques évaporées au cours de la manipulation et de l'incubation peuvent faire courir des risques sanitaires professionnels. De plus, les végétaux peuvent absorber des substances chimiques présentes dans le sol; il convient donc de prendre également des mesures de sécurité lors de la manipulation des végétaux d'essai.

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 11269 décrit une méthode d'évaluation de la qualité d'un sol inconnu et de la fonction d'habitat d'un sol en déterminant l'émergence et la réponse sur les premiers stades de croissance d'au moins deux espèces de végétaux terrestres par rapport à des sols de référence ou à des sols témoins standards. Elle est applicable à des sols de qualité inconnue, par exemple des sols provenant de sites contaminés, des sols amendés ou des sols après réhabilitation.

2 Références normatives

[ISO 11269-2:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-f93878c1d282/iso-11269-2-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-f93878c1d282/iso-11269-2-2012>

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 10381-6, *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*

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 effective et du taux de saturation en bases échangeables à l'aide d'une solution de chlorure de baryum*

ISO 11268-1, *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**

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

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 22030, *Qualité du sol — Méthodes biologiques — Toxicité chronique sur les plantes supérieures*

3 Termes et définitions

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

3.1 émergence

apparition du coléoptile ou du cotylédon au-dessus du sol

3.2 contaminant

substance ou agent présent dans le sol à la suite d'une activité humaine

[ISO 15176:2002^[28]]

3.3 hormèse

amélioration, par rapport au témoin, de l'émergence, de la croissance ou de la survie des plantules (ou autre réponse des végétaux d'essai) en présence de faibles concentrations de substances chimiques ou de mélanges de sols qui sont toxiques lorsqu'ils sont appliqués en concentrations plus élevées^{[1][2]}

3.4 concentration minimale avec effet observé ou concentration effective CMEO

plus faible pourcentage testé du mélange de sol soumis à essai avec un sol de référence ou un sol témoin standard d'une substance pour lequel un effet statistiquement significatif est observé

NOTE La CMEO est exprimée en pourcentage de la masse sèche du sol soumis à essai par rapport à la masse sèche du mélange de sols. Tous les mélanges d'essai au-dessus de la CMEO ont un effet nocif égal ou supérieur à l'effet observé à la CMEO. Si cette condition ne peut pas être satisfaite, il convient d'expliquer la façon dont la CMEO et la CSEO (3.5) ont été choisies.

3.5 concentration sans effet observé CSEO

pourcentage d'essai de sols immédiatement inférieur à la CMEO qui, comparé au témoin, n'a pas d'effet statistiquement significatif ($p < 0,05$)

3.6 concentration effective, x % CE_x

rapport effectif, x %
 RE_x

pourcentage du sol soumis à essai pour lequel un critère d'effet donné est inhibé de x % par rapport au témoin

3.7 rapport de mélange de sols

rapport entre le sol soumis à essai et le sol de référence/témoin dans un mélange de sols, exprimé en pourcentage sur la base de la masse sèche de sol

NOTE Différents rapports peuvent être appliqués dans une série de dilutions pour établir une relation dose-réponse

3.8 sol de référence

sol non contaminé d'un site spécifique (par exemple collecté dans le voisinage d'un site contaminé) avec des propriétés similaires (concentrations nutritives, pH, teneur en carbone organique et texture) à celles du sol d'essai

3.9

sol standard

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

EXEMPLE Euro-Soils^[11], sol artificiel^[14], LUFA soils¹⁾.

NOTE Les propriétés des sols standards peuvent différer du sol d'essai.

3.10

sol témoin

sol de référence ou sol standard utilisé comme contrôle et comme milieu pour préparer les séries de dilution avec des sols d'essai ou une substance de référence

NOTE CE₅₀ et CSEO sont toutes deux exprimées en milligrammes d'une substance d'essai par kilogramme (masse sèche) du substrat d'essai. Les mélanges de sols sont donnés en pourcentages basés sur une masse sèche de sol.

4 Unités

L'émergence est exprimée en pourcentage de plantules qui émergent par rapport aux pots témoins. La biomasse des pousses est exprimée sous forme de masse sèche par végétal ou, si nécessaire, sous forme de masse sèche par pot.

5 Principe

L'essai mesure l'émergence et les premiers stades de croissance d'au moins deux espèces de végétaux terrestres (une espèce monocotylédone et une espèce dicotylédone). L'essai compare le développement des végétaux dans un sol soumis à essai et/ou dans une série de mélanges de celui-ci avec un sol témoin. Les semences de l'espèce végétale sélectionnée sont plantées dans des pots contenant le sol/les mélanges de sols et dans des pots témoins contenant un sol de référence ou un sol standard. Les pots sont conservés dans des conditions de croissance adaptées aux espèces sélectionnées. Lorsque 50 % des plantules des pots témoins ont émergé, les taux d'émergence sont déterminés et les végétaux sont éclaircis de manière à obtenir un nombre spécifié. Après une période de deux à trois semaines, les végétaux restants sont recueillis pour déterminer leur biomasse. L'inhibition relative de la croissance dans un sol soumis à essai non dilué est déterminée pour évaluer sa fonction d'habitat pour les végétaux. Les valeurs de CSEO, de CMEO ou de CE_x et de RE_x peuvent, en outre, être calculées à partir de la courbe dose-réponse obtenue avec des mélanges du sol soumis à essai avec le sol témoin.

NOTE Un essai de croissance des végétaux peut inclure des critères d'effet d'essai supplémentaires, par exemple la longueur des pousses, la longueur des racines et la masse sèche des racines. Dans de nombreux cas, les critères d'effets relatifs aux racines sont plus sensibles que la masse sèche des pousses. Dans presque tous les cas, l'émergence est un critère d'effet moins sensible.

6 Végétaux d'essai

Une espèce monocotylédone et une espèce dicotylédone sont soumises à essai en parallèle. L'avoine (*Avena sativa*) est préconisée en tant qu'espèce végétale monocotylédone et la navette (*Brassica rapa*) et/ou le navet sauvage (*Brassica rapa* ssp. *rapa*) en tant qu'espèce végétale dicotylédone. L'avoine, la navette et le navet sauvage poussent aussi bien dans un sol sableux que dans un sol limoneux avec des teneurs en eau variables et des valeurs de pH allant de 5,0 à 7,5.

D'autres espèces peuvent être sélectionnées, par exemple des végétaux dotés de caractéristiques physiologiques spécifiques, tels que les végétaux de type C4 (maïs, canne à sucre, millet), des végétaux en symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote (par exemple Fabaceae) ou des végétaux ayant une signification écologique ou économique dans certaines régions du monde, à condition que ces espèces poussent sans

1) Les Euro-Soils, le sol artificiel et les LUFA soils sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.

contraintes dans le sol témoin et qu'elles remplissent les critères de validité de l'essai (Article 11). Il convient de ne sélectionner que les végétaux qui tolèrent les propriétés des sols soumis à essai et les conditions d'essai (hormis leur contamination chimique). Par exemple, il convient de ne pas utiliser une espèce sensible aux faibles pH pour tester des sols forestiers acides. Il convient de ne pas utiliser d'espèces qui ne tolèrent pas les sols humides en même temps qu'une hydratation par mèche. Les raisons qui président au choix d'espèces autres que l'avoine et le navet sauvage ou la navette doivent être justifiées dans le rapport d'essai.

NOTE Une liste d'espèces préconisées supplémentaires, y compris les critères de validité et les données relatives aux substances toxiques de référence pour différents critères d'effet, est présentée dans les Annexes A et B.

7 Matériaux

7.1 Récipients pour essais

Les récipients pour essais doivent être des pots en plastique ou des pots en terre cuite émaillés, non poreux, dont le diamètre intérieur au sommet mesure entre 85 mm et 95 mm.

Il est recommandé d'utiliser un système d'hydratation automatique, par exemple des pots équipés de mèches en fibre de verre, pour éviter le travail fastidieux d'ajustement manuel quotidien de l'humidité du sol, comme proposé dans l'ISO 22030. Dans ce cas, une ou deux mèche(s) en fibre de verre (\varnothing 1 mm) doit (doivent) être introduite(s) par le fond des récipients. Les mèches rejoignent un réservoir d'eau et assurent l'alimentation en eau pendant l'essai. Par conséquent, au moins un trou doit être ménagé pour installer la mèche. Les pots de fleurs du commerce ont plusieurs trous, d'où un risque de refoulement de l'eau. De plus, les racines risquent de passer à travers les trous ouverts et d'éviter les contaminants du sol. Un disque filtrant peut empêcher le passage des racines à travers les trous supplémentaires. Les mèches ne sont pas utilisées lorsque le sol soumis à essai n'absorbe pas l'eau par capillarité, comme le montre un pré-test (voir 10.2).

7.2 Sol

[ISO 11269-2:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-60898b82ca53/iso-11269-2-2012)

7.2.1 Généralités

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/380413f2-e9a2-4fd4-b6c9-60898b82ca53/iso-11269-2-2012>

Pour évaluer le potentiel toxique d'un sol provenant d'un site contaminé ou d'un sol réhabilité, il convient que les sols sélectionnés aient une valeur de pH après tamisage comprise dans une gamme non toxique pour les végétaux d'essai, par exemple entre 5,0 et 7,5 pour *Brassica rapa* et *Avena sativa*.

Il convient que le pH du sol ne soit pas corrigé. À l'heure actuelle, les limites de pH pour d'autres espèces de végétaux que la navette et l'avoine ne peuvent être indiquées. Des recherches futures auront pour objet de mener des essais systématiques sur un plus grand nombre de végétaux sur différents sols. De plus, il n'est pas possible pour l'instant de fournir des limites de tolérance relatives à la texture, à la salinité ou à d'autres propriétés du sol pour différentes espèces de végétaux.

Lorsque l'on compare des sols de qualité connue et inconnue, il convient que le sol témoin et le sol soumis à essai appartiennent à la même classe de texture et qu'ils soient aussi similaires que possible pour toutes les caractéristiques autres que la présence de la substance chimique ou du contaminant étudié. En effet, des différences significatives dans les caractéristiques des sols autres que la présence de contaminants peuvent entraîner des différences de croissance des végétaux et peuvent induire des résultats d'essai «faux positifs».

7.2.2 Sol d'essai

L'échantillon ou les échantillons de sol soumis à essai peut (peuvent) être un sol prélevé sur le terrain provenant d'un site industriel, agricole ou autre visé par l'étude, ou il peut s'agir de déchets (par exemple matériau de dragage, boue de station d'épuration domestique, matériau composé ou lisier) dont l'éventuel dépôt sur une terre agricole est envisagé.

Les sols utilisés dans l'essai doivent être filtrés à travers un tamis à mailles carrées de 4 mm pour éliminer les fragments grossiers, puis soigneusement mélangés. Si nécessaire, le sol peut être séché à l'air, sans chauffage, avant d'être tamisé. Il convient que la durée de conservation des sols d'essai soit la plus courte possible. Le sol doit être conservé conformément à l'ISO 10381-6 en utilisant des récipients qui minimisent les pertes de

contaminants du sol par volatilisation et par sorption sur les parois du récipient. Il convient que le pH du sol ne soit pas corrigé afin de ne pas prendre le risque d'influencer la biodisponibilité des contaminants du sol.

Pour l'interprétation des résultats d'essai, il convient de déterminer les caractéristiques suivantes pour chaque sol prélevé sur site:

- a) la texture du sol (sable, loam, limon) selon l'ISO 11277;
- b) le pH (KCl) selon l'ISO 10390;
- c) la teneur en eau selon l'ISO 11465;
- d) la capacité de rétention en eau (Annexe C);
- e) la capacité d'échange cationique selon l'ISO 11260;
- f) la teneur en matière organique selon l'ISO 10694;
- g) les quantités de potassium, d'azote et de phosphore totales et solubles dans l'eau.

NOTE Il est important de mesurer la capacité de rétention en eau de tous les mélanges utilisés dans l'essai.

7.2.3 Sol témoin

On peut utiliser comme sol témoin soit un sol de référence, soit un sol standard, dans la mesure où aucun retard de croissance des végétaux d'essai dans ces sols n'est à attendre. Dans tous les cas, des différences du niveau d'éléments nutritifs entre un sol soumis à essai et un sol témoin peuvent affecter la relation dose-réponse. Par exemple, un sol témoin beaucoup plus riche en éléments nutritifs que le sol soumis à essai peut donner lieu à un résultat «faux positif» (c'est-à-dire que le sol soumis à essai semble avoir un effet «toxique» sur la croissance des végétaux d'essai). Si un sol témoin est moins riche en éléments nutritifs que le sol soumis à essai, on peut s'attendre à un phénomène d'hormèse (3.3) pour les rapports de mélange de sols faibles, ou même à une relation dose-réponse inverse si l'apport d'éléments nutritifs devient l'effet principal. Par conséquent, il est recommandé d'ajouter des éléments nutritifs au sol d'essai et au sol témoin/de référence afin d'éviter des résultats d'essai «faux positifs» ou «faux négatifs» (10.6.3).

7.2.3.1 Sols de référence

Si l'on dispose de sols de référence provenant de zones non contaminées proches d'un site contaminé, il convient de traiter et de caractériser ces sols de la même manière que les sols soumis à essai. Si une contamination toxique ou des propriétés pédologiques inhabituelles ne peuvent être exclues, il convient de privilégier des sols témoins standards.

7.2.3.2 Sols standards

Il convient que le sol standard soit un sol naturel ou artificiel à teneur faible en éléments nutritifs, non contaminé. Si un sol naturel est utilisé, il convient que sa teneur en matière organique ne dépasse pas 5 %. Il convient que les particules fines (<20 µm selon l'ISO 11277) ne dépassent pas 20 %. En variante, un sol artificiel selon l'ISO 11268-1 et l'ISO 11268-2 peut être utilisé, même si sa teneur en matière organique est plus élevée. Il convient toutefois que les teneurs en matière organique du sol soumis à essai et du sol témoin soient aussi proches que possible.

Le substrat appelé «sol artificiel» a la composition suivante: