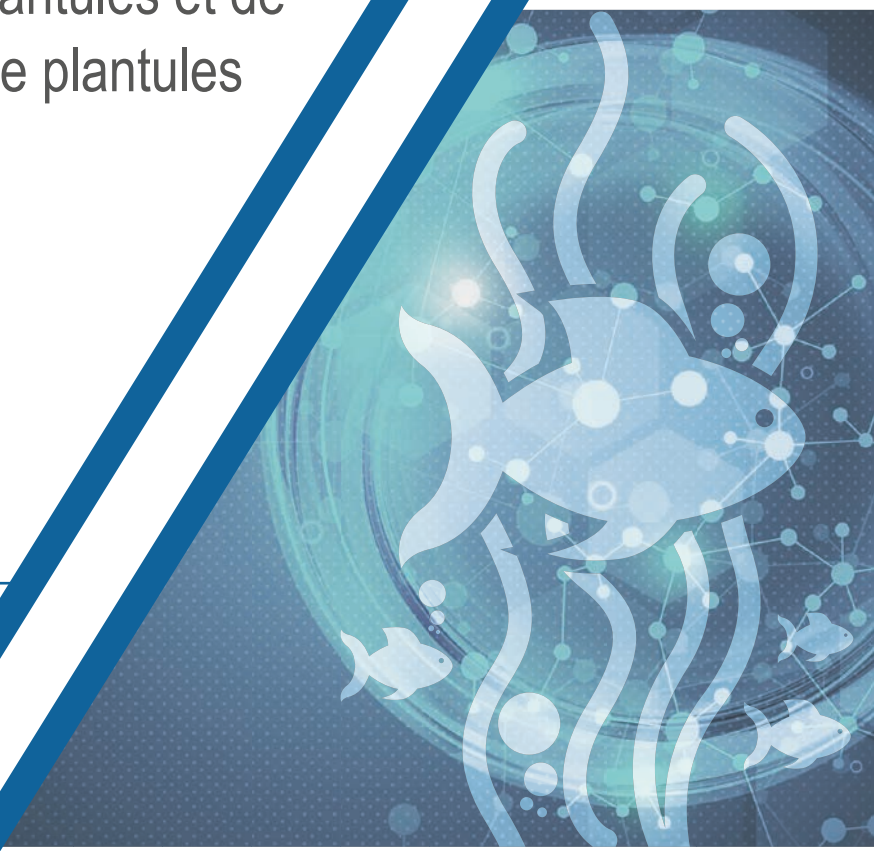
Section 2
Effets sur les systèmes biologiques

Ligne Directrice n° 208

Essai sur plante terrestre : essai d'émergence de plantules et de croissance de plantules



14 juin 2021

Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques

OECD
BETTER POLICIES FOR BETTER LIVES

Adoptée:
19 juillet 2006
Corrigée:14 juin 2021
Paragraphe 19 (français uniquement)

LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

Essai sur plante terrestre : essai d'émergence de plantules et de croissance de plantules

INTRODUCTION

1. Les lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques sont régulièrement révisées pour tenir compte des progrès scientifiques et de l'adéquation à la pratique réglementaire. Cette ligne directrice mise à jour a pour objet d'évaluer les effets potentiels de substances sur l'émergence et la croissance de plantules. Elle ne couvre pas pour autant tous les effets chroniques ni tous les effets sur la reproduction (c'est-à-dire la grenaison, la formation de fleurs, la maturation des fruits). Il est impératif de tenir compte des conditions d'exposition et des propriétés de la substance de l'essai pour garantir l'utilisation de procédés d'essai appropriés (par exemple, lors de l'essai de métaux et de composés métalliques, il convient de prendre en compte les effets de pH et des contre-ions associés). Cette ligne directrice ne concerne pas les plantes exposées à des vapeurs de produits chimiques. Elle s'applique aux essais de produits chimiques généraux, aux biocides et aux produits de protection des cultures (également désigné par produits phytosanitaires ou pesticides). Elle s'inspire de procédés existants (2) (3) (4) (5) (6) (7). D'autres références en lien avec les essais sur plantes ont également été consultées (8) (9) (10). L'annexe 1 présente les définitions utilisées.

PRINCIPE DE L'ESSAI

2. Le test évalue les effets d'une exposition à la substance d'essai contenue dans le sol (ou une autre matrice de sol appropriée) sur l'émergence des plantules et le début de croissance des plantes supérieures. Les semences sont placées au contact d'un sol traité par la substance d'essai, dont les effets sont évalués au bout d'environ 14 à 21 jours après émergence de 50 % des plantules dans le groupe témoin. Les points finals mesurés représentent l'évaluation visuelle de l'émergence des plantules, le poids sec des pousses (ou bien le poids frais des pousses) et dans certains cas la hauteur des pousses, ainsi que l'évaluation des effets nocifs visibles sur différentes parties de la plante. Ces mesures et observations sont comparées à celles réalisées sur des plantes témoins non traitées.

3. Selon la voie d'exposition probable, la substance d'essai est incorporée dans le sol (ou éventuellement dans une matrice de sol artificiel) ou bien appliquée sur la surface du sol, ce qui représente précisément la voie potentielle d'exposition au produit chimique. La substance est incorporée dans le sol par traitement du sol brut. Après l'application, le sol est transféré dans des pots, puis les graines de l'espèce de plante donnée sont plantées dans le sol. Dans les cas d'application en surface, le produit chimique est appliqué sur le sol en pots dans lequel les graines ont déjà été plantées. Les unités d'essai (témoins et sols traités plus graines) sont ensuite placées dans des conditions appropriées favorisant la germination et/ou la croissance des plantes.

© OCDE (2021)
L'OCDE autorise l'utilisation de ce contenu aux conditions décrites sur le site: http://www.oecd.org/fr/conditionsdutilisation.

4. Selon l'objectif visé par l'étude, l'essai peut permettre de déterminer la courbe dose-réponse, ou il peut être mis en œuvre à une unique concentration ou un unique taux, et il s'agit alors d'un essai de seuil. Si les résultats de l'essai sur une seule concentration ou un seul taux excèdent un certain seuil de toxicité (par exemple, lorsque des effets supérieurs à x % sont observés), on procède à un essai de détermination de l'ordre de grandeur afin de définir les limites de toxicité supérieures et inférieures, puis à un essai employant plusieurs concentrations ou taux afin de tracer une courbe dose-réponse. Une analyse statistique appropriée permet de calculer une concentration efficace CE_x ou un taux d'application efficace TE_x (par exemple CE_{25}, TE_{25}, CE_{50}, TE_{50}), pour le paramètre ou les paramètres pertinents les plus sensibles. Cet essai peut également fournir les valeurs calculées de concentration sans effet observé (CSEO) et de concentration minimale avec effet observé (CMEO).

INFORMATION SUR LA SUBSTANCE DE L'ESSAI

5. La détermination de la voie d'exposition probable de la substance, et par conséquent la conception de l'essai pourront s'appuyer sur les informations suivantes : formule développée, pureté, solubilité dans l'eau, solubilité dans les solvants organiques, coefficient de partage n-octanol/eau, comportement de sorption par le sol, pression de vapeur, stabilité chimique vis-à-vis de l'eau et de la lumière et biodégradabilité.

VALIDITÉ DE L'ESSAI

6. Pour valider l'essai, les critères de performance suivants devront être satisfaits par les témoins :

- L'émergence des plantules atteint au moins 70 % ;
- les plantes ne présentent aucun effet phytotoxique visible (par exemple, chlorose, nécrose, flétrissement, déformation des feuilles et des tiges). Seules des variations normales de la croissance et de la morphologie de l'espèce particulière de plantes sont observées ;
- le taux de survie moyen des plantules témoins émergées est d'au moins 90 % pendant la durée de l'étude ;
- les conditions environnementales pour une espèce particulière sont identiques et les milieux de croissance contiennent la même quantité de matrice de sol, de milieu de support ou de substrat provenant de la même source.

SUBTANCE DE RÉFÉRENCE

7. L'essai d'une substance de référence à intervalles réguliers permet de vérifier la régularité des performances de l'essai et de la réponse des plantes particulières de l'essai, ainsi que des conditions d'essai. Il est également possible d'utiliser des mesures historiques de biomasse ou de croissance de témoins pour évaluer les performances du système d'essai dans des laboratoires particuliers et ces mesures peuvent également servir de contrôle de qualité intra-laboratoire.

DESCRIPTION DU PROCÉDÉ

Sol naturel – Substrat artificiel

8. On peut cultiver les plantes dans des pots contenant un limon sableux, un sable limoneux ou un limon d'argile sableuse dont la teneur en carbone organique peut atteindre 1.5 % (environ 3 % de matières organiques). Un terreau commercial ou un mélange de sol synthétique qui contient jusqu'à 1.5 % de

© OCDE 2021

carbone organique conviennent également. Les sols argileux doivent être exclus si la substance de l'essai a une affinité élevée avérée pour les argiles. Les sols de champs doivent être tamisés pour homogénéiser la taille de particule en dessous de 2 mm et éliminer les particules grossières. Le type et la texture, la proportion de carbone organique, le pH et la teneur en sels mesurée par la conductivité électronique du sol préparé final doivent être enregistrés, et le sol classé conformément à un schéma de classification standard (11). Pour réduire les effets des pathogènes du sol, celui-ci pourra subir une pasteurisation ou un traitement thermique.

9. L'emploi d'un sol naturel peut compliquer l'interprétation des résultats et augmenter la variabilité, du fait de la variation des propriétés physicochimiques et des populations microbiennes. Ces paramètres peuvent modifier la capacité de rétention d'humidité, la capacité de liaison chimique, l'aération et la teneur en nutriment et en oligoéléments. Les fluctuations de ces facteurs physiques s'ajoutent à des variations des propriétés chimiques telles que le pH et le potentiel redox, qui peuvent affecter la biodisponibilité de la substance d'essai (12) (13) (14).

10. Il est inhabituel d'utiliser des substrats artificiels pour les essais de produits phytosanitaires, mais ils peuvent être employés pour les essais de produits chimiques généraux ou lorsqu'il est souhaitable de réduire la variabilité des sols naturels et d'améliorer la comparabilité des résultats de l'essai. Les substrats doivent être composés de matériaux inertes présentant des interactions minimales avec la substance d'essai, le solvant véhicule ou les deux. Des matériaux inertes appropriés qui absorbent très peu la substance d'essai (15), assurant ainsi une disponibilité maximale de la substance pour les plantules par absorption racinaire, sont le sable de quartz lavé par un acide, la laine minérale et les billes de verre (par exemple, de 0.35 à 0.85 mm de diamètre). La vermiculite, la perlite ou d'autres matériaux très absorbants ne conviennent pas. L'apport de nutriments favorisant la croissance végétale évitera aux plantes les stress dus aux carences nutritives, qui seront évaluées, si possible, par des analyses chimiques ou un contrôle visuel des plantes témoins.

Critère de sélection de l'espèce de l'essai

11. L'espèce sélectionnée devra être raisonnablement répandue, par exemple, en termes de diversité taxonomique dans le royaume végétal, de distribution, d'abondance, de caractéristiques du cycle vital spécifique de l'espèce et de régions d'occurrence naturelle, pour permettre le développement d'une série de réponses (8) (10) (16) (17) (18) (19) (20). Le choix devra tenir compte des caractéristiques suivantes des espèces d'essai envisagées :

- Les semences de l'espèce sont uniformes, et largement disponibles auprès de sources de semences standard fiables, et produisent une germination régulière, fiable et uniforme, ainsi qu'une croissance uniforme des plantules ;
- La plante est adaptée à l'essai au laboratoire, et susceptible de donner des résultats fiables et reproductibles dans une même installation d'essai et entre des installations d'essai différentes ;
- La sensibilité de l'espèce d'essai doit correspondre aux réponses des plantes se trouvant dans l'environnement exposé à la substance ;
- L'espèce a déjà été utilisée dans des essais de toxicité antérieurs de quelque ampleur, et son comportement, par exemple dans des essais biologiques d'herbicides, le criblage de métaux lourds, des essais de stress salin ou minéral ou des études d'allélopathie indique une sensibilité à une large gamme d'agents stressants ;
- elle est compatible avec les conditions de croissance du procédé de l'essai ;
- elle se conforme aux critères de validité de l'essai.

Certaines des espèces les plus couramment utilisées dans le passé sont indiquées dans l'annexe 2 et des espèces non cultivées potentielles dans l'annexe 3.

© OCDE 2021

12. Le nombre d'espèces à inclure dans l'essai dépend des exigences réglementaires en vigueur et n'est par conséquent pas spécifié dans cette Ligne directrice.

Application de la substance d'essai

13. La substance doit être appliquée dans un support approprié (par exemple eau, acétone, éthanol, polyéthylène glycol et gomme arabique). Il est également possible de tester des produits formulés et des formulations contenant les ingrédients actifs et divers adjuvants.

Incorporation dans le sol ou dans le susbtrat artificiel

14. Les substances hydrosolubles ou en suspension dans l'eau peuvent être ajoutées à de l'eau, et la solution est ensuite mélangée avec du sol à l'aide d'un dispositif de mélange approprié. Ce type d'essai peut convenir pour une exposition au produit chimique par le sol ou par l'eau de porosité et lorsqu'il y a un risque d'absorption racinaire. La quantité de la substance d'essai ajoutée ne doit pas excéder la capacité d'eau du sol. Le volume d'eau ajouté doit être identique pour chaque concentration de l'essai, tout en restant limité afin d'éviter la formation d'amas de sol aggloméré.

15. Les substances à faible solubilité dans l'eau doivent être dissoutes dans un solvant volatile approprié (par exemple acétone, éthanol) et mélangées à du sable. Il est possible de retirer ensuite le solvant du sable à l'aide d'un courant d'air sous agitation continue du sable. Le sable traité est ensuite mélangé avec le sol expérimental. Un second témoin constitué seulement de sable ou de solvant est préparé. Les traitements à différentes doses et le second témoin reçoivent des quantités égales de sable duquel le solvant a été mélangé puis ôté. Dans le cas de substances d'essai solides insolubles, le mélange de sol sec et de produit chimique est préparé dans un dispositif de mélange approprié. Ensuite, le sol est ajouté aux pots et les graines y sont immédiatement semées.

16. Lorsqu'un substrat artificiel remplace le sol, les produits chimiques solubles dans l'eau peuvent être dissous dans la solution nutritive juste avant le début de l'essai. Les produits chimiques insolubles dans l'eau, mais qu'il est possible de mettre en suspension dans l'eau grâce à un support de solvant, sont ajoutés avec le support à la solution nutritive. Les produits chimiques insolubles dans l'eau pour lesquels il n'existe aucun support hydrosoluble non toxique doivent être dissous dans un solvant volatil approprié. La solution mélangée avec du sable ou des billes de verre est placée dans un appareil rotatif sous vide et évaporée, en formant un revêtement uniforme de produit chimique sur le sable ou les billes. Une portion tarée de billes est extraite par le même solvant organique et le produit chimique de l'essai dosé avant de remplir les pots.

Application en surface

17. Dans le cas de produits phytosanitaires, l'application de la solution d'essai se fait souvent par pulvérisation sur la surface du sol d'une solution d'essai. Le modèle et la capacité de tous les équipements utilisés pour conduire l'essai, en particulier les appareils utilisés pour préparer et administrer la substance d'essai, doivent permettre sa mise en œuvre précise, avec une couverture reproductible. Celle-ci doit être uniforme sur les surfaces de sol. On s'efforcera d'éviter d'éventuelles interactions par absorption ou réaction des produits chimiques avec le matériel (par exemple, tubes de plastique et produits chimiques, composants ou éléments en acier). La pulvérisation de la substance de l'essai sur la surface de sol simule des applications par pulvérisation usuelles. En général, les volumes pulvérisés se situent dans l'intervalle utilisé en pratique agronomique normale et ils doivent être notés (quantité d'eau etc.). Le type de buse choisi doit permettre de couvrir uniformément la surface de sol. Dans le cas d'applications de solvants ou de supports, un second groupe de plantes témoins est mis en place et ne reçoit que le solvant ou le support, sauf pour les produits phytosanitaires testés sous forme de formulations.

© OCDE 2021

Vérification de la concentration ou du taux de substance de l'essai

18. Les concentrations ou les taux d'application doivent être confirmés par une vérification analytique appropriée. L'analyse de la concentration la plus élevée de solutions d'essai, associée au relevé des dilutions consécutives et à l'utilisation d'applicateurs étalonnés (par exemple, verrerie analytique étalonnée, étalonnage du pulvérisateur) confirmera éventuellement la vérification des concentrations et les taux de l'essai pour les matériaux solubles. Pour les matériaux insolubles, la vérification devra s'appuyer sur les poids de substance d'essai ajoutés au sol. L'analyse du sol peut être nécessaire dans le cas où l'homogénéité de l'application doit être démontrée.

RÉALISATION DE L'ESSAI

Modèle de l'essai

19. Des graines de la même espèce sont semées en pots. Le nombre de graines par pot dépend de l'espèce, de la taille du pot et de la durée de l'essai, et doit garantir des conditions de croissance adéquates et uniformes et éviter la surpopulation pendant la durée de l'essai. La densité maximale de graines est d'environ 3 à 10 graines par 100 cm^2, selon la taille des graines. Par exemple, des densités d'un ou deux plants de maïs, de soja, de tomate, de concombre ou de betterave à sucre par récipient de 15 cm, de trois plants de colza ou de pois par récipient de 15 cm et de 5 à 10 graines d'oignons, de blé ou d'autres petites graines par récipient de 15 cm sont recommandées. Le nombre de graines et de répliques de pots (une réplique correspond à un pot, et par conséquent les plantes dans un même pot ne peuvent faire fonction de répliques) doivent satisfaire aux conditions d'une analyse statistique optimale (21). Il convient de noter que la variabilité augmente pour les espèces d'essai à grosses graines dont on n'utilise moins de graines par pot (réplique) par rapport à des espèces d'essai pour lesquelles il est possible d'utiliser des nombres plus élevés de petites graines par pot. En plantant un nombre égal de graines dans chaque pot, cette variabilité diminue.

20. L'utilisation de groupes de contrôle permet de confirmer que les effets observés ne peuvent être associés ou attribués qu'à l'exposition à la substance d'essai. Le groupe de contrôle approprié doit être identique sous tous rapports avec le groupe d'essai, à l'exception de l'exposition à la substance d'essai. Dans un essai donné, toutes les plantes de l'essai, y compris les témoins devront provenir de la même source. Pour éliminer tout biais, une répartition aléatoire des pots d'essai et témoins est indispensable.

21. Il convient d'éviter l'emploi de graines recouvertes d'un insecticide ou d'un fongicide (c'est à dire les graines enrobées). Toutefois, l'utilisation de certains fongicides de contact non systémiques (par exemple captan, thiram) est autorisé par certaines autorités réglementaires (22). Le problème éventuel des pathogènes disséminés par les semences peut être résolu par une brève immersion des semences dans une solution d'hypochloride à 5 %, suivie d'un rinçage abondant à l'eau courante et d'un séchage. Aucun autre traitement curatif par des produits phytosanitaires n'est autorisé.

Conditions de l'essai

22. Les conditions de l'essai doivent être aussi proches que possible des conditions nécessaires à la croissance normale ou des conditions environnementales habituelles pour l'espèce et les variétés testées (voir par exemple annexe 4). Les plantes émergentes doivent être entretenues par de bonnes pratiques horticoles dans des chambres à environnement contrôlé, des phytotrons ou des serres. Si l'on dispose des installations adéquates, ces pratiques comprennent habituellement le contrôle et l'enregistrement suffisamment fréquents (par exemple quotidien) de la température, de l'humidité, de la concentration de dioxyde de carbone, des variables de luminosité (intensité, longueur d'onde, domaine de longueur d'onde autorisant la photosynthèse) et de la périodicité lumineuse, du fonctionnement des dispositifs d'arrosage,

© OCDE 2021

etc, permettant d'assurer une croissance satisfaisante de la plante estimée par l'observation des plantes témoins. Les températures de serre sont contrôlées par des systèmes de ventilation, de chauffage et/ou de refroidissement. Les conditions suivantes sont généralement recommandées pour les essais en serre :

- température : 22 ºC±10 ºC;
- humidité : 70 % ±25 % ;
- photopériode : 16 heures de lumière au minimum ;
- intensité lumineuse : 350±50 $\mu E/m^2/s$. Un éclairage d'appoint peut être nécessaire si l'intensité descend en dessous de 200 $\mu E/m^2/s$, longueur d'onde 400-700 nm, sauf pour certaines espèces dont les exigences en lumière sont moindres.

Les conditions environnementales doivent contrôlées et notées pendant la durée de l'étude. Les plantes sont cultivées dans des pots en plastique non poreux ou émaillé posés sur une clayette ou une soucoupe. On peut les déplacer périodiquement pour diminuer la variabilité de croissance entre plantes (provoquées par des différences de conditions d'essai dans les installations de culture). La taille des pots doit être suffisante pour une croissance.

23. Des suppléments peuvent compléter les nutriments du sol pour assurer une bonne vigueur végétale. Les besoins en nutriments et le calendrier de leur addition sont déterminés par l'observation des plantes témoins. Il est recommandé d'alimenter en eau par le fond des récipients d'essai (par exemple, en utilisant des mèches en fibres de verre). Toutefois, un arrosage initial par le haut peut stimuler la germination des graines et faciliter le déplacement du produit chimique dans le sol lors d'une application sur la surface du sol.

24. Les conditions de croissance spécifiques doivent être adaptées à l'espèce d'essai et à la substance d'essai à l'étude. Il faut maintenir les plantes témoins et traitées dans les mêmes conditions environnementales, et prendre par conséquent des dispositions pour empêcher une exposition croisée (par exemple par des substances volatiles) entre différents traitements, et une exposition des témoins à la substance de l'essai.

Essais à une seule concentration ou un seul taux

25. Plusieurs facteurs prévalent lorsque l'on cherche à déterminer la concentration ou le taux approprié d'une substance dans le cadre d'un essai à une seule concentration ou un seul taux (stimulation/limite). Ils comprennent les propriétés physiques et chimiques de la substance lorsqu'il s'agit d'un produit chimique général. Pour les produits phytosanitaires, il convient de tenir compte des propriétés physico-chimiques et du régime d'utilisation de la substance de l'essai, de sa concentration ou de son taux maximal, du nombre d'applications par saison et/ou de la persistance du composé de l'essai. La détermination d'éventuelles propriétés phytotoxiques d'un produit chimique général peut demander la mise en œuvre de l'essai à une teneur maximale de 1000 mg/kg de sol sec.

Essai de détermination de l'ordre de grandeur

26. Le cas échéant, un essai de détermination de l'ordre de grandeur peut contribuer à fixer la concentration ou le taux d'application à expérimenter dans l'étude dose-réponse définitive. Dans un tel essai, les concentrations ou les taux à tester sont largement espacés (par exemple 0,1, 1,0, 10, 100 et 1000 mg/kg de sol sec). Dans le cas de produits phytosanitaires, on peut calculer les concentrations ou les

© OCDE 2021

taux à partir de la concentration ou du taux d'application recommandé ou maximal, par exemple, 1/100, 1/10, ou 1 fois la concentration ou le taux d'application recommandé ou maximal.

Essais à plusieurs concentrations ou taux d'application

27. L'objectif d'un essai à plusieurs concentrations ou taux d'application est l'établissement d'une relation dose-réponse et la détermination d'une valeur de CE_x ou de TE_x lié à l'émergence, à la biomasse et/ou à des effets visuels par rapport à des témoins non exposés, comme il est exigé par les autorités réglementaires.

28. L'intervalle entre les concentrations ou les taux ainsi que leur nombre doivent être suffisants pour établir une relation dose-réponse et une équation de régression, et obtenir une estimation des CE_x ou des TE_x. Les intervalles de concentration ou de taux doivent englober les valeurs de CE_x ou de TE_x à déterminer. Par exemple, si l'on recherche une CE_{50}, il est préférable de conduire l'essai à des taux produisant un effet de 20 à 80 % . Le nombre recommandé de concentrations ou de taux d'essai pour atteindre cet objectif est d'au moins 5 en série géométrique, plus un témoin non traité, espacés d'un facteur d'au plus trois. Pour chaque groupe de traitement et de contrôle, le nombre de répliques doit être au moins égal à quatre et le nombre total de graines au moins égal à 20. Pour certaines plantes à faible taux de germination ou aux caractéristiques de croissance variables, davantage de répliques peuvent être nécessaires pour augmenter la puissance statistique de l'essai. Lorsque l'on utilise un grand nombre de concentrations ou de taux d'essai, on peut réduire le nombre de répliques. Pour estimer le CSEO, il faut parfois davantage de répliques pour obtenir la puissance statistique adéquate (23).

Observations

29. Pendant la période d'observation, c'est-à-dire 14 à 21 jours après l'émergence de 50 % des plantes témoins (et également des témoins de solvant, le cas échéant), les plantes sont examinées fréquemment (au moins une fois par semaine et si possible une fois par jour) pour enregistrer l'émergence, la phytoxicité visuelle et la mortalité. A la fin de l'essai, le pourcentage d'émergence et la biomasse des plantes survivantes sont mesurées, ainsi que les effets nocifs visibles sur différentes parties de la plante, en particulier des anomalies dans l'apparence des plantules émergées, une croissance avortée, une chlorose, une décoloration, une mortalité et des effets sur le développement végétal. La biomasse finale peut être mesurée par le poids sec moyen des pousses des plantes survivantes, après récolte des pousses à la surface du sol et séchage à masse constante à 60 °C, ou bien par le poids frais des pousses. La hauteur de la pousse peut constituer un autre effet mesuré, parfois exigé par les autorités réglementaires. Il convient d'utiliser une notation homogène des lésions visuelles pour évaluer les réponses toxiques détectables. Des exemples pratique d'évaluations visuelles qualitatives et quantitatives sont proposés dans les références (23) (24).

RÉSULTATS ET RAPPORT

Analyse statistique

Essai à une seule concentration ou un seul taux

30. Pour chaque espèce végétale, les données sont analysées en utilisant une méthode statistique appropriée (21). Il convient de noter la valeur d'un effet à la concentration ou au taux de l'essai, ou bien l'incapacité à obtenir un effet donné à la concentration ou au taux de l'essai (par exemple, $<x$ *%* de l'effet observé à la concentration ou au taux y).

© OCDE 2021

Essais à plusieurs concentrations ou taux d'application

31. Une relation dose-réponse est établie par une équation de régression. Différents modèles sont applicables, par exemple, pour estimer une CE_x ou un TE_x (par exemple CE_{25}, TE_{25}, CE_{50}, TE_{50}) et leurs limites de confiance pour l'émergence sous forme de résultats tout ou rien, d'unités logit, probit, Weibull, les méthodes de Spearman-Karber et Spearman-Karber abrégées peuvent convenir. Pour évaluer la croissance des plantules (poids et hauteur) en points finals continus, CE_x ou TE_x et leurs limites de confiance peuvent être estimés à l'aide d'une analyse de régression appropriée (par exemple analyse de régression non linéaire Bruce-Versteeg (25)). Autant que possible, la valeur de R^2 sera supérieure ou égale à 0.7 pour les espèces les plus sensibles et les concentrations ou taux d'essai utilisés comprendront les effets à 20 % et à 80 %. Dans la mesure où il faut estimer le CSEO, il est préférable d'appliquer des tests statistiques puissants qui seront choisis en fonction de la distribution des données (21) (26).

Rapport d'essai

32. Le rapport d'essai doit mentionner les résultats des études ainsi qu'une description détaillée des conditions d'essai, une discussion approfondie des résultats, une analyse des données et les conclusions tirées de l'analyse. Un résumé sous forme de tableaux et une synthèse des résultats sont proposés. Le rapport doit comporter les informations suivantes :

Substance d'essai :

- données d'identifications chimiques, propriétés pertinente de la substance d'essai (par exemple log P_{ow}, solubilité dans l'eau, pression de vapeur et informations sur le devenir et le comportement dans l'environnement lorsqu'elles sont disponibles) ;
- détails sur la préparation de la solution d'essai et vérification des concentrations d'essai comme il est spécifié dans le paragraphe 18.

Espèces soumises à l'essai :

- détails sur l'organisme expérimental : espèce/variété, familles de plantes, noms scientifiques et communs, source et histoire de la graine aussi détaillées que possible (à savoir, nom du fournisseur, pourcentage de germination, classe de taille de la semence, numéro du lot, année de la semence ou saison de croissance de la récolte, date de l'évaluation de la germination), viabilité, etc. ;
- nombre d'espèces monocotylédones et dicotylédones soumises à l'essai ;
- justification du choix de l'espèce ;
- description du stockage, du traitement et de la maintenance des semences.

Conditions d'essai :

- installation utilisée dans l'essai (par exemple, chambre de croissance, phytotron, serre) ;
- description du système d'essai (par exemple, dimension des pots, matière des pots et quantité de sol) ;
- caractéristiques du sol (texture ou type de sol : par exemple distribution et classification des particules du sol, propriétés physiques et chimiques, en particulier pourcentage de matières organiques, pourcentage de carbone organique, pH) ;
- préparation du sol ou du substrat (par exemple, sol artificiel, sable, et autres) avant l'essai ;
- description du milieu nutritif, le cas échéant ;

© OCDE 2021

- application de la substance d'essai : description de la méthode d'application, description du matériel, taux d'exposition et volume, en particulier vérification chimique, description de la méthode d'étalonnage, description des conditions environnementales pendant l'application ;
- conditions de croissance : intensité lumineuse (par exemple, domaine longueur d'onde autorisant la photosynthèse), photopériode, températures maximales et minimales, régime et procédé d'arrosage, fertilisation ;
- nombre de graines par pot, nombre de plantes par dose ; nombre de répliques (pots) par taux d'exposition ;
- type et nombre de contrôles (témoins négatifs et/ou positifs, témoin de solvant le cas échéant) ;
- durée de l'essai.

Résultats :

- tableau de tous les effets mesurés pour chaque réplique, taux ou concentration d'essai et espèce ;
- pourcentage d'inhibition pour chaque espèce par rapport aux témoins ;
- mesures de biomasse (poids sec ou poids frais des pousses) des plantes en pourcentages de témoins ;
- hauteur des pousses des plantes en pourcentages des témoins, lorsqu'elles ont été mesurées ;
- pourcentage de lésions visibles et description qualitative et quantitative des lésions visibles (chlorose, nécrose, flétrissement, déformation des feuilles et des tiges ainsi qu'une absence quelconque d'effet) provoquées par la substance d'essai par rapport aux plantes témoins ;
- description de l'échelle d'évaluation utilisée pour estimer les lésions visibles, lorsqu'une évaluation visuelle est rapportée ;
- pour les études à un seul taux, le pourcentage de lésions doit être rapporté ;
- valeurs CE_x ou TE_x (par exemple CE_{50}, TE_{50}, CE_{25}, TE_{25}) et limites de confiance correspondantes. Pour chaque analyse de régression, l'écart type pour l'équation de régression et l'écart type pour l'estimation des paramètres individuels (par exemple pente, interception) seront fournis ;
- valeurs de CSEO (et de CMEO) dans le cas où elles ont été calculées ;
- description des protocoles statistiques et des hypothèses adoptées ;
- présentation graphique de ces données et relation dose-réponse de l'espèce soumise à l'essai.

Variantes des protocoles décrits dans cette ligne directrice et tous les événements inhabituels survenus pendant l'essai.

LITTÉRATURE

(1) Schrader G., Metge K., and Bahadir M. (1998). Importance of salt ions in ecotoxicological tests with soil arthropods. *Applied Soil Ecology,* 7, 189-193.

(2) Organisation internationale de normalisation (1993). 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.

(3) Organisation internationale de normalisation (1995). ISO 11269-2. Qualité du sol -- Détermination des effets des polluants sur la flore du sol -- Partie 2: Effets des substances chimiques sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs.

© OCDE 2021

(4) American Standard for Testing Material (ASTM). (2002). E 1963-98. Standard Guide for Conducting Terrestrial Plant Toxicity Tests.

(5) U.S. EPA (1982). FIFRA, 40CFR, Part 158.540. Subdivision J, Parts 122-1 and 123-1.

(6) US EPA (1996). OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 850. Ecological Effects Test Guidelines:
- 850.4000: Background - Non-target Plant Testing;
- 850.4025: Target Area Phytotoxicity;
- 850.4100: Terrestrial Plant Toxicity, Tier I (Seedling Emergence);
- 850.4200: Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test;
- 850.4225: Seedling Emergence, Tier II;
- 850.4230: Early Seedling Growth Toxicity Test.

(7) AFNOR X31-201. (1982). Essai d'inhibition de la germination de semences par une substance. AFNOR X31-203/ISO 11269-1. (1993) Détermination des effets des polluants sur la flore du sol : Méthode de mesurage de l'inhibition de la croissance des racines.

(8) Boutin, C., Freemark, K.E. and Keddy, C.J. (1993). Proposed guidelines for registration of chemical pesticides: Non-target plant testing and evaluation. Technical Report Series No.145. Canadian Wildlife Service (Headquarters), Environment Canada, Hull, Québec, Canada.

(9) Forster, R., Heimbach, U., Kula, C., and Zwerger, P. (1997). Effects of Plant Protection Products on Non-Target Organisms - A contribution to the Discussion of Risk Assessment and Risk Mitigation for Terrestrial Non-Target Organisms (Flora and Fauna). Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. No 48.

(10) Hale, B., Hall, J.C., Solomon, K., and Stephenson, G. (1994). A Critical Review of the Proposed Guidelines for Registration of Chemical Pesticides; Non-Target Plant Testing and Evaluation, Centre for Toxicology, University of Guelph, Ontario Canada.

(11) Soil Texture Classification (US and FAO systems): Weed Science, 33, Suppl. 1 (1985) and Soil Sc. Soc. Amer. Proc. 26:305 (1962).

(12) Audus, L.J. (1964). Herbicide behaviour in the soil. In: Audus, L.J. ed. *The Physiology and biochemistry of Herbicides*, London, New York, Academic Press, NY, Chapter 5, pp. 163-206.

(13) Beall, M.L., Jr. and Nash, R.G. (1969). Crop seedling uptake of DDT, dieldrin, endrin, and heptachlor from soil, J. Agro. 61:571-575.

(14) Beetsman, G.D., Kenney, D.R. and Chesters, G. (1969). Dieldrin uptake by corn as affected by soil properties, J. Agro. 61:247-250.

(15) U.S. Food and Drug Administration (FDA). (1987). Environmental Assessment Technical Handbook. Environmental Assessment Technical Assistance Document 4.07, Seedling Growth, 14 pp., FDA, Washington, DC.

(16) McKelvey, R.A., Wright, J.P., Honegger, J.L. and Warren, L.W. (2002). A Comparison of Crop and Non-crop Plants as Sensitive Indicator Species for Regulatory Testing. Pest Management Science vol. 58:1161-1174

© OCDE 2021

(17) Boutin, C.; Elmegaard, N. and Kjær, C. (2004). Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: Implications for risk assessment. Ecotoxicology vol. 13(4): 349-369.

(18) Boutin, C., and Rogers, C.A. (2000). Patterns of sensitivity of plant species to various herbicides – An analysis with two databases. Ecotoxicology vol.9(4):255-271.

(19) Boutin, C. and Harper, J.L. (1991). A comparative study of the population dynamics of five species of *Veronica* in natural habitats. J. Ecol. 9:155-271.

(20) Boutin, C., Lee, H.-B., Peart, T.E., Batchelor, S.P. and Maguire, R.J. . (2000). Effects of the sulfonylurea herbicide metsulfuron methyl on growth and reproduction of five wetland and terrestrial plant species. Envir. Toxicol. Chem. 19 (10): 2532-2541.

(21) OECD Series on Testing and Assessment. (2005 draft). Current Approaches in the Statistical Analysis of Ecotoxicity Data: A Guidance to Application, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.

(22) Hatzios, K.K. and Penner, D. (1985). Interactions of herbicides with other agrochemicals in higher plants. Rev. Weed Sci. 1:1-63.

(23) Hamill, P.B., Marriage, P.B. and G. Friesen. (1977). A method for assessing herbicide performance in small plot experiments. Weed Science 25:386-389.

(24) Frans, R.E. and Talbert, R.E. (1992). Design of field experiments and the measurement and analysis of plant response. In: B. Truelove (Ed.) Research Methods in Weed Science, 2nd ed. Southern weed Science Society, Auburn, 15-23.

(25) Bruce, R.D. and Versteeg, D. J.(1992). A Statistical Procedure for Modelling Continuous Toxicity Data. Environmental Toxicology and Chemistry 11, 1485-1492.

(26) Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques (2004). 222 : Essai de reproduction chez le lombric (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*), Organisation de coopération et de développement économiques, Paris.

© OCDE 2021

ANNEXE 1

DÉFINITIONS

Ingrédient actif (i.a.) (ou substance active (s.a.)) : matériau destiné à exercer un effet biologique spécifique (par exemple, lutte contre les insectes, contre les maladies végétales, contre les mauvaises herbes, dans la zone de traitement), également désigné par ingrédient actif ou substance active de qualité technique,

Produits phytosanitaires ou pesticides : matériaux dotés d'une activité biologique spécifique utilisé intentionnellement pour protéger les plantes cultivées contre les nuisibles (par exemple, maladies fongiques, insectes, plantes compétitrices).

CE_x. concentration efficace à x % ou TE_x. taux efficace à x % : concentration ou taux qui provoque un changement ou une altération indésirable de x % de l'effet mesuré de l'essai par rapport au témoin (par exemple, une réduction de 25 % ou de 50 % de l'émergence des plantules, du poids des pousses, du nombre final de plantes présentes ou une augmentation de 25 % ou de 50 % d'une lésion visuelle constituent respectivement une CE_{25}/TE_{25} ou une CE_{50}/TE_{50}).

Emergence : apparition du coléoptile ou du cotylédon au-dessus de la surface du sol.

Formulation : produit formulé commercial contenant la substance active (ingrédient actif), que l'on appelle également préparation finale[1] ou produit final typique.

CMEO (concentration minimale avec effet observé) : concentration la plus faible de la substance d'essai à laquelle a été observé l'effet. Dans cet essai, la concentration correspondant à la CMEO a un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) pendant une durée d'exposition donnée par rapport au témoin, et est supérieure à la valeur de CSEO.

Plantes non visées : plantes situées hors de la zone contenant les plantes visées. Pour les produits phytosanitaires, ce terme se réfère généralement à des plantes situées hors de la surface de traitement. .

CSEO (concentration sans effet observé) : concentration la plus élevée de substances d'essai à laquelle aucun effet n'est observé. Dans cet essai, la concentration correspondant à la CSEO n'a pas d'effet statistiquement significatif ($p<0,05$) pendant une durée d'exposition donnée lorsqu'on la compare au témoin.

Phytotoxicité : anomalies préjudiciables (selon des mesures et des évaluations visuelles) par rapport à l'apparence et au modèle de croissance normaux des plantes, qui apparaissent en réponse à une substance donnée.

Réplique : unité expérimentale qui représente le groupe de contrôle et/ou le groupe de traitement. Dans ces études, la réplique est définie par un pot.

Evaluation visuelle : appréciation des dommages visuels d'après l'observation du port de la plante, de sa vigueur, de malformations, d'une chlorose, d'une nécrose et de l'apparence globale par rapport à un témoin.

[1] Préparation finale : produit formulé contenant la substance active (l'ingrédiant actif) vendu dans le commerce.

© OCDE 2021

ANNEXE 2

LISTE DES ESPÈCES HABITUELLEMENT UTILISÉES DANS LES ESSAIS SUR PLANTES

Famille	Espèces	Noms vulgaires
DICOTYLEDONAE		
Apiaceae (Umbelliferae)	*Daucus carota*	Carotte
Asteraceae (Compositae)	*Helianthus annuus*	Tournesol
Asteraceae (Compositae)	*Lactuca sativa*	Laitue
Brassicaceae (Cruciferae)	*Sinapis alba*	Moutarde blanche
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica campestris var. chinensis*	Chou chinois
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica napus*	Colza
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica oleracea var. capitata*	Chou
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica rapa*	Navet
Brassicaceae (Cruciferae)	*Lepidium sativum*	Cresson alénois
Brassicaceae (Cruciferae)	*Raphanus sativus*	Radis
Chenopodiaceae	*Beta vulgaris*	Betterave à sucre
Cucurbitaceae	*Cucumis sativa*	Concombre
Fabaceae (Leguminosae)	*Glycine max (G. soja)*	Soja
Fabaceae (Leguminosae)	*Phaseolus aureus*	Haricot mungo
Fabaceae (Leguminosae)	*Phaseolus vulgaris*	Haricot
Fabaceae (Leguminosae)	*Pisum sativum*	Pois
Fabaceae (Leguminosae)	*Trigonella foenum-graecum*	Fenugrec
Fabaceae (Leguminosae)	*Lotus corniculatus*	Lotier corniculé
Fabaceae (Leguminosae)	*Trifolium pratense*	Trèfle des prés
Fabaceae (Leguminosae)	*Vicia sativa*	Vesce cultivée
Linaceae	*Linum usitatissimum*	Lin
Polygonaceae	*Fagopyrum esculentum*	Sarasin
Solanaceae	*Solanum lycopersicon*	Tomate
MONOCOTYLEDONAE		
Liliaceae (Amarylladaceae)	*Allium cepa*	Oignon
Poaceae (Gramineae)	*Avena sativa*	Avoine
Poaceae (Gramineae)	*Hordeum vulgare*	Orge
Poaceae (Gramineae)	*Lolium perenne*	Raygras pérenne
Poaceae (Gramineae)	*Oryza sativa*	Riz
Poaceae (Gramineae)	*Secale cereale*	Seigle
Poaceae (Gramineae)	*Sorghum bicolor*	Sorgho
Poaceae (Gramineae)	*Triticum aestivum*	Blé
Poaceae (Gramineae)	*Zea mays*	Maïs

© OCDE 2021

ANNEXE 3

LISTE DES ESPÈCES NON CULTIVÉES POTENTIELLES

© OCDE 2021

Annexe 3. Espèces potentielles selon l'OCDE pour les essais de toxicité sur plantes

NOTE: Le tableau suivant fournit des informations sur 52 espèces non cultivées (les références sont données entre parenthèses pour chaque entrée). Les taux d'émergence indiqués sont issus de la littérature publiée et ne sont fournis qu'à titre d'indication générale. L'expérience individuelle peut varier en fonction de la source de semence et d'autres facteurs

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	**Durée de vie[1] et habitat**	**Poids des graines (mg)**	**Photopériode pour la germination ou la croissance[2]**	**Profondeur du semis (mm)[3]**	**Durée de Germination (jours)[4]**	**Traitements spéciaux[5]**	**Essai de toxicité[6]**	**Distributeurs de semences[7]**	**Autres références[8]**
APIACEE *Torilis japonica* (Torillis du Japon)	A, B zones perturbées, haies, pâturages (16, 19)	1.7 – 1.9 (14, 19)	L = D (14)	0 (1, 19)	5 (50 %) (19)	stratification froide (7, 14, 18, 19) une maturation peut être nécessaire (19) germination inhibée par l'obscurité (1, 19) aucun traitement particulier (5)	POST (5)		
ASTERACEAE *Bellis perennis* (Pâquerette vivace)	P prairie, terres arables, gazon (16, 19)	0.09-0.17 (4,19)	L = D (14)	0 (4)	3 (50 %) (19) 11 (100 %) (18)	germination non affectée par une irradiation (18, 19) aucun traitement particulier (4, 14)	POST (4)	A, D, F	7
Centaurea cyanus (Bleuet des champs)	A champs, bords de routes, habitats ouverts (16)	4.1 – 4.9 (4, 14)	L = D (14)	0 – 3 (2, 4, 14)	14 – 21 (100 %) (14)	aucun traitement particulier (2,4)	POST (2,4)	A, D, E, F	7
Centaurea nigra (Centaurée noire)	P champs, bords de routes, habitats ouverts (16, 19)	2.4 – 2.6 (14, 19)	L = D (14)	0 (19)	3 (50 %) (19) 4 (97 %) (18)	une maturation peut être nécessaire (18, 19) germination inhibée par l'obscurité (19) aucun traitement particulier (5, 14, 26)	POST (5, 22, 26)	A	
Inula helenium (Inule aulnée)	P sites humides, perturbés (16)	1 – 1.3 (4, 14, 29)		0 (4,29)		aucun traitement particulier (4)	POST (4)	A, F	
Leontodon hispidus	P	0.85 – 1.2	L = D (14)	0 (19)	4 (50 %) (19)	germination inhibée par	POST (5,		

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
(Liondent hérissé)	champs, bords de routes, zones perturbées (16, 19)	(14, 19)			7 (80 %) (18)	l'obscurité (17, 18, 19) aucun traitement particulier (5, 23)	22, 23)		
Rudbeckia hirta (Rudbeckie hérissée)	B, P perturbé (16)	0.3 (4,14)	L = D (14)	0 (4, 33)	<10 (100 %) (33)	aucun traitement particulier (4, 14, 33)	POST (4, 33)	C, D, E, F	
Solidago canadensis (Solidage du Canada)	P, pâturages, zones ouvertes (16)	0.06 – 0.08 (4, 14)	L = D (11)	0 (4)	14 –21 (11)	mélanger avec une quantité égale de sable et tremper dans du GA 500 ppm pendant 24 h (11) aucun traitement particulier (4)	POST (4)	E, F	
Xanthium pensylvanicum	A champs, habitats ouvert (16)	25 – 61 (14, 29)		0 (1) 5 (29)		la germination peut être inhibée par l'obscurité (1) tremper dans l'eau tiède pendant 12 h (29	PRE & POST (31)	A	
Xanthium spinosum (Lampourde épineuse)	A habitats ouverts (16)	200 (14)	L = D (14) L > D (6)	10 (6)		scarification (14) aucun traitement particulier (6)	PRE & POST (6)	A	
Xanthium strumarium (Violette des champs)	A champs, habitats ouverts (16)	67.4 (14)	L = D (14)	10 – 20 (6, 21)		aucun traitement particulier (6, 14, 21)	PRE & POST (6, 21, 28, 31)	A	
BRASSICEAE *Cardamine pratensis* (Cardamine des prés)	P champs, bords de routes, gazon (16, 19)	0.6 (14, 19)	L = D (14)	0 (19)	5 (50 % à (19) 15 (98 %) (18)	germination inhibée par l'obscurité (18, 19) aucun traitement particulier (5, 14, 22)	POST (5, 22)	F	
CARYOPHYLLACEAE *Lynchnis flos-cuculi* (Lychnis fleur de coucou)	P (16)	0.21 (14)	L = D (14)		< 14 (100 %) (14, 25)	une maturation peut être nécessaire (18) aucun traitement particulier (5, 14, 15, 22-26)	POST (5, 15, 22-26)	F	

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
CHENOPODIACEAE *Chenopodium album* (Chénopode blanc)	A bordures de champs, zones perturbées (16, 19)	0.7 – 1.5 (14, 19, 34)	L = D (14)	0 (1, 19)	2 (50 %) (19)	le traitement diffère en fonction de la couleur de la graine (19) dormance en stockage à sec (19) germination inhibée par l'obscurité (1, 18, 19) stratification froide (18) aucun traitement particulier (14, 34)	PRE & POST (28, 31, 34)	A	32
CLUSIACEAE *Hypericum perfor*atum (Millepertuis perforé)	P champs, terres arables, habitats ouverts (16, 19)	0.1 – 0.23 (14, 19)	L = D (14)	0 (1, 19)	3 (19) 11 (90 %) (18)	germination inhibée par l'obscurité (1, 18, 19) aucun traitement particulier (5, 14, 15, 25, 27)	POST (5, 15, 25, 27)	A, E, F	
CONVOLVULACEAE *Ipomoea hedera*cea (Etoile du matin)	A bords de routes, habitats ouverts, champs de maïs (16)	28.2 (14)	L > D (6, 10)	10 – 20 (6, 10, 21)	4 (100 %) (10)	germination non affectée par une irradiation (1) aucun traitement particulier (6, 21)	PRE & POST (6, 12, 21, 28)	A	
CYPERACEAE *Cyperus rotundus* (Souchet rond)	P terres arables, pâturages, bords de routes (16, 30)	0.2 (14)	L = D (14)	0 (1) 10-20 (6, 10)	12 (91 %) (10)	Germination inhibée par l'obscurité (1) aucun traitement particulier (6, 10, 14)	PRE & POST (6, 28, 31)	B	7
FABACEAE *Lotus corniculatus* (Lotié corniculé)	P zones herbeuses, bords de routes,	1 – 1.67 (14, 19)	L = D (14)		1 (50 %) (19)	scarification (14, 19) germination non affectée par une irradiation (18, 19) aucun traitement particulier (23, 25)	POST (5, 23, 25)	A, D, E, F	

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
	habitats ouverts (16, 19)								
Senna obtusifolia (Casse fétide)	A bois humide (16)	23 – 28 (9)	L = D (14) L > D (9)	10 – 20 (6, 9)		tremper les graines humides dans l'eau pendant 24 heures (9) scarification (14) la viabilité des graines dépend de leur couleur (1) aucun traitement particulier (6)	POST (6, 9)	A	
Sesbanai exaltata (Chanvre)	A sol alluvial (16)	11 – 13 (9, 14)	L > D (9)	10 – 20 (9, 21)		tremper les graines dans l'eau pendant 24 heures (9) germination non affectée par une irradiation (1) aucun traitement particulier (21)	PRE & POST (9, 21, 28, 31)	A	
Trifolium pratense (Trèfle des prés)	P champs, bords de routes, terres arables (16, 19)	1.4 – 1.7 (14, 19)	L = D (14)		1 (50 %) (19)	scarification (14, 18) peut requérir une maturation (19) germination non affectée par une irradiation (1, 19) aucun traitement particulier (5)	POST (5)	A, E, F	
LAMIACEAE *Leonurus cardiaca* (Agripaume)	P zones ouvertes (16)	0.75 – 1.0 (4, 14)	L = D (14)	0 (4)		aucun traitement particulier (4, 14)	POST (4)	F	
Mentha spicata (Menthe verte)	P zones humides (16)	2.21 (4)		0 (4)		aucun traitement particulier (4)	POST (4)	F	
Nepeta cataria (Herbe à chats)	P zones perturbées (16)	0.54 (4, 14)	L = D (14)	0 (4)		aucun traitement particulier (2, 4, 14)	POST (2, 4)	F	
Prunella vulgaris (Brunelle commune)	P terres arables, zones	0.58 – 1.2 (4, 14, 19)	L = D (14)	0 (4, 19)	5 (50 %) (19) 7 (91 %) (18)	germination inhibée par l'obscurité (18, 19) meilleure germination avec les grosses graines (1)	POST (4, 22)	A, F	

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
	herbeuses, sites perturbés (16, 19)					aucun traitement particulier (4, 14, 22)			
Stachys officinalis (Epiaire officinale)	P prairies, bordures de champs (19)	14 – 18 (14, 19)	L = D (14)		7 (50 %) (19)	aucun traitement particulier (5, 14, 22)	POST (5,22)	F	
MALVACEAE *Abutilon theophrasti* (Abutilon)	A champs, habitats ouverts (16)	8.8 (14)	L = D (14)	10 – 20 (6, 10, 21)	4 (84 %) (10)	scarification (14) aucun traitement particulier (5, 10, 21)	PRE & POST (6, 22, 28, 31)	A, F	
Sida spinosa (Sida épineux)	A champs, bords de route (16)	3.8 (14)	L = D (14)	10 – 20 (6, 21)		scarification (14) germination non affectée par une irradiation (1) aucun traitement particulier (6, 21)	PRE & POST (6, 21, 28, 31)	A, F	
PAPAVERACEAE *Papaver rhoeas* (Grand coquelicot)	A champs, terres arables, sites perturbés (16, 19)	0.1 – 0.3 (4, 14, 19, 29)	L = D (14)	0 (4,29)	4 (50 %) (19)	stratification froide et scarification (1, 19, 32) aucun traitement particulier (4, 14, 29)	POST (4)	A, D, E, F, G	
POACEAE *Agrostis tenuis* (Agrostide vulgaire)	pelouses, pâturages (16)	0.07 (14)	L > D (10)	20 (10)	10 (62 %) (10)	germination inhibée par l'obscurité (1, 17-19) aucun traitement particulier (10)	POST (10)	A, E	
Alopecurus myosuroides (Vulpin agreste)	A champs, habitats ouverts (16)	0.9 – 1.6 (29, 34)	L = D (14)	2 (29)	< 24 (30 %) (34)	scarification (14) traiter avec 101 mg/l de KNO_3 (14) stratification chaude (1) germination inhibée par l'obscurité (1) aucun traitement particulier (34)	PRE & POST (28, 34)	A	32
Avena fatua (Avoine folle)	A zones cultivées, habitats	7 – 37.5 (14, 30)	L = D (14) L > D (6)	10 – 20 (6, 10)	3 (70 %) (18)	scarification (7, 32) germination inhibée par l'obscurité (1) stratification froide (1, 18)	PRE & POST (6, 10, 28, 31)	A	

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
	ouverts (16)					aucun traitement particulier (6, 10, 14)			
Bromus tectorum (Brome des toits)	A champs, bords de routes, terres arables (16)	0.45 – 2.28 (14, 29)	L = D (14)	3 (29)		période de maturation (1, 7, 32) germination inhibée par la lumière (1) aucun traitement particulier (14)	PRE & POST (28, 31)	A	
Cynosurus cristatus (Crételle)	P champs, bords de routes, habitats ouverts (16, 19)	0.5 – 0.7 (14, 19, 29)	L = D (14)	0 (29)	3 (50 %) (19)	germination non affectée par une irradiation (19) aucun traitement particulier (14, 29)	POST (5)	A	
Digitaria sanguinalis (Digitaire sanguine)	A champs, gazon, habitats ouverts (16)	0.52 – 0.6 (14, 30)	L = D (14)	10–20 (21)	7 (75 %) 14 (94 %) (7)	scarification, stratification froide & maturation (1, 7, 14, 32) traiter avec 101 mg/l de KNO_3 (14) germination inhibée par l'obscurité (1) aucun traitement particulier (21)	PRE & POST (18, 25, 31)	A	
Echinochloa crusgalli (panic pied-de-coq)	A (16)	1.5 (14)	L = D (14) L > D (3)	10 – 20 (7, 21)		scarification (7, 32) germination non affectée par une irradiation (1) aucun traitement particulier (3, 14, 21)	PRE & POST (3, 21, 28, 31)	A	
Elymus canadensis (Elyme du Canada)	P riverain, sites perturbés (16)	4 – 5 (14, 30)	L = D (11)	1 (11)	14 – 28 (11)	aucun traitement particulier (2, 11)	POST (2)	C, D, E	
Festuca pratensis (Fétuque des prés)	P champs, zones humides (16, 19)	1.53 – 2.2 (16, 19)	L = D (14) L > D (10)	20 (10)	9 (74 %) (10) 2 (50 %) (19)	aucun traitement particulier (10, 19)	POST (10)	A	7
Hordeum pusillum	A pâturages,	3.28 (14)				stratification chaude (1)	PRE (31)		7

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
(Orge naine)	bords de routes, habitats ouverts (16)					germination non affectée par une irradiation (1)			
Phleum pratense (Fléole des prés)	P pâturages, terres arables, sites perturbés (16, 19)	0.45 (14, 19)	L > D (10, 14)	0 – 10 (10, 19	2 (74 %) (10) 8 (50 %) (19)	germination inhibée par l'obscurité (19) germination non affectée par une irradiation (17) aucun traitement particulier (10, 14, 17, 19)	POST (10)	A, E	
POLYGONACEAE *Polygonum convolvulus* (Renouée faux-liseron)	A habitats ouverts, bords de routes (16)	5 – 8 (4, 14, 29)	L = D (20)	0 – 2 (4, 29)		stratification froide pendant 4-8 semaines (1, 2, 4, 20, 29) germination non affectée par une irradiation (1)	PRE & POST (1, 2, 20, 28, 31)	A	32
Polygonum lapathifolium (Renouée à feuille de patience)	A sol humide (16)	1.8 – 2.5 (14)	L > D (6)		5 (94 %) (18)	germination non affectée par une irradiation (1) germination inhibée par l'obscurité (18) stratification froide (1) aucun traitement particulier (5)	PRE & POST (6)	A, E	
Polygonum pennsylvanicum (Renouée de Pennsylvanie)	A champs, habitats ouverts (16)	3.6 – 7 (14, 29)		2 (29)		stratification froide pendant 4 semaines à 0 – 5 °C (1, 29) germination inhibée par l'obscurité (1)	PRE (31)	A, E	
Polygonum periscaria (Renouée persicaire)	A zones perturbées, terres arables (16, 19)	2.1 – 2.3 (14, 19)	L > D (13)	0 (19)	> 14 (13) 2 (50 %) (19)	scarification, stratification froide, traitement au GA (14) stratification froide, maturation (17 – 19) germination inhibée par l'obscurité (19) aucun traitement particulier (13)	POST (13)	A	32
Rumex crispus (Patience crépue)	P terres arables, bords de routes, zones	1.3 – 1.5 (4, 14, 19)	L = D (14, 33)	0 (4, 19, 33)	3(50 %) (19) 6 (100 %) (33)	germination inhibée par une irradiation (18, 19) une maturation peut être requise (18) aucun traitement particulier (4, 14, 33)	POST (4, 33)	A, E	32

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
	ouvertes (16, 19)								
PRIMUCACEAE *Anagallis arvensis* (Mourron rouge)	A terres arables, zones ouvertes, sites perturbés (16, 19)	0.4 – 0.5 (4, 14, 19)	L = D (14)		1 (50 %) (19)	stratification froide, traitement au GA (1, 14, 18, 19, 32) lumière requise pour la germination (1) aucun traitement particulier (2, 4)	POST (2, 4)	A, F	
RANUNCULACEAE *Ranunculus acris* (Renoncule âcre)	P terres arables, bords de routes, zones ouvertes (16, 19)	1.5 – 2 (14, 19, 29)	L = D (14)	1 (29)	41 – 56 (19, 29)	aucun traitement particulier (5, 14, 22, 24, 26)	POST (5, 22, 24 – 26)		32
ROSACEAE *Geum urbanum* (Benoîte commune)	P bordures de haies, zones humides (16, 19)	0.8 – 1.5 (14, 19)	L = D (14)	0 (19)	5 (50 %) (19) 16 (79 %) (18)	germination inhibée par l'obscurité (18, 19) stratification à chaude (1) aucun traitement particulier (5, 14, 22, 25, 26)	POST (5, 22, 25, 26)	A	
RUBIACEAE *Gallium aparine* (Gaillet gratteron)	A terres arables, zones humides, sites perturbés (16, 19)	7 – 9 (14, 19)	L = D (14)		5 (50 %) (19) 6 (100 %) (18)	stratification froide (1, 18, 19) germination non affectée par une irradiation (18, 19) la lumière inhibe la germination (1) aucun traitement particulier (6, 14)	PRE & POST (6, 28)	A	32
Gallium mollugo (Caille-lait blanc)	P haies sur talus, zones ouvertes (8)	7 (29)	L = D (14)	2 (29)		aucun traitement particulier (5, 14, 22, 26, 29)	POST (4, 22 – 26)	A	
SCROPHULARIACEAE	B, P Haies, zones	0.1 – 0.6 (4, 14, 19)	L = D (14)	0 (4, 19)	6 (50 %) (19) 8 (99 %) (18)	germination inhibée par l'obscurité (1, 17 – 19)	POST (4, 22 – 26)	D, G, F	

© OCDE 2021

FAMILLE Nom botanique de l'espèce (Nom commun français)	Durée de vie[1] et habitat	Poids des graines (mg)	Photopériode pour la germination ou la croissance[2]	Profondeur du semis (mm)[3]	Durée de Germination (jours)[4]	Traitements spéciaux[5]	Essai de toxicité[6]	Distributeurs de semences[7]	Autres références[8]
Digitalis purpurea (Digitale pourpre)	ouvertes (16, 19)					aucun traitement particulier (4, 22–26)			
Veronica persica (Véronique de Perse)	A terres arables, zones ouvertes, sites perturbés (16, 19)	0.5 – 0.6 (14, 19)	L = D (14)	0 (19)	3 (19) 5 (96 %) (18)	germination inhibée par l'obscurité (18, 19) stratification froide (18) aucun traitement particulier (14)	PRE & POST (28)	A	32

[1]A = annuelles, B = bisannuelles, P = pérennes
[2]Les références 11, 14 et 33 concernent la proportion de lumière (L) et d'obscurité (D) requise pour induire la germination des graines. Les références 3, 6, 9, 10, 13, 20 concernent les conditions de croissance en serre.
[3]0 mm indique que les graines sont semées sur la surface du sol ou que les graines ont besoin de lumière pour germer.
[4]Les nombres indiqués correspondent au nombre de jours pendant lesquels germe un certain pourcentage de graines selon la référence indiquée, par exemple, germination 3 jours (50 %) (référence 19).
[5]La durée de maturation et/ou les données sur la stratification ne sont pas toujours disponibles. Sauf dans les cas où un traitement à froid est nécessaire, les conditions de température ne sont pas spécifiées, car dans les essais en serre, le contrôle de la température est limité. La plupart des graines germent dans des conditions de fluctuations de températures normales observées en serre.
[6]Indique qu'une espèce a été utilisée dans un essai de toxicité sur plantes pré-émergence (PRE) et/ou post-émergence (POST) impliquant des herbicides.
[7]Donne des exemples de distributeurs de semences du commerce.
[8]Fournit d'autres références qui ont été consultées.

© OCDE 2021

Distributeurs de semences cités

Supplier ID	Supplier Information
A	Herbiseed New Farm, Mire Lane, West End, Twyford RG10 0NJ ENGLAND +44 (0) 1189 349 464 www.herbiseed.com
B	Tropilab Inc. 8240 Ulmerton Road, Largo, FL 33771-3948 USA (727) 344 - 4050 www.tropilab.com
C	Pterophylla - Native Plants & Seeds #316 Regional Road 60, RR#1, Walsingham, ON N0E 1X0 CANADA (519) 586 - 3985
D	Applewood Seed Co. 5380 Vivian St., Arvada, CO 80002 USA (303) 431 - 7333 www.applewoodseed.com
E	Ernst Conservation Seeds 9006 Mercer Pike, Meadville, PA 16335 USA (800) 873 - 3321 www.ernstseed.com
F	Chiltern Seeds Bortree Stile, Ulverston, Cumbria LA12 7PB ENGLAND +44 1229 581137 www.chilternseeds.co.uk
G	Thompson & Morgan P.O. Box 1051, Fort Erie, ON L2A 6C7 CANADA (800) 274 - 7333 www.thompson-morgan.com

Références citées

1. Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 1998. Seeds. Academic Press, Toronto

2. Blackburn, L.G. & Boutin, C. 2003. Subtle effects of herbicide use in the context of genetically modified crops: a case study with glyphosate (Round-Up®). *Ecotoxicology*, 12:271-285.

3. Boutin, C., Lee, H-B., Peart, T., Batchelor, P.S., & Maguire, R.J. 2000. Effects of the sulfonylurea herbicide metsulfuron methyl on growth and reproduction of five wetland and terrestrial plant species. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 19(10):2532-2541.

4. Boutin, C., Elmegaard, N., & Kjaer, C. 2004. Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: implications for risk assessment. *Ecotoxicology*, 13:349-369.

© OCDE 2021

5. Breeze, V., Thomas, G., & Butler, R. 1992. Use of a model and toxicity data to predict the risks to some wild plant species from drift of four herbicides. *Annals of Applied Biology*, 121:669-677.

6. Brown, R.A., & Farmer, D. 1991. Track-sprayer and glasshouse techniques for terrestrial plant bioassays with pesticides. In: Plants for toxicity assessment: 2nd volume. *ASTM STP 1115*, J.W. Gorsuch, W.R. Lower, W.Wang, & M.A. Lewis, eds. American Society for Testing & Materials, Philadelphia. pp 197 – 208.

7. Buhler, D.D. & Hoffman, M.L. 1999. Anderson's guide to practical methods of propagating weeds and other plants. Weed Science Society of America, Lawrence, K.

8. Clapham, A.R., Tutin, T.G., & Warburg, E.F. 1981. Excursion flora of the British Isles, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge

9. Clay, P.A. & Griffin, J.L. 2000. Weed seed production and seedling emergence response to late-season glyphosate applications. *Weed Science*, 48:481-486.

10. Cole, J.F.H. & Canning, L. 1993. Rationale for the choice of species in the regulatory testing of the effects of pesticides on terrestrial non-target plants. *BCPC – Weeds*. pp. 151 – 156.

11. Fiely, M. (Ernst Conservation Seeds). 2004. Personal communication. (http://www.ernstseed.com)

12. Fletcher, J.S., Johnson, F.L., & McFarlane, J.C. 1990. Influence of greenhouse versus field testing and taxonomic differences on plant sensitivity to chemical treatment. *Environmental Toxicology & Chemistry,* 9:769-776.

13. Fletcher, J.S., Pfleeger, T.G., Ratsch, H.C., & Hayes, R. 1996. Potential impact of low levels of chlorsulfuron and other herbicides on growth and yield of nontarget plants. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 15(7):1189-1196.

14. Flynn, S., Turner, R.M., and Dickie, J.B. 2004. Seed Information Database (release 6.0, Oct 2004) Royal Botanic Gardens, Kew http://www.rbgkew.org.uk/data/sid

15. Franzaring, J., Kempenaar, C., & van der Eerden, L.J.M. 2001. Effects of vapours of chlorpropham and ethofumesate on wild plant species. *Environmental Pollution*, 114:21-28.

16. Gleason, H.A. & Cronquist, A. 1991. Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada, 2nd ed. New York Botanical Garden, Bronx, NY

17. Grime, J.P. 1981. The role of seed dormancy in vegetation dynamics. *Annals of Applied Biology*, 98:555-558.

18. Grime, J.P., Mason, G., Curtis, A.V., Rodman, J., Band, S.R., Mowforth, M.A.G., Neal, A.M., & Shaw, S. 1981. A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology*, 69:1017-1059.

19. Grime, J.P., Hodgson, J.G., & Hunt, R. 1988. Comparative plant ecology: a functional approach to common British species. Unwin Hyman Ltd., London

© OCDE 2021

20. Kjaer, C. 1994. Sublethal effects of chlorsulfuron on black bindweed (*Polygonum convolvulus* L.). *Weed Research*, 34:453-459.

21. Klingaman, T.E., King, C.A., & Oliver, L.R. 1992. Effect of application rate, weed species, and weed stage of growth on imazethapyr activity. *Weed Science*, 40:227-232.

22. Marrs, R.H., Williams, C.T., Frost, A.J., & Plant, R.A. 1989. Assessment of the effects of herbicide spray drift on a range of plant species of conservation interest. *Environmental Pollution*, 59:71-86.

23. Marrs, R.H., Frost, A.J., & Plant, R.A. 1991. Effects of herbicide spray drift on selected species of nature conservation interest: the effects of plant age and surrounding vegetation structure. *Environmental Pollution*, 69:223-235.

24. Marrs, R.H., Frost, A.J., & Plant, R.A. 1991. Effects of mecoprop drift on some plant species of conservation interest when grown in standardized mixtures in microcosms. *Environmental Pollution*, 73:25-42.

25. Marrs, R.H., Frost, A.J., Plant, R.A., & Lunnis, P. 1993. Determination of buffer zones to protect seedlings of non-target plants from the effects of glyphosate spray drift. *Agriculture, Ecosystems, & Environment*, 45:283-293.

26. Marrs, R.H. & Frost, A.J. 1997. A microcosm approach to detection of the effects of herbicide spray drift in plant communities. *Journal of Environmental Management*, 50:369-388.

27. Marshall, E.J.P. & Bernie, J.E. 1985. Herbicide effects on field margin flora. *BCPC – Weeds.* pp. 1021-1028.

28. McKelvey, R.A., Wright, J.P., & Honegger, J.L. 2002. A comparison of crop and non-crop plants as sensitive species for regulatory testing. *Pest Management Science*, 58:1161-1174.

29. Morton, S. (Herbiseed). 2004. Personal communication. (http://www.herbiseed.com)

30. USDA, NRCS. 2004. The Plants Database, version 3.5. (http://plants.usda.gov). National Plant Data Centre, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA

31. USEPA. 1999. One-Liner Database. [U.S. E.P.A./Office of Pesticide Programs/Environmental Fate and Effects Division/Environmental Epidemiology Branch].

32. Webster, R.H. 1979. Technical Report No. 56: Growing weeds from seeds and other propagules for experimental purposes. Agricultural Research Council Weed Research Organization, Oxford.

33. White, A. L. & Boutin, C. (National Wildlife Research Centre, Environment Canada). 2004. Personal communication.

34. Zwerger, P. & Pestemer, W. 2000. Testing the phytotoxic effects of herbicides on higher terrestrial non-target plants using a plant life-cycle test. *Z. PflKrankh. PflSchutz, Sonderh.,* 17:711-718.

© OCDE 2021

ANNEXE 4

EXEMPLE DE CONDITIONS DE CROISSANCE APPROPRIÉES A CERTAINES ESPÈCES CULTIVÉES

Les conditions suivantes se sont révélées satisfaisantes pour 10 espèces cultivées et on peut donc s'en inspirer pour les essais en chambre de culture avec certaines autres espèces :

- Concentration de dioxyde de carbone : 350±50 ppm ;
- Humidité relative : 70±5 % pendant les périodes d'éclairement et 90±5 % pendant les périodes d'obscurité ;
- Température : 25±3 ^{0}C pendant la journée, 20±3 ^{0}C pendant la nuit ;
- Photopériode : 16 heures de lumière/8 heures d'obscurité, en supposant une longueur d'onde moyenne de 400 à 700 nm ;
- Lumière : luminance de 350±50 µE/m^2/s, mesurée au-dessus du feuillage.

Les espèces végétales sont les suivantes :

- tomate (*Solanum lycopersicon*),
- concombre (*Cucumis sativus*),
- laitue (*Lactuca sativa*),
- soja (*Glycine max*),
- chou (*Brassica oleracea var. capitata*),
- carotte (*Daucus carota*),
- avoine (*Avena sativa*),
- raygras pérenne (*Lolium perenne*),
- maïs (*Zea mays*),
- oignon (*Allium cepa*).

© OCDE 2021