
**Qualité du sol — Détermination des
effets des polluants sur la flore du sol
— Composition en acides gras foliaires
des plantes utilisées pour évaluer la
qualité du sol**

*Soil quality — Determination of the effects of pollutants on soil flora
— Leaf fatty acid composition of plants used to assess soil quality*

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

[ISO 21479:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48a8342d-380c-4eba-9b8c-e98ff1f4ff31/iso-21479-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48a8342d-380c-4eba-9b8c-e98ff1f4ff31/iso-21479-2019>



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

[ISO 21479:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48a8342d-380c-4eba-9b8c-e98ff1f4ff31/iso-21479-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/48a8342d-380c-4eba-9b8c-e98ff1f4ff31/iso-21479-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

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
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, définitions et abréviations	1
3.1 Termes et définitions.....	1
3.2 Abréviations.....	2
4 Principe	2
5 Appareillage et réactifs	2
5.1 Appareillage.....	2
5.2 Réactifs.....	3
6 Stratégies d'échantillonnage	3
7 Échantillonnage des tissus foliaires	3
8 Obtention, extraction et analyses des FAME	4
8.1 Contrôle de la contamination.....	4
8.2 Obtention et extraction des FAME des feuilles de végétaux.....	4
8.3 Analyse des FAME.....	5
9 Rapport d'essai	6
9.1 Référence au présent document, c'est-à-dire l'ISO 21479.....	6
9.2 Description du site et des zones analysées.....	6
9.3 Échantillonnage des feuilles.....	6
9.4 Composition en acides gras.....	6
9.5 Conclusion.....	6
Annexe A (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires	7
Annexe B (informative) Évaluation de la qualité du sol par détermination de l'indice Oméga-3 de plantules de <i>Lactuca sativa</i> cultivées ex situ dans des conditions contrôlées	14
Annexe C (informative) Espèces végétales utilisées précédemment avec succès pour évaluer les sols de sites contaminés (par des composés organiques et/ou des métaux)	16
Annexe D (informative) Variation de l'indice Oméga-3 en fonction de l'heure de récolte, de la taille des végétaux et du développement foliaire	17
Annexe E (informative) Effet de la quantité de tissus foliaires sur la composition en FAME	19
Annexe F (informative) Exemple de chromatogramme obtenu après l'analyse FAME de tissus foliaires	20
Annexe G (informative) Méthode mathématique recommandée pour noter les sols de zones lorsque certaines espèces végétales échantillonnées ne sont pas trouvées dans toutes les zones	21
Bibliographie	24

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).

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. 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).

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 nature volontaire des normes, de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute autre 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: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Caractérisation biologique*.
<https://standards.iso.org/standards/catalog/standards/iso/48a8342d-380c-4eba-9b8c-e98ff1f4ff31/iso-21479-2019>

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

Sur plus de 150 normes ISO élaborées relatives à la qualité du sol, moins de 40 concernent les organismes vivants, et parmi celles-ci, seules cinq traitent des végétaux supérieurs, et ce malgré l'importance de la surveillance des effets indésirables de la qualité du sol sur les organismes vivants.

L'une de ces cinq normes concerne la génotoxicité^[1], et quatre d'entre elles, l'inhibition de l'émergence et/ou de la croissance^[2-5]. Il semble donc que ces Normes internationales ciblent un effet très spécifique (génotoxicité) ou des effets suffisamment importants pour induire des phénotypes développementaux (et donc visibles): inhibition de l'émergence ou de la croissance de jeunes plantules poussant sur des sols prélevés sur site. Dès lors, des biomarqueurs plus sensibles/précoces des effets indésirables des polluants sur les végétaux, tels que «l'indice Oméga-3», sont nécessaires.

L'évaluation des effets d'une contamination du sol par l'indice Oméga-3 repose sur la composition en acides gras foliaires d'angiospermes poussant sur les sites étudiés. L'utilisation de l'indice Oméga-3 s'est révélée appropriée pour mettre en évidence la présence de contaminants métalliques et organiques (herbicides, etc.) dans les sols. Dans cette perspective, il convient également de déterminer les propriétés physiques et chimiques (pH, teneur en N/P/K) des sols car la composition en acides gras foliaires peut varier en fonction de la teneur en nutriments^[12], et le pH peut influencer la biodisponibilité des composés chimiques. Il est à noter que ce biomarqueur s'est souvent avéré plus sensible (c'est-à-dire répondant à de plus faibles doses de contaminants) que les paramètres biométriques que sont le taux de germination et la biomasse^{[6][14]}. Il permet donc de mettre en évidence des effets indésirables des sols sur les végétaux qui ne pourraient pas être démontrés par le taux de germination ou la biomasse. De plus, pour l'évaluation in situ, il peut être difficile d'observer des effets visibles sur le taux de germination et/ou la biomasse des plantes.

Il convient de noter que, d'un point de vue pratique, notamment avec les espèces végétales récoltées sur site, et en comparaison d'autres biomarqueurs, l'indice Oméga-3 présente plusieurs avantages.

- Pour l'analyse des acides gras, seuls 20 mg à 50 mg de tissus foliaires frais par échantillon sont nécessaires. Par conséquent, ceci n'est pas destructif pour les végétaux et il n'est pas difficile d'obtenir suffisamment de tissus d'une espèce sur une zone donnée.
- Les tissus végétaux prélevés peuvent être conservés dans du méthanol pendant plusieurs jours à température ambiante avant les analyses.
- Il n'est pas nécessaire de trouver des espèces particulières sur un site et, a priori, n'importe quelle espèce (souvent choisie parmi les plus représentatives) peut être prélevée ([Article 6](#)).

Les résultats d'un essai interlaboratoires effectué par six laboratoires afin d'évaluer la reproductibilité et la répétabilité de la méthode sont indiqués à l'[Annexe A](#). Les résultats obtenus par le même investigateur avec le même échantillon et le même instrument de mesure sur une courte période de temps sont donnés à l'[Annexe B](#).

Qualité du sol — Détermination des effets des polluants sur la flore du sol — Composition en acides gras foliaires des plantes utilisées pour évaluer la qualité du sol

AVERTISSEMENT — Les sols contaminés peuvent contenir des mélanges inconnus de substances chimiques toxiques, mutagènes ou autrement dangereuses ou des micro-organismes infectieux. La poussière ou les produits chimiques évaporés peuvent entraîner des risques pour la santé au travail. De plus, les végétaux peuvent absorber des substances chimiques présentes dans le sol. Il convient donc de prendre les mesures de sécurité appropriées lors de la manipulation des végétaux soumis à essai.

1 Domaine d'application

Le présent document décrit une méthode visant à comparer la qualité des sols en déterminant la composition en acides gras des feuilles d'espèces végétales poussant sur ces sols.

Cette méthode ne permet pas de déterminer une valeur optimale de l'indice Oméga-3 et ne peut donc pas être utilisée pour déterminer la qualité intrinsèque d'un sol d'une zone spécifique (considérée homogène). La méthode peut être utilisée uniquement pour comparer la qualité des sols entre plusieurs zones.

Cette méthode est applicable à :

- des sols provenant de sites contaminés;
- des sols amendés;
- des sols après remédiation;
- des sols contenant des produits résiduels (par exemple lisier, fumier, boues ou composts).

La qualité des sols peut aussi être évaluée en déterminant l'indice Oméga-3 de plantules de *Lactuca sativa* poussant dans ces sols dans des conditions contrôlées (c'est-à-dire, enceinte phytotronique) et en comparant ces valeurs avec celles obtenues à partir de sols témoins (voir l'[Annexe B](#)).

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

3 Termes, définitions et abréviations

3.1 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

3.1.1

indice Oméga-3

rapport % C18:3/(% C18:0 + % C18:1 + % C18:2)

Note 1 à l'article: à l'Article L'indice Oméga-3 n'a pas d'unité.

3.2 Abréviations

Pour les besoins du présent document, l'abréviation suivante s'applique.

FAME Esters méthyliques d'acides gras; C16:0: ester méthylique d'acide palmitique; C16:1: ester méthylique palmitoléique; C18:0: ester méthylique d'acide stéarique; C18:1: ester méthylique d'acide oléique; C18:2: ester méthylique d'acide linoléique; C18:3: ester méthylique d'acide linoléique.

4 Principe

La méthode est utilisée pour évaluer la qualité des sols en déterminant la composition en acides gras des feuilles d'angiospermes (voir [Annexe C](#) et [9-14][18]) poussant sur ces sols. Après échantillonnage des tissus foliaires, leur composition en acides gras est déterminée. Pour cela, une transestérification est réalisée sur les tissus foliaires et les esters méthyliques d'acides gras obtenus sont analysés par chromatographie en phase gazeuse. Après analyse, le rapport % C18:3 / (% C18:0 + % C18:1 + % C18:2) est calculé. Plus ce rapport est faible, plus les effets indésirables induits par les sols sur les plantes sont importants [6][9-14][18].

5 Appareillage et réactifs

5.1 Appareillage

En plus de l'équipement de laboratoire courant, l'appareillage suivant est nécessaire.

5.1.1 Ciseaux pour couper les feuilles.

5.1.2 Pipette graduée en verre, pour ajouter l'acide sulfurique (H₂SO₄) au méthanol, pipettes pour introduire le mélange dans des tubes de culture en verre (1 ml/tube) et pipettes Pasteur pour récupérer l'hexane après l'extraction des FAME.

5.1.3 Tubes de culture en verre (par exemple 1,3 × 10 cm) avec bouchons à vis avec joint en polytétrafluoroéthylène. Ces tubes de culture ont été numérotés sur ruban adhésif (et non pas directement sur le verre, pour éviter tout risque d'effacement). Vérifier que les tubes n'ont pas été ébréchés (afin d'en assurer l'étanchéité).

5.1.4 Système (par exemple bloc chauffant) permettant de chauffer les tubes à 80 °C.

5.1.5 Centrifugeuse de paille permettant de centrifuger les tubes entre 200 g et 300 g et de séparer la phase aqueuse de l'hexane.

5.1.6 Fioles de chromatographe en phase gazeuse avec inserts CG et bouchons à vis munis d'un septum en polytétrafluoroéthylène.

5.1.7 Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'une colonne capillaire permettant la séparation et la quantification des esters méthyliques d'acides gras de 12 atomes de carbone à 22 atomes de carbone, et pour chaque longueur de chaîne aliphatique, permettant de séparer les esters saturés, mono, di et tri-insaturés.

NOTE 1 La plupart du temps, les études qui ont conduit à l'élaboration du présent document ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard 5890 série II ou Hewlett Packard 7890A) sur une colonne capillaire Carbowax de 1,2 micron, 0,53 mm de diamètre et 15 m de longueur (Altech, Deerfield, IL., États-Unis) ou sur une colonne capillaire DB-WAX de 1 micron, 0,53 mm de diamètre et 15 m de longueur (Agilent, Santa Clara, CA., États-Unis), l'hélium étant le gaz vecteur¹.

5.2 Réactifs

5.2.1 Méthanol (99 %) et acide sulfurique (H₂SO₄), composants de la solution de transestérification.

5.2.2 Eau distillée et hexane (99 %) pour extraire les FAME.

6 Stratégies d'échantillonnage

Étant donné que la composition en acides gras des végétaux peut varier en fonction des conditions climatiques, il convient que les zones comparées partagent les mêmes conditions climatiques (humidité, température, ensoleillement). De plus, étant donné que l'indice Oméga-3 est un indicateur précoce, sa valeur n'est pas pertinente lorsqu'un fort phénotype visuel (biomasse hautement réduite, chlorose foliaire élevée, etc.) est détecté dans les végétaux ayant poussé dans une zone, et n'est pas détecté dans une autre zone.

Selon l'objectif de l'étude, une ou plusieurs angiospermes peuvent être échantillonnées sur chaque zone d'intérêt. Pour la plupart des études, même si une seule espèce peut être utilisée pour l'évaluation d'un site donné (le sol d'une décharge métallurgique par exemple), il est recommandé d'utiliser plusieurs espèces (si possible, de trois à huit). En effet, en utilisant une seule espèce, il est possible d'échantillonner fortuitement une espèce hautement résistante (ou sensible). De plus, plus le nombre d'espèces échantillonnées est élevé, plus les résultats seront représentatifs de la «qualité du sol» pour la phytocénose en général. Par conséquent, dans ce cas, les différentes zones du site sont d'abord prospectées, et les espèces à échantillonner sont choisies parmi les exemples les plus représentatifs et, dans la mesure du possible, communs à toutes les zones. Il convient d'échantillonner, par zone, une feuille (ou un morceau de feuille lorsque les feuilles entières sont trop grandes pour être complètement immergées dans 1 ml de méthanol/H₂SO₄, voir 8.2) de quatre à huit individus par espèce. L'Annexe C répertorie certaines espèces végétales précédemment utilisées avec succès pour évaluer les sols de sites contaminés (par des composés organiques et/ou des métaux).

Lorsqu'il est impossible d'échantillonner les mêmes espèces dans toutes les zones, il demeure possible de déterminer l'indice Oméga-3, mais dans ce cas: (i) il convient que toutes les espèces échantillonnées dans une zone donnée soient présentes et échantillonnées dans au moins une autre zone, et (ii) il convient que toutes les paires de zones partagent au moins une espèce à échantillonner.

Noter que pour l'évaluation des pratiques agricoles, la seule espèce végétale à échantillonner est généralement l'espèce d'intérêt, à savoir la plante cultivée. Lorsqu'une seule espèce est échantillonnée, une feuille (ou un morceau de feuille) de 6 à 12 individus par zone est récoltée.

7 Échantillonnage des tissus foliaires

Il convient de respecter les recommandations suivantes pour échantillonner des tissus foliaires adaptés à l'analyse ultérieure:

- la réaction de transestérification consistant à obtenir des esters méthyliques d'acides gras à partir d'échantillons biologiques, et la présence d'eau entraînant l'hydrolyse des esters formés, la **présence d'eau externe sur les échantillons biologiques doit être évitée**. Par conséquent, si des feuilles sont mouillées, avant l'échantillonnage, il est nécessaire d'enlever l'eau de leur surface à l'aide d'un papier absorbant;

1) Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente norme et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

- ne pas échantillonner les feuilles souffrant de stress hydrique (sécheresse) ou biotique (pathogènes). Il convient de récolter uniquement les feuilles vertes;
- récolter les feuilles sur des individus de taille similaire. Par conséquent, il convient de ne pas récolter les feuilles de petits individus dans une zone et les feuilles de grands individus dans une autre zone pour mesurer l'indice Oméga-3 (voir [Annexe D](#) et [12]);
- à titre de précaution, nous recommandons de ne récolter que les feuilles matures et de laisser celles en développement (voir [Annexe D](#));
- lorsque seule une partie des feuilles est échantillonnée à partir d'une espèce donnée, récolter la même partie des feuilles (la partie distale par exemple) pour tous les individus;
- à titre de précaution, il est recommandé de récolter tous les végétaux dans un délai de 2 h à 3 h (voir [Annexe D](#)).

8 Obtention, extraction et analyses des FAME

8.1 Contrôle de la contamination

Pour empêcher toute contamination, il est nécessaire d'éviter tout contact entre les solutions et plastique, parafilm, colle, etc. Pour s'assurer de l'absence de contaminations (par exemple, erreurs de protocole, solutions contaminées, etc.), il convient d'effectuer un essai avant chaque série d'analyses en suivant le même protocole que celui décrit en [8.2](#) et [8.3](#), mais sans tissus biologiques dans les tubes de culture. Après les analyses CG, à l'exception du pic correspondant à l'hexane, il convient que le profil du chromatogramme en phase gazeuse ne présente pas de pics.

Éviter tout contact des solutions avec le plastique: cette recommandation ne s'applique pas aux pointes de pipette utilisées pour prélever la solution de méthanol/H₂SO₄ (40/1) ou l'hexane.

8.2 Obtention et extraction des FAME des feuilles de végétaux

Introduire les tissus foliaires (environ 1 cm × 1 cm) dans les tubes de culture (voir [5.1.3](#)) contenant 1 ml d'une solution de méthanol/H₂SO₄ (40/1). Fermer les tubes hermétiquement avec un bouchon à vis muni d'un joint en polytétrafluoroéthylène. Les chauffer pendant 1 h à 80 °C. Sous la pression de 1 atmosphère, le méthanol bouillant à 72 °C, il est obligatoire d'éviter toute évaporation et d'engendrer une pression de vapeur saturante dans les tubes. Il est donc important que ceux-ci soient parfaitement bouchés. Il est aussi nécessaire de contrôler visuellement (toute les 5 min pendant 20 min, puis toutes les 10 min) que la solution de méthanol/H₂SO₄ ne bout pas pendant la durée du chauffage. Si, pendant le chauffage, le contenu du tube bout, plonger le tube dans la glace pour le refroidir puis dévisser et revisser complètement le bouchon. Réajuster le volume, si besoin, à 1 ml en ajoutant du méthanol. Si le contenu bout encore après avoir remis le tube à chauffer, prendre un autre tube et un autre bouchon, y transvaser le contenu du tube défectueux. Il convient de ne pas analyser la composition en acides gras des tissus présents dans des tubes dont la solution de méthanol/H₂SO₄ s'est (quasiment) totalement évaporée lors du chauffage.

Après 1 h de chauffage à 80 °C, refroidir les tubes (les disposer sur de la glace par exemple). Ajouter d'abord 750 µl d'hexane 99 % puis 1,5 ml d'H₂O. Agiter vigoureusement manuellement pendant 20 s. Il convient d'éviter l'utilisation d'un vortex. Centrifuger les tubes entre 200 g et 300 g pendant 5 min à 10 min pour obtenir deux phases. À l'aide d'une pipette Pasteur, transvaser entre 200 µl et 400 µl d'hexane (phase supérieure) dans une fiole CG munie d'un insert. Fermer la fiole avec un bouchon à vis muni d'un septum en silicone. Il convient d'absolument éviter de prélever de la phase inférieure car l'eau détériore irréversiblement la colonne utilisée pour la chromatographie en phase gazeuse.

Noter qu'en respectant ce protocole, la composition en acides gras foliaires ne dépend pas de la quantité de tissus foliaires placés dans le tube (voir [Annexe E](#)).

8.3 Analyse des FAME

Réaliser l'analyse par chromatographie en phase gazeuse avec une colonne capillaire permettant de séparer et de quantifier les esters méthyliques d'acides gras de 14 atomes de carbone à 22 atomes de carbone, et pour chaque longueur de chaîne aliphatique, de séparer les esters saturés, mono, di et tri-insaturés. Les FAME sont identifiés par comparaison des temps de rétention avec des étalons d'esters méthyliques de C16:0; C16:1; C16:3; C18:0; C18:1; C18:2 et C18:3.

Après l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (voir [Annexe F](#)), prendre en compte la surface des pics du chromatogramme correspondant aux C16:0; C16:1; C16:3 (si présent); C18:0; C18:1; C18:2 et C18:3. Exprimer les résultats en pourcentage de chaque FAME, F_i . Le pourcentage est calculé en divisant la surface S_i du pic du FAME F_i par la somme des surfaces des pics correspondant aux C16:0, C16:1, C16:3 (si présent), C18:0, C18:1, C18:2 et C18:3, c'est-à-dire:

$$\% F_i = 100 \times S_i / (S_{C16:0} + S_{C16:1} + S_{C16:3} + S_{C18:0} + S_{C18:1} + S_{C18:2} + S_{C18:3}) \quad (1)$$

Il convient d'éliminer les résultats des analyses pour lesquelles on suspecte une contamination. Par exemple, lorsque la composition en acides gras s'éloigne trop de la composition en acides gras standard pour les tissus des feuilles vertes d'angiospermes (voir [Annexes B, E, F](#) et [\[6\]\[9-14\]\[18\]](#)).

- il convient que % C18:0, % C16:1 et % C18:1 soient chacun inférieurs à 10 %;
- il convient que C16:0 et C18:2 soient chacun compris entre 5 % et 30 %;
- il convient que C16:3 soit compris entre 0 % et 30 %; et
- il convient que C18:3 soit supérieur à 40 % de la somme (% C16:0 + % C16:1 + % C16:3 + % C18:0 + % C18:1 + % C18:2 + % C18:3).

De la même façon, ne pas tenir compte des résultats lorsqu'un ou plusieurs pic(s) supplémentaire(s) ne correspondant pas aux C16:0, C16:3, C18:0, C16:1, C18:1, C18:2 ou C18:3 apparaît/apparaissent dans des proportions significatives, par exemple un ou des pic(s) présentant une surface, S , supérieure à $0,15 \times (S_{C16:0} + S_{C16:1} + S_{C16:3} + S_{C18:0} + S_{C18:1} + S_{C18:2} + S_{C18:3})$.

Une ou plusieurs espèces végétales peuvent être échantillonnées par zone. Lorsqu'une seule espèce végétale est analysée ou lorsque toutes les espèces végétales sont trouvées dans toutes les zones d'échantillonnage, les modes opératoires statistiques standards sont suffisants pour effectuer l'analyse des résultats. Les analyses paramétriques (par exemple test t) pour de telles données supposent que les données sont normalement distribuées, que les traitements sont indépendants et que la variance est homogène entre les différents traitements. Il convient de vérifier ces hypothèses. Si les données satisfont à ces hypothèses, l'analyse des résultats peut se poursuivre. Sinon, il convient d'utiliser des essais non paramétriques. Uniquement en cas de différences statistiques significatives entre les zones, une notation est attribuée au sol de chaque zone.

Lorsqu'une seule espèce est analysée, et si des différences significatives entre les moyennes de l'indice Oméga-3 par zone sont observées, il convient de définir la notation d'une zone sous forme de moyenne de l'indice Oméga-3 sur cette zone, divisée par la moyenne maximale de l'indice Oméga-3 mesuré sur l'ensemble du site, toutes zones confondues.

Les valeurs de l'indice Oméga-3 peuvent dépendre de l'espèce végétale analysée. Par conséquent, lorsque plusieurs espèces végétales sont analysées en même temps, il convient d'utiliser des valeurs normalisées de l'indice Oméga-3. Le rapport X_p/X_{\max} est donc calculé, où X_p représente l'indice Oméga-3 mesuré pour l'individu p, et X_{\max} représente l'indice Oméga-3 maximal obtenu pour les individus de la même espèce sur un site donné, toutes zones confondues.

Lorsque plusieurs espèces végétales sont analysées et que toutes les espèces végétales ont été trouvées dans toutes les zones d'échantillonnage, et si des différences significatives sont observées entre les moyennes du rapport X_p/X_{\max} par zone (tous les individus de toutes les espèces incluses), la notation d'une zone est définie sous forme de moyenne du rapport X_p/X_{\max} sur cette zone (tous les individus de