

---

---

**Qualité du sol — Détermination des  
effets toxiques des polluants sur la  
germination et les premiers stades de  
croissance des végétaux supérieurs**

*Soil quality — Determination of the toxic effects of pollutants on  
germination and early growth of higher plants*

iTeh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview

ISO 18763:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7308480-a60e-46ba-a92e-e15f1e85d9c8/iso-18763-2016>



iTeh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview

ISO 18763:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7308480-a60e-46ba-a92e-e15f1e85d9c8/iso-18763-2016>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2016

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8  
CH-1214 Vernier, Genève  
Tél.: +41 22 749 01 11  
E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

# Sommaire

Page

<b>Avant-propos</b>	<b>iv</b>
<b>Introduction</b>	<b>v</b>
<b>1 Domaine d'application</b>	<b>1</b>
<b>2 Références normatives</b>	<b>1</b>
<b>3 Termes et définitions</b>	<b>1</b>
<b>4 Principe</b>	<b>3</b>
<b>5 Réactifs, organismes d'essai et milieux</b>	<b>3</b>
5.1 Eau	3
5.2 Organismes d'essai	4
5.3 Sol témoin	4
<b>6 Appareillage et matériaux</b>	<b>4</b>
<b>7 Traitement et préparation des échantillons</b>	<b>6</b>
7.1 Échantillons de sol	6
7.1.1 Détermination de la capacité de rétention d'eau	6
7.1.2 Autre mode opératoire pour déterminer le volume d'eau à ajouter dans les plaques d'essai pour l'hydratation des sols séchés à l'air	6
<b>8 Mode opératoire</b>	<b>7</b>
8.1 Mode opératoire d'essai pour la détermination des effets de sols pollués	7
8.1.1 Addition du sol témoin et du sol soumis à essai aux plaques d'essai et hydratation des sols	7
8.1.2 Mise en place des semences	7
8.1.3 Incubation des plaques d'essai	8
8.1.4 Enregistrement des images	8
<b>9 Mesurage</b>	<b>8</b>
9.1 Comptage du nombre de semences germées	8
9.2 Mesurage des longueurs de racines des semences germées	8
9.2.1 Mesurage de toutes les longueurs de racines dans chaque plaque d'essai	8
9.2.2 Mesurage de la longueur de la racine la plus longue dans chaque plaque d'essai	9
<b>10 Calcul du pourcentage d'inhibition</b>	<b>10</b>
<b>11 Substance de référence</b>	<b>10</b>
<b>12 Fidélité</b>	<b>11</b>
<b>13 Critères de validité</b>	<b>11</b>
<b>14 Rapport d'essai</b>	<b>11</b>
<b>Annexe A (informative) Application de l'essai de phytotoxicité dans des plaques d'essai transparentes sur des sols naturels et artificiels et des matériaux du sol, avec différentes espèces végétales</b>	<b>13</b>
<b>Annexe B (informative) Assemblage des plaques d'essai pour l'essai de phytotoxicité</b>	<b>15</b>
<b>Annexe C (informative) Essais interlaboratoires internationaux relatifs à l'essai de phytotoxicité</b>	<b>16</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>22</b>

## 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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

L'attention est attirée 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir [www.iso.org/brevets](http://www.iso.org/brevets)).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: <https://www.iso.org/iso/fr/foreword.html>.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Caractérisation biologique*.

## Introduction

Les essais écotoxicologiques sur les sols ou sur les déchets destinés à être épandus sur les sols sont requis pour évaluer le risque environnemental potentiel résultant de la pollution du sol ou du rejet de déchets tels que les boues d'épuration épandues sur les terres agricoles. Il est également nécessaire de contrôler la qualité des sols après la réhabilitation des sites industriels. Par conséquent, un essai de germination et de croissance, à la fois très pratique et rapide, reposant sur la germination des semences et la croissance des semis dans des conditions environnementales contrôlées, a été développé.

Cet essai, qui ne nécessite aucun prétraitement des semences, est réalisé dans des «plaques d'essai transparentes», incubées à la verticale, afin de pouvoir observer les racines et les pousses des semences ayant germé. À l'issue d'une période d'exposition de 72 h, les plaques d'essai transparentes sont photographiées et une «analyse d'images» peut être effectuée pour déterminer divers critères d'effet tels que le pourcentage de germination des semences et la longueur des racines et des pousses. Pour tenir compte de la sensibilité variable des espèces végétales, les essais sont réalisés avec les semences de trois espèces végétales: une monocotylédone (*Sorghum saccharatum*) et deux dicotylédones (*Lepidium sativum* et *Sinapis alba*).

Un avantage important de cet essai réside dans le fait qu'après la capture et le stockage des photographies des plaques d'essai, les mesurages par analyse d'images peuvent être différés à tout moment opportun.

Des sols de référence ou des sols standards peuvent être utilisés comme témoins négatifs, tels que, par exemple, le sol artificiel standard ISO selon l'ISO 11269-1 et l'ISO 11269-2.

Des semences disponibles dans le commerce, d'une durée de conservation supérieure à un an, permettent de réaliser cet essai à toute période de l'année.

Deux essais interlaboratoires internationaux ont démontré que l'essai produit des résultats satisfaisants.

Un grand nombre d'études ont rapporté des données relatives à l'application de cet essai sur divers types de sols et de matériaux du sol, avec plusieurs types d'espèces végétales.

ISO 18763:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a7308480-a60e-46ba-a92e-e15f1e85d9c8/iso-18763-2016>



# Qualité du sol — Détermination des effets toxiques des polluants sur la germination et les premiers stades de croissance des végétaux supérieurs

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode permettant de déterminer les effets de sols et de matériaux apparentés aux sols sur la germination des semences et les premiers stades de la croissance des végétaux supérieurs. Ces critères d'effet sont des indicateurs utiles pour l'évaluation de la qualité d'un sol en tant qu'habitat pour des organismes. La présente Norme internationale est applicable à tous les sols dans lesquels des organismes sont actifs et peut être utilisée pour évaluer:

- les effets sur les végétaux dus à la toxicité des produits chimiques solides ou liquides polluant les sols ou les matériaux (compost, boues, déchets) ainsi que les produits chimiques ajoutés aux sols;
- les variations dans les effets sur les végétaux du sol après des actions de réhabilitation.

## 2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à 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 11269-1, *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*

ISO 11269-2, *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*

ISO/TS 20281, *Qualité de l'eau — Lignes directrices relatives à l'interprétation statistique de données écotoxicologiques*

## 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 préparé conformément à l'ISO 11269-1 et à l'ISO 11269-2

### 3.2

#### **sol témoin**

sol de référence ou sol standard utilisé comme témoin ou comme milieu pour préparer des gammes de dilutions avec les sols d'essai ou une substance de référence

### 3.3

#### **sol de référence**

sol non pollué spécifique d'un site (par exemple collecté à proximité d'un site pollué) avec des propriétés similaires (concentrations en nutriments, pH, teneur en carbone organique et texture) à celles du sol d'essai

### 3.4

#### **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 gamme connue

Note 1 à l'article: Les propriétés du sol standard peuvent différer de celles du sol d'essai.

EXEMPLE Sols Euro<sup>[1]</sup>, sol artificiel<sup>[2]</sup>, sol LUFA.<sup>1)</sup>

### 3.5

#### **sol soumis à essai**

sol propre, naturel ou artificiel, dans lequel la substance d'essai ou un sol naturel pollué (sol du site) est introduit<sup>[5]</sup>

### 3.6

#### **émergence des plantules**

apparition d'une plantule visible à la surface du matériau de couverture

[SOURCE: ISO 17126:2005, 3.1, modifiée]

### 3.7

#### **germination**

apparition d'une racine d'au moins 1 mm de long

### 3.8

#### **eau pure**

qualité d'eau produite, par exemple, par monodistillation, déionisation, ultra-filtration ou osmose inverse<sup>[5]</sup>

### 3.9

#### **longueur d'une racine**

longueur de la racine de la graine jusqu'à l'extrémité de la racine

### 3.10

#### **longueur d'une pousse**

longueur de la partie qui pousse vers le haut, de la graine jusqu'à l'extrémité

### 3.11

#### **saturation en eau**

teneur en eau maximale qu'un sol peut retenir contre l'entraînement par gravité, en conditions non perturbées, ce qui correspond conventionnellement à la teneur en eau du sol restant de 2 jours à 3 jours après une période de saturation

[SOURCE: ISO 11074:2015, 2.1.5 capacité au champ, modifiée]

### 3.12

#### **sol saturé d'eau**

sol ayant atteint sa teneur maximale en eau

### 3.13

#### **capacité de rétention d'eau**

masse d'eau qui s'évapore du sol saturé d'eau lorsque le sol est séché jusqu'à une masse constante à 105 °C, divisée par la masse sèche du sol<sup>[2]</sup>

---

1) Les sols Euro, le sol artificiel et le sol LUFA sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ces produits.



**3.14****témoin négatif**

matériau ou substance bien caractérisé(e) qui, soumis(e) à essai conformément à un mode opératoire spécifique, démontre l'aptitude du mode opératoire à conduire à une réponse reproductible, judicieusement négative, inactive ou minimale vis-à-vis d'un système d'essai particulier

[SOURCE: ISO 10993-10:2010, 3.12, modifiée]

**3.15****pourcentage d'effet**

diminution du pourcentage de germination des semences et de croissance des racines et/ou des pousses de plantes dans le sol d'essai par rapport au sol témoin

**4 Principe**

Cette méthode compare la germination des semences et les premiers stades de la croissance de plantes monocotylédones et dicotylédones dans un sol d'essai et/ou dans une série de mélanges, avec un sol témoin. Cette méthode peut également être utilisée pour évaluer des composts, des boues ou des déchets.

Les semences d'une plante monocotylédone, telle que *Sorghum saccharatum* (L.) Moench, et de deux plantes dicotylédones, telles que *Lepidium sativum* L. et *Sinapis alba* L., sont exposées au matériau d'essai dans des conditions contrôlées. Au bout de  $(72 \pm 1)$  h, le nombre de semences germées est comptabilisé et la longueur des racines des plantes est mesurée dans le sol soumis à essai et dans le sol témoin.

Si des variétés de semences différentes sont utilisées, la durée de la période d'incubation peut être ajustée en fonction du temps nécessaire à la germination des semences et de la vitesse de croissance des racines.

L'essai nécessite l'utilisation de plaques d'essai (6.3) spécifiques, transparentes, plates et creuses, composées d'un compartiment supérieur et d'un compartiment inférieur contenant le sol hydraté.

Les semences des plantes sélectionnées pour l'essai sont positionnées à égale distance près de la bande médiane de la plaque d'essai (6.3), sur un papier-filtre noir (6.5) placé au-dessus du sol hydraté.

Après avoir refermé les plaques d'essai (6.3) avec leur couvercle transparent, celles-ci sont placées verticalement dans un support (6.4) et incubées à  $(25 \pm 1)$  °C pendant  $(72 \pm 1)$  h.

Au terme de la période d'incubation, la longueur de chaque racine (et de chaque pousse, si cela est souhaité) peut être mesurée directement à l'aide d'une règle et enregistrée.

Une autre méthode consiste à prendre une photo numérique des plaques d'essai (6.3) avec les plantes germées (en utilisant un appareil photo numérique, une cybercaméra ou un scanneur à plat) en vue d'un stockage dans un fichier informatique. Les mesurages de longueur de racine ultérieurs sont réalisés par analyse d'images. Les analyses portant sur la germination et la croissance des racines peuvent alors être effectuées immédiatement ou reportées à tout moment opportun.

NOTE Si cela est souhaité, le même mode opératoire peut être appliqué pour mesurer également la hauteur des pousses. Le calcul du rapport des longueurs pousses/racines est un critère d'effet supplémentaire possible.

**5 Réactifs, organismes d'essai et milieux****5.1 Eau**

Eau pure de conductivité inférieure à 10 µS/cm.

## 5.2 Organismes d'essai

Les organismes d'essai sont les semences d'une plante monocotylédone, telle que *Sorghum saccharatum* (L.) Moench, et de deux plantes dicotylédones, telles que *Lepidium sativum* L. et *Sinapis alba* L.

Des études ont été menées non seulement avec les trois espèces végétales indiquées au 5.2, mais aussi avec d'autres espèces monocotylédones et dicotylédones. L'Annexe A dresse une synthèse de ces études publiées.

Il convient d'éviter les semences traitées avec des insecticides et/ou des fongicides.

## 5.3 Sol témoin

Des sols de référence ou des sols standards peuvent être utilisés comme sol témoin, sous réserve que la croissance attendue des plantes soumises à essai dans ces sols ne soit pas perturbée.

Lors de la comparaison de l'allongement des racines dans des sols de qualité connue et inconnue, il convient que le sol témoin et le sol soumis à essai soient de la même classe texturale et, dans la mesure du possible, qu'ils soient similaires à tous points de vue exceptée la présence du produit chimique ou du polluant objet de l'étude. En effet, des différences significatives dans les caractéristiques des sols autres que la présence de polluant peuvent engendrer des différences de longueurs des racines et induire des faux positifs.

Il est également possible d'utiliser un sol artificiel conformément à l'ISO 11269-1 et à l'ISO 11269-2. Le substrat dénommé «sol artificiel» présente la composition suivante:

	Pourcentage exprimé sur la base de la masse sèche
Tourbe de sphagnum finement moulue et sans résidus végétaux apparents	10 %
Argile kaolinique contenant au moins 30 % de kaolinite	20 %
Sable de quartz industriel (principalement du sable fin dont plus de 50 % des particules ont une taille comprise entre 0,05 mm et 0,2 mm)	69 %

NOTE Comme indiqué dans l'ISO 11269-1, un pourcentage de 5 % de tourbe s'est avéré suffisant pour que le sol artificiel conserve la structure désirée (avec une augmentation correspondante du pourcentage de sable jusqu'à 75 %). Un pourcentage inférieur d'argile kaolinique (10 % au lieu de 20 %) est de plus très proche de la teneur en argile du LUFA 2.2, et donc plus représentatif d'un sol naturel. Il est donc recommandé que le sol artificiel présente la composition suivante: 5 % de tourbe, 10 % d'argile kaolinique et 85 % de sable.

Il est nécessaire d'ajouter environ 0,3 % à 1,0 % de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ , pulvérisé, de qualité analytique) pour obtenir un pH de  $6,0 \pm 0,5$ .

## 6 Appareillage et matériaux

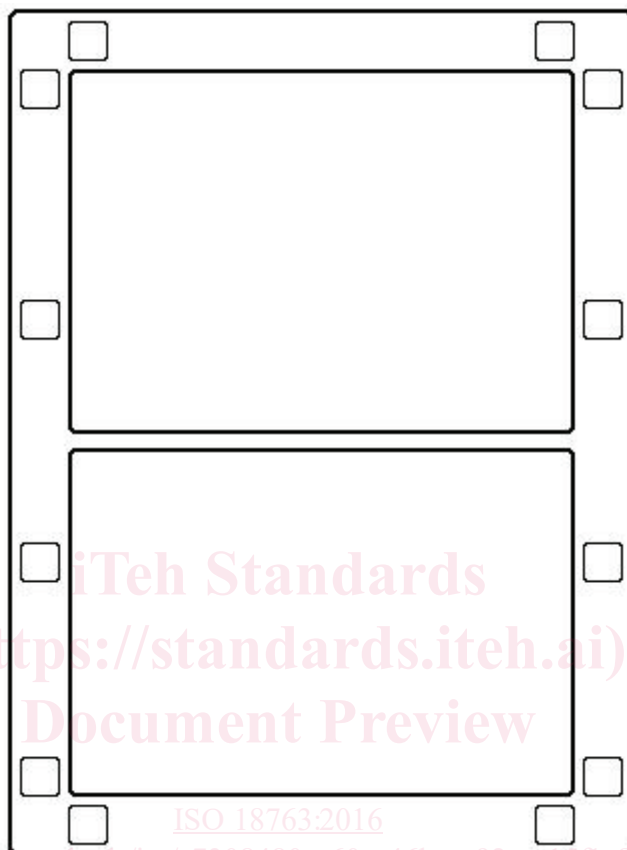
**6.1 Incubateur ou pièce thermorégulée**, adaptée pour maintenir les conditions spécifiées:  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

**6.2 Appareil photo numérique, cybercaméra ou scanner à plat**, pour prendre des photographies des plaques d'essai avec les semences germées, en vue d'un stockage dans un fichier informatique.

**6.3 Plaques d'essai**, transparentes en polychlorure de vinyle (PVC).

Les plaques d'essai se composent d'une partie inférieure séparée par une bande médiane séparant le compartiment inférieur du compartiment supérieur, et d'un couvercle plat. Les plaques d'essai peuvent être fabriquées de façon artisanale à l'aide d'une feuille de PVC transparente et de petites baguettes rectangulaires, comme décrit à l'Annexe B.

Il est également possible d'utiliser des plaques d'essai disponibles dans le commerce<sup>2)</sup>. La partie inférieure de ces plaques d'essai est destinée à contenir environ 90 cm<sup>3</sup> de sol soumis à essai. Ces plaques disposent, sur les deux côtés, de petites cavités rectangulaires permettant de les fermer hermétiquement au moyen d'un système d'encliquetage spécifique. Une étiquette doit être apposée sur les plaques d'essai afin d'indiquer les détails de chaque plaque (type de sol et de semence, numéro de la répétition).



**Figure 1 — Plaque d'essai avec cavités sur le côté pour la fermeture hermétique de la plaque**

**6.4 Supports de plaques d'essai**, en carton pour l'incubation verticale de six plaques d'essai (6.3) par support.

**6.5 Papiers-filtres noirs**, rectangulaires, de pureté élevée (par exemple 85 g/m<sup>2</sup>, 0,17 mm d'épaisseur, 45 s de vitesse de filtration) adaptés à la partie inférieure de la plaque d'essai, à placer au-dessus du sol dans le compartiment inférieur des plaques d'essai (6.3).

**6.6 Cylindre à micromailles**, en plastique, de petite taille et muni, dans sa partie basse, d'une gaze de nylon, à utiliser pour déterminer la quantité d'eau à ajouter au sol d'essai.

**6.7 Micropipette à embouchure large**, en plastique, à utiliser avec le cylindre à micromailles (6.6) pour déterminer la quantité d'eau à ajouter au sol d'essai.

**6.8 Tamis**, à mailles de 2 mm pour tamiser le sol avant son utilisation pour les essais.

2) Les plaques d'essai fournies par MicroBioTests Inc, Mariakerke-Gent, Belgique, sont un exemple approprié de produit disponible dans le commerce. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.