
**Qualité du sol — Détermination de
l'abondance et de l'activité de la microflore
du sol à l'aide de courbes de respiration**

*Soil quality — Determination of abundance and activity of soil microflora
using respiration curves*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 17155:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd444834-227c-47b5-ab3c-9fd0ffc3c0b/iso-17155-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd444834-227c-47b5-ab3c-9fd0ffc3c0b/iso-17155-2012>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 17155:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd444834-227c-47b5-ab3c-9fd0ffc3c0b/iso-17155-2012>



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
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Échantillonnage	3
7.1 Quantités d'échantillons	3
7.2 Échantillonnage et conservation	4
7.3 Caractéristiques des échantillons de sol	4
8 Mode opératoire	4
8.1 Essai	4
8.2 Essais de toxicité	4
9 Calcul	5
9.1 Paramètres microbiens	5
9.2 Interprétation des données	6
10 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires réalisé en Allemagne	10
Annexe B (informative) Comparaison de la détermination de la biomasse microbienne sur la base des mesurages de courbes de respiration (la présente Norme internationale) et de la respiration induite par le substrat (ISO 14240-1⁽¹⁾)	12
Bibliographie	14

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 17155 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 17155:2002), qui a fait l'objet d'une révision technique.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 17155:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd444834-227c-47b5-ab3c-9fd0ffc3c0b/iso-17155-2012>

Qualité du sol — Détermination de l'abondance et de l'activité de la microflore du sol à l'aide de courbes de respiration

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode d'essai pour déterminer l'activité de la biomasse microbienne hétérotrophe aérobie active dans les sols. Cette méthode s'applique à la surveillance de la qualité du sol et à l'évaluation du potentiel écotoxique des sols et des matériaux de type sol. Elle s'applique également aux sols prélevés le long de gradients de contamination sur le terrain et aux sols qui sont délibérément contaminés sur le terrain ou en laboratoire à des fins d'analyse.

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 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 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 14238, *Qualité du sol — Méthodes biologiques — Détermination de la minéralisation de l'azote et de la nitrification dans les sols, et de l'influence des produits chimiques sur ces processus*

3 Termes et définitions

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

3.1

taux de respiration basale

R_B

masse constante de CO₂ produite ou masse d'O₂ consommée par unité de masse de sol par unité de temps sans ajout de substrat

NOTE Voir Figure 1 pour une courbe type de respiration basale.

3.2

taux de respiration induite par le substrat

R_S

masse constante de CO₂ produite ou masse d'O₂ consommée par unité de masse de sol par unité de temps peu après l'ajout d'un substrat carboné

NOTE 1 Voir Figure 1 pour une courbe type de respiration induite par le substrat.

NOTE 2 Si le substrat carboné utilisé est le glucose, la biomasse microbienne peut être déterminée à partir du taux de respiration induite par le substrat (voir l'ISO 14240-1^[1]).

3.3
quotient d'activation respiratoire

Q_R
taux de respiration basale divisé par le taux de respiration induite par le substrat

$$Q_R = \frac{R_B}{R_S} \tag{1}$$

3.4
taux de croissance spécifique

μ
exposant représentant le taux de respiration par unité de temps pendant la phase de croissance exponentielle

NOTE Voir Équation (3).

3.5
temps jusqu'au pic maximal

t_{picmax}
temps entre l'ajout du substrat et le taux de respiration maximal

NOTE 1 Voir Figure 1.

NOTE 2 Le temps jusqu'au pic maximal reflète également la viabilité des organismes en croissance.

3.6
dégagement de CO₂ ou consommation d'O₂ cumulé(e)

C_R
zone totale délimitée par la courbe du taux de respiration du sol et l'axe du temps entre le temps d'ajout du substrat et le temps jusqu'au pic maximal (t_{picmax})

NOTE Voir Figure 1.

3.7
matériau de type sol

matériau constitué par de la terre excavée, des matériaux de dragage, des matériaux artificiels, des sols traités et des matériaux de remblayage

4 Principe

La production de CO₂ ou la consommation d'O₂ (taux de respiration) de sols non amendés, ainsi que la décomposition d'un substrat facilement dégradable (glucose + ammonium + phosphate), est surveillée de façon régulière (par exemple toutes les heures). Les différents paramètres microbiens (respiration basale, respiration induite par le substrat, quotient d'activation respiratoire, t_{picmax} , C_R) peuvent être calculés à partir des données de production de CO₂ ou de consommation d'O₂.

5 Réactifs

5.1 Glucose, C₆H₁₂O₆.

5.2 Dihydrogénophosphate de potassium, KH₂PO₄.

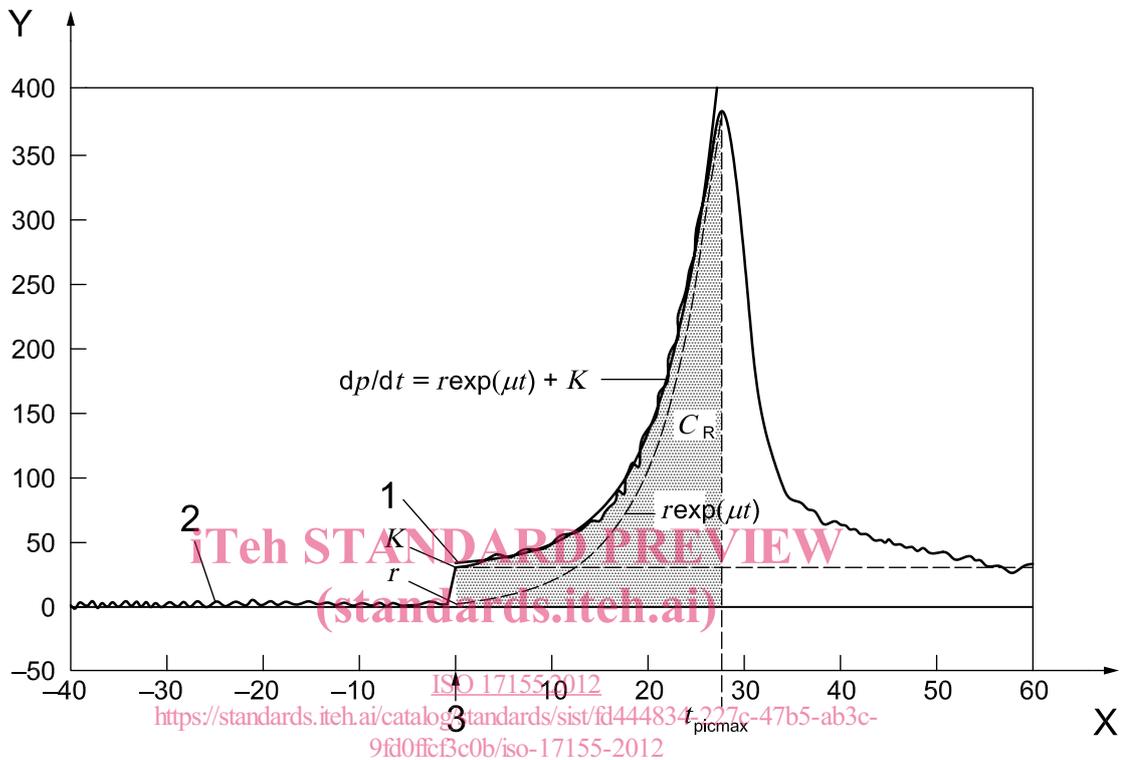
5.3 Sulfate de diammonium, (NH₄)₂SO₄.

5.4 Substrat, constitué d'un mélange de 80 g de glucose (5.1), 13 g de sulfate de diammonium (5.3) et 2 g de KH₂PO₄ (5.2) soigneusement broyés et mélangés dans un mortier.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et 6.1.

6.1 Respiromètre pour le mesurage en continu du dégagement de CO₂ ou de la consommation d'O₂, maintenu à une température constante (de préférence 20 °C). Des exemples de matériel approprié sont donnés dans l'ISO 16072^[2].



Légende

X	temps, t , en h
Y	taux de respiration de CO ₂ ou d'O ₂ , R , en $\mu\text{g g}^{-1}\text{ms h}^{-1}$
C_R	dégagement de CO ₂ ou consommation d'O ₂ cumulé(e)
dp/dt	vitesse de formation des produits après l'ajout du substrat
K	taux de respiration des organismes développant une stratégie K au moment de l'ajout du substrat
r	taux de respiration des organismes développant une stratégie r au moment de l'ajout du substrat
t_{picmax}	temps jusqu'au pic maximal
μ	taux de croissance spécifique
1	respiration induite par le substrat, $R_S = K + r$ (à $t = 0$)
2	respiration basale, R_B
3	ajout de substrat

Figure 1 — Taux de respiration du sol avant et après l'ajout d'un substrat facilement dégradable

7 Échantillonnage

7.1 Quantités d'échantillons

Choisir la taille des échantillons de sol en fonction de l'appareillage (6.1) utilisé, de la teneur en matière organique des échantillons (7.3) et du sol nécessaire à la caractérisation des échantillons (7.3). Il est recommandé de mesurer au moins trois réplicats par échantillon.

7.2 Échantillonnage et conservation

Les recommandations de l'ISO 10381-6 relatives à la collecte, à la manipulation et à la conservation des échantillons de sol doivent être respectées.

7.3 Caractéristiques des échantillons de sol

Les échantillons de sol générant des courbes de respiration peuvent être obtenus à partir de sols minéraux, de sols organiques, de sols pollués et de sols non pollués. Pour chaque échantillon de sol, déterminer les caractéristiques suivantes:

- la répartition granulométrique, conformément à l'ISO 11277;
- la teneur en eau, conformément à l'ISO 11465;
- la capacité de rétention d'eau, conformément à l'ISO 14238:2012, Annexe A;
- le pH, conformément à l'ISO 10390;
- la teneur en matière organique, conformément à l'ISO 10694.

8 Mode opératoire

8.1 Essai

Trois à quatre jours avant de commencer les mesurages, pré-incuber les échantillons de sol humides (de préférence 40 % à 60 % de la capacité de rétention d'eau maximale ou une pression de succion comprise entre 0,01 MPa et 0,03 MPa) à 20 °C. Mesurer la respiration basale des sous-échantillons en premier. Mesurer les taux de respiration jusqu'à obtention de taux constants.

Après avoir mesuré la respiration basale, ajouter 10 mg du substrat (5.4) par gramme de sol (masse sèche) dans les échantillons de sol et homogénéiser en mélangeant à l'aide d'une spatule. Si la teneur en matière organique est > 5 %, ajouter 0,2 g du substrat par gramme de matière organique (voir Références [4] et [5]).

8.2 Essais de toxicité

En principe, il convient de pouvoir aussi appliquer la méthode pour déterminer l'influence des produits chimiques. Jusqu'à la date de publication, très peu de documents ont été publiés sur ce type d'essais.

Pour déterminer l'effet des substances chimiques sur l'abondance et l'activité des micro-organismes du sol, utiliser un sol avec une faible teneur en carbone organique (fraction massique comprise entre 0,5 % et 1,5 %). Il convient que les particules de taille < 20 µm n'excèdent pas 20 % (fraction massique) afin de fournir un haut degré de biodisponibilité.

L'effet des substances chimiques sur l'activité microbienne du sol peut être déterminé comme suit. Effectuer un essai préliminaire pour déterminer le domaine de concentration dans lequel les substances chimiques sont susceptibles d'avoir un effet sur l'activité en question. Effectuer un essai sur un seul sol microbiologiquement actif avec une progression logarithmique de cinq concentrations, y compris un témoin à blanc, en triple (par exemple 0, 1, 3,2, 10, 32 et 100 fois la concentration la plus faible). Utiliser le mode opératoire d'essai spécifié en 8.1. Les relations dose-réponse peuvent être établies en utilisant ce protocole d'essai simple.

Avant le début de l'essai, la substance chimique d'essai peut être ajoutée au sol sous l'une des formes suivantes:

- en solution aqueuse (en fonction de la solubilité dans l'eau);
- en solution organique en utilisant un solvant miscible dans l'eau (en fonction de la solubilité dans le solvant);
- mélangée à un solide, par exemple enrobant du sable de quartz (avant de mélanger avec le sol).

Si la substance chimique d'essai est ajoutée sous forme de solution organique, maintenir la quantité de solvant au minimum (< 1 %) nécessaire à l'application du composé. Prendre en compte également l'éventuelle toxicité (par exemple en incluant un échantillon témoin supplémentaire pour soumettre à essai la toxicité du solvant) et la biodégradabilité du solvant utilisé.

NOTE Les effets à long terme des substances chimiques peuvent être détectés en utilisant différents temps d'incubation (semaines ou mois). Une comparaison des C_R (voir 3.6) de l'échantillon témoin non amendé et des échantillons de sol traités chimiquement a révélé une très grande sensibilité aux influences chimiques.

9 Calcul

9.1 Paramètres microbiens

9.1.1 Respiration basale

Calculer la respiration basale, R_B , comme la moyenne des taux de respiration horaires pendant une période stable.

9.1.2 Respiration induite par le substrat

Calculer la respiration induite par le substrat, R_S , comme la moyenne des valeurs peu après l'ajout du substrat lorsque la respiration est relativement constante. Il convient d'effectuer au moins trois mesurages par heure pour calculer la moyenne.

En variante, R_S peut être calculé en utilisant l'Équation (2):

$$R_S = r + K \quad (2)$$

où

R_S est la respiration induite par le substrat;

r est le taux de respiration des organismes développant une stratégie r ;

K est le taux de respiration des organismes développant une stratégie K immédiatement après l'ajout du substrat.

Comme cela est proposé dans la Référence [14] (voir Figure 1), la respiration des micro-organismes en non-croissance, K , et des micro-organismes en croissance, r , est dérivée d'un ajustement de courbe à l'aide de l'Équation (3):

$$\frac{dp}{dt} = r \exp(\mu t) + K \quad (3)$$

où

$\frac{dp}{dt}$ est la vitesse de formation des produits après l'ajout du substrat;

p est la quantité accumulée de CO_2 dégagé ou d' O_2 consommé, en microgrammes par gramme de masse sèche du sol, par heure;

t est le temps après l'ajout du substrat, en heures;

μ est le taux de croissance spécifique.

NOTE La respiration induite par le substrat, R_S , peut être utilisée pour l'estimation de la biomasse microbienne dans les sols. Selon l'Équation (4), R_S peut être convertie en $C_{\text{mic}}(\text{SIR})$.

$$C_{mic}(SIR) = 20,6R_S + 0,37 \tag{4}$$

où

R_S est la respiration induite par le substrat en microgrammes de CO₂ par gramme par heure;

$C_{mic}(SIR)$ est la biomasse microbienne en microgrammes par gramme.

Il existe d'étroites corrélations ($R_{xy}^2 = 0,84$ à $0,97$) entre $C_{mic}(SIR)$ estimée conformément à la présente Norme internationale et C_{mic} estimée conformément à l'ISO 14240-1^[1] (voir Annexe B). Les variables de corrélation dépendent de la texture du sol et des concentrations de substrat utilisées.

9.1.3 Quotient d'activation respiratoire

Calculer le quotient d'activation respiratoire, Q_R , en divisant le taux de respiration basale par le taux de respiration induite par le substrat, conformément à l'Équation (5).

$$Q_R = \frac{R_B}{R_S} \tag{5}$$

où

R_S est la respiration induite par le substrat;

R_B est le taux de respiration basale;

Q_R est le quotient d'activation respiratoire.

ITEN STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

9.1.4 Taux de croissance spécifique

Le taux de croissance spécifique, μ , peut être calculé conformément à l'Équation (3).

ISO 17155:2012

9.1.5 Temps jusqu'au pic maximal

Le temps jusqu'au pic maximal, t_{picmax} , peut être calculé comme le temps entre l'ajout du substrat et le taux de respiration maximal.

9.1.6 Dégagement de CO₂ ou consommation d'O₂ cumulé(e)

L'effet d'une substance chimique sur μ peut être déterminé à partir du dégagement de CO₂ ou de la consommation d'O₂ cumulé(e) entre l'instant où le substrat est ajouté et l'instant où l'on constate la respiration maximale dans le témoin à blanc (c'est-à-dire t_{picmax} à la Figure 1). Il est sensiblement équivalent à la surface hachurée à la Figure 1.

Pour chaque concentration, le dégagement de CO₂ ou la consommation d'O₂ cumulé(e), C_R , est mesuré/e au niveau de t_{picmax} dans le témoin à blanc. La représentation de C_R en fonction de la concentration logarithmique de la substance d'essai prend souvent la forme d'une courbe en S à partir de laquelle il est possible d'estimer CE_{10} et CE_{50} .

NOTE Cet essai est réalisé dans des conditions simulant la croissance microbienne. On peut toutefois réaliser également un essai d'inhibition de la respiration du sol avec de l'acétate marqué au ¹⁴C en concentrations faibles limitant la croissance. On détermine ensuite le ¹⁴CO₂ (voir Référence [9]).

9.2 Interprétation des données

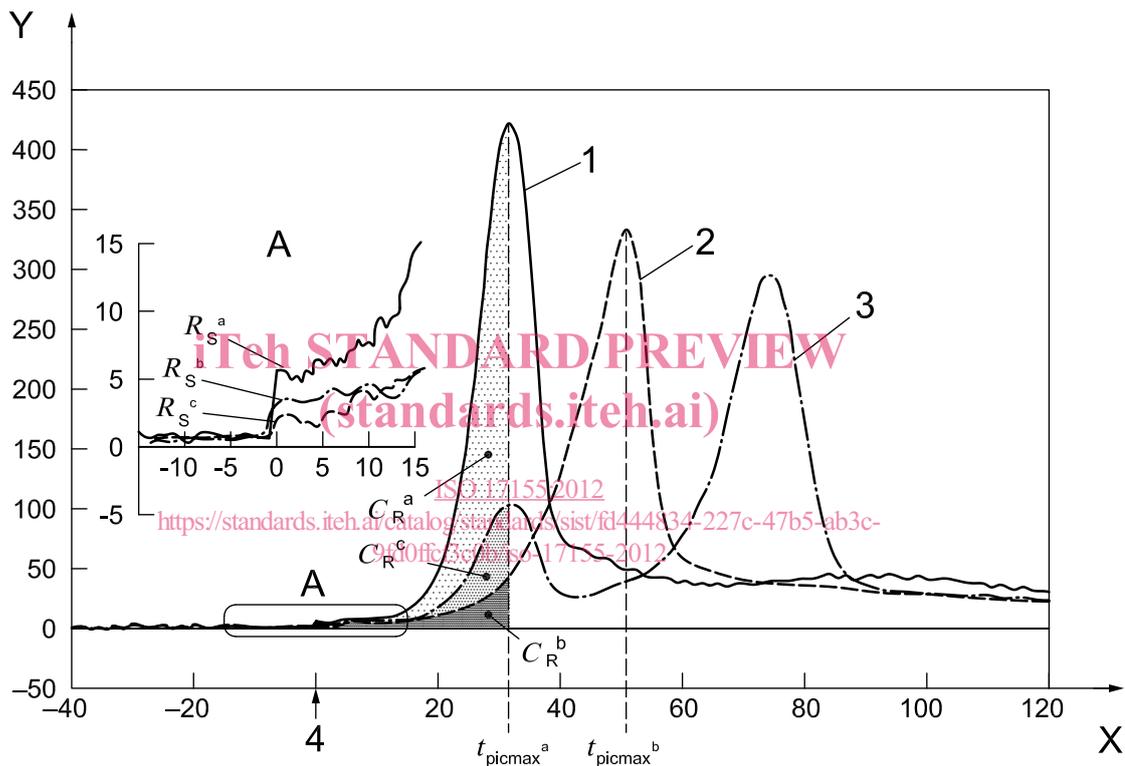
9.2.1 Évaluation du potentiel écotoxique des sols

Les sols pollués présentent souvent des quotients d'activation respiratoire plus élevés et un temps jusqu'au pic maximal, t_{picmax} , plus long que les sols non pollués (voir Figure 2). La comparaison de tous ces paramètres

avec les données provenant de sols non pollués possédant des propriétés physiques et chimiques similaires permet de détecter la contamination des sols ou des matériaux de sol. Les quotients d'activation respiratoires $Q_R > 0,3$ (sols minéraux arables, prairie), $Q_R > 0,4$ (sols forestiers minéraux) et $Q_R > 0,6$ (couches organiques L, Of, Oh) et $t_{picmax} > 50$ h sont indicateurs de matériaux pollués (voir Références [7] et [8]).

En outre, il est rare de constater une progression logarithmique des taux de respiration après ajout du substrat et/ou la formation de doubles pics (voir Figure 2) dans les échantillons pollués. La formation d'un double pic est due à un effet à court terme ou un effet sélectif d'un contaminant. En particulier, les champignons à croissance lente portant le marqueur 18:2 δ^9 ,12 semblent être responsables de la formation d'un second maximum de respiration (Référence [15]).

NOTE Des doubles pics peuvent se produire également dans des échantillons non pollués. Ce phénomène s'explique par la croissance de champignons due à des teneurs en eau (élevées) non optimales.



Légende

- X temps, t , en h
 Y taux de respiration de CO_2 , R , en $\mu\text{g g}^{-1}\text{ms}^{-1}$
 C_R dégagement de CO_2 ou consommation d' O_2 cumulé(e)
 R_S respiration induite par le substrat
 t_{picmax} temps jusqu'au pic maximal
 1 sol non pollué (témoin), Référence [4]
 2 sol pollué en Cu ($190 \text{ mg kg}^{-1}\text{ms}$), Référence [5]
 3 sol pollué en TNT ($50 \text{ mg kg}^{-1}\text{ms}$), Référence [6]
 4 ajout de substrat
 a Référence [1].
 b Référence [2].
 c Référence [2].

Figure 2 — Courbes de respiration d'un sol non pollué et de deux sols pollués