

---

---

**Qualité du sol — Détermination de la  
diversité microbienne du sol —**

Partie 2:

**Méthode par analyse des acides gras  
phospholipidiques (PLFA) en utilisant  
la méthode simple d'extraction des  
PLFA**

*Soil quality — Determination of soil microbial diversity —*

*Part 2: Method by phospholipid fatty acid analysis (PLFA) using the  
simple PLFA extraction method*

[ISO/TS 29843-2:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021>



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

[ISO/TS 29843-2:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2021

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</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Symboles et termes abrégés (à l'exception des produits chimiques et des réactifs)</b> .....	<b>1</b>
<b>5</b> <b>Principe</b> .....	<b>2</b>
<b>6</b> <b>Matériaux d'essai</b> .....	<b>3</b>
6.1    Sol.....	3
6.2    Réactifs.....	3
6.3    Appareillage.....	4
<b>7</b> <b>Modes opératoires</b> .....	<b>5</b>
7.1    Extraction des lipides (extraction de Bligh-Dyer).....	5
7.2    Séparation des lipides par colonne SI.....	6
7.3    Dérivation — Transméthylation — Purification.....	6
7.4    Analyse PLFA.....	6
<b>Bibliographie</b> .....	<b>8</b>

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

[ISO/TS 29843-2:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021>

## 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 nature volontaire des normes, 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 [www.iso.org/avant-propos](http://www.iso.org/avant-propos).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Caractérisation biologique*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 444, *Méthodes d'essai pour la caractérisation environnementale des matrices solides*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette seconde édition annule et remplace la première édition (ISO/TS 29843-2:2011) qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

- ajout d'une spécification pour l'analyse qualitative et quantitative des PLFA;
- utilisation des étalons BAME (qualitatif) ou FAME (quantitatif);
- utilisation d'un appareil de GC-MS;
- apport de précisions techniques en 7.2 et 7.3;
- indication de la possibilité d'utiliser des colonnes du commerce en complément ou en remplacement des colonnes préparées au laboratoire;
- mise à jour des références bibliographiques.

Une liste de toutes les parties de la série ISO/TS 29843 se trouve sur le site web de l'ISO.

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](http://www.iso.org/fr/members.html).

## Introduction

Les phospholipides sont des composants essentiels des membranes de toutes les cellules vivantes. Extraits d'échantillons de sol sous forme d'acides gras (acides gras phospholipidiques, PLFA) ou de chaînes latérales isopréniques à liaison éther (lipides éther phospholipidiques, PLEL), ils apportent des connaissances quantitatives et qualitatives relatives à la biomasse microbienne viable/active du sol. Les enzymes cellulaires hydrolysent et libèrent le groupe phosphate dans les minutes ou les heures qui suivent la mort cellulaire<sup>[1]</sup>. Le dosage des PLFA et des PLEL totaux fournit une mesure quantitative de la biomasse viable du sol, c'est-à-dire des micro-organismes des trois principaux domaines de la biosphère (bactéries, archées et microeucaryotes). Les PLFA et les PLEL peuvent également permettre une différenciation taxonomique sommaire à l'intérieur de communautés microbiennes complexes<sup>[2],[3]</sup>. Chaque espèce microbienne contient plusieurs acides gras, avec une composition totale en PLFA soumise aux conditions environnementales<sup>[4]</sup>. L'approche est mise en œuvre pour évaluer la biomasse et les changements dans la composition des communautés microbiennes<sup>[5]</sup>, en ce qui concerne la dominance des principaux groupes d'organismes<sup>[6]</sup>. Par ailleurs, combinées avec l'utilisation des substrats marqués avec un isotope (<sup>13</sup>C ou <sup>14</sup>C), les méthodes utilisant les lipides peuvent aussi être utilisées pour identifier la partie métaboliquement active de la communauté microbienne. Cette approche est bien établie dans le domaine de l'écologie des sols et sert d'outil phénotypique. Elle est donc complémentaire aux approches de génotypage pour déterminer la diversité microbienne. En plus des descriptions taxonomiques, la technique PLFA permet de déterminer les modifications physiologiques au sein des consortiums microbiens. Par exemple, les PLFA monoéniques 16:1 $\omega$ 7c et 18:1 $\omega$ 7c sont progressivement convertis en acides gras cyclopropyloxy cy17:0 et cy19:0 dans les bactéries Gram-négatives en réponse aux contraintes environnementales<sup>[7]</sup>.

Il existe différentes méthodes de dosage des acides gras présents dans le sol. Ces méthodes présentent, lors de leur application, des niveaux de complexité variables et permettent d'obtenir différents niveaux de résolution concernant la description des communautés microbiennes du sol. L'ISO/TS 29843-1 traite de la méthode généralement appelée «méthode étendue d'extraction des PLFA» tandis que le présent document traite de celle généralement appelée «méthode simple d'extraction des PLFA»<sup>[8],[9]</sup>.

Le présent document est accessible à la plupart des laboratoires d'analyse et de recherche concernés par les sciences de la terre. Cette méthode peut être utilisée pour un large éventail de sols. Elle fournit une mesure de la grande diversité de la communauté microbienne du sol à un niveau phénotypique. Elle peut être appliquée à l'estimation de la biomasse et peut être utilisée pour différencier les communautés microbiennes dans différents échantillons de sol (à l'aide d'une méthode statistique adaptée). Cette méthode est particulièrement adaptée à la détection des modifications rapides de la structure de la communauté microbienne du sol. Elle peut également être utilisée pour une description sommaire des groupes microbiens présents dans les échantillons de sol (par exemple les bactéries Gram-positives, les actinomycètes, les champignons<sup>[6]</sup>). Le [Tableau 1](#) (adapté de la Référence [8]) présente une comparaison de la sensibilité des techniques «PLFA étendue» et «PLFA simple».

**Tableau 1 — — Comparaison de la sensibilité des techniques PLFA «simple» et «étendue» pour la caractérisation des changements dans la composition des communautés microbiennes**

Propriété	PLFA (simple)	PLFA (étendue)
Aptitude à différencier deux communautés (à l'aide de méthodes statistiques à plusieurs variables)	Oui	Oui
Applicabilité pour l'estimation de la biomasse	Oui	Oui
Aptitude à répertorier tous les composants simples de la structure d'une communauté entière («empreinte»)	Non	Oui
Aptitude à répertorier les acides gras autres que les acides gras à liaison ester	Non	Oui
FA: acides gras EL-FA: acides gras à liaison ester NEL-FA: acides gras sans liaison ester		

**Tableau 1 (suite)**

Propriété	PLFA (simple)	PLFA (étendue)
Estimation du nombre d'acides gras dans les échantillons de sol	<50	200 à 400
Capacité à doser la liaison des acides gras aux lipides dans la molécule	Oui, liaison ester (EL)	Oui, liaison ester (EL), sans liaison ester (NEL)
Capacité à détecter les acides gras définis à de faibles concentrations dans l'extrait de sol	Non	Oui
Capacité à détecter les acides gras inhabituels dans l'extrait de sol	Non	Oui
Nombre de signatures disponibles d'acides gras pour des organismes définis	Peu	Nombre élevé
Relation des acides gras répandus dans le profil	Importante	Naturelle
Aptitude à identifier les organismes provoquant des changements dans la communauté microbienne	Non	Oui, dans l'ensemble
FA: acides gras EL-FA: acides gras à liaison ester NEL-FA: acides gras sans liaison ester		

La présente méthode est dérivée de la première méthode proposée par la Référence [10]. Cette méthode révisée a été largement utilisée<sup>[11]</sup> et a également été examinée et comparée à la méthode étendue d'extraction des PLFA dans des articles évalués par des pairs [8],[9].

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

[ISO/TS 29843-2:2021](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7965e03-d5c7-4609-9e4f-4b03b6a225ae/iso-ts-29843-2-2021>