

OBJECTIF

Evaluer la respiration basale du sol sur le terrain (= émission de CO₂ du sol par l'activité microbienne sans ajout de substrat). La respiration basale est utilisée comme un indicateur de l'activité microbiologique du sol.

PRINCIPE

On incube un échantillon frais de sol grossièrement tamis. dans un pot hermétique auquel on ajoute une cuvette spectrophotométrique. Cette cuvette contient un gel dont la couleur change en fonction du pH. Le CO₂ mis par le sol va modifier le pH du gel et donc sa couleur. La mesure du changement de couleur du gel (via une différence d'absorbance) permet d'estimer la quantité totale de CO₂ émis par le sol.

AVANTAGES

- + Se fait directement sur le terrain (spectrophotomètre portable)
- + Temps d'incubation court (24h)
- + Faible coût

INCONVENIENTS

- Nécessite une calibration du spectrophotomètre pour établir la relation entre le changement de couleur du substrat et la quantité de CO₂
- Résultats variables en fonction de la texture, de l'humidité et de la température du sol.

MATERIEL

- Gel dont la couleur est sensible au pH (Composition du gel : indicateur coloré cresol red 12.5 ppm, chlorure de potassium 150 mM, bicarbonate de soude 2.5 mM et Noble agar 1% 150 µl)
- Spectrophotomètre portatif ou fixe
- 30 cuves pour spectrophotomètre de 4,5 mL
- Bouteille de gaz CO₂ (Pureté 99,9 %)
- Couteau
- Tamis (maille de 5 mm)
- Pot hermétique
- Incubateur/ étuve



PROTOCOLE : Nécessite deux phases : (i) la calibration du spectrophotomètre et (ii) la mesure proprement dite sur le terrain

Phase de calibration du spectrophotomètre (en laboratoire)

1^{ère} étape

Remplir 30 cuves avec 1,5 mL de gel. Laisse reposer pendant 1 semaine dans un dessiccateur

2^{ème} étape

Mesurer l'absorbance à t=0 (absT0), pour une longueur d'onde de 570 nm

3^{ème} étape

Insérer les cuves dans 30 pots hermétiques de 250 mL

4^{ème} étape

Injecter une quantité connue de gaz CO₂ dans chaque pot (avec des quantités variant de 0 à 3% du volume du pot)

5^{ème} étape

Incuber les pots à 30°C pendant 24h puis mesurer l'absorbance (absT24)

6^{ème} étape

Mesurer la différence d'absorbance entre t=0 et t=24h : $\Delta_{abs} = absT0 - absT24$

Phase de mesure sur le terrain

1^{ère} étape

Prélever un échantillon de sol entre 0 et 10 cm de profondeur. Le tamiser grossièrement à 5 mm

2^{ème} étape

Etape optionnelle : en l'absence d'un spectrophotomètre portatif, ramener les échantillons dans le laboratoire d'analyses dans de brefs délais

3^{ème} étape

Laisser reposer le gel pendant une semaine dans un dessiccateur

4^{ème} étape

Mesurer l'absorbance de départ du gel à 570 nm (absT0). Mettre le gel dans les cuves à raison de 1,5 mL par cuve

5^{ème} étape

Introduire dans un pot hermétique :

- 100 g d'échantillon de sol tamisé à 5 mm
- la cuve contenant 1,5 mL de gel.

6^{ème} étape

Laisser incuber pendant 24 heures



Sur le terrain : incuber à température ambiante
Au laboratoire : privilégier une température fixe (20°C ou 30°C selon la zone d'étude)

7^{ème} étape

Mesurer l'absorbance du gel avec le spectrophotomètre portatif à 570 nm (absT24)

Dernière étape

Mesurer la différence d'absorbance entre t=0 et t=24h : $\Delta\text{abs} = \text{absT0} - \text{absT24}$

Macro-cuvette de spectrophotomètre remplie avec 1,5mL de gel

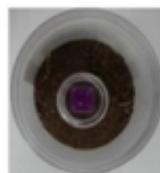


1 semaine

Lire AbsT0



100g de sol frais dans un bocal ~250mL étanche



Incubation

24h

Lire AbsT24



Basse Haute
Activité Microbiologique du Sol



Adapté de Thoumzeau et al.

ANALYSE ET INTERPRETATION DES RESULTATS

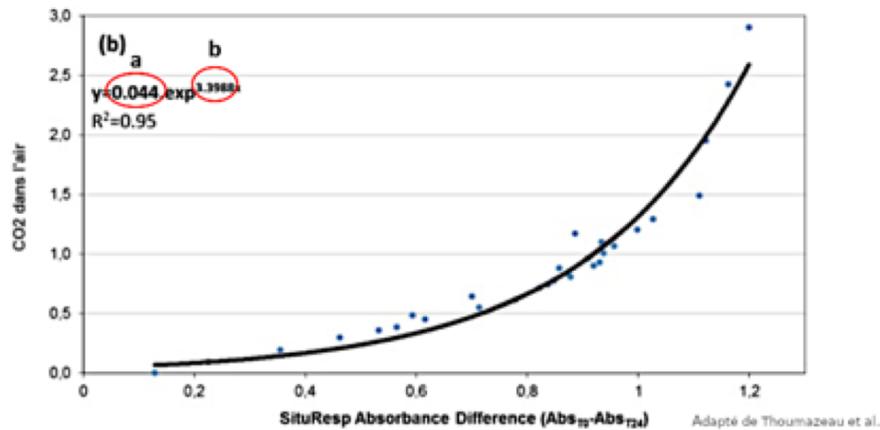
Plus la couleur du gel se rapproche du jaune, plus l'émission de CO₂ par le sol est importante.

Phase de calibration : Il existe une relation exponentielle entre le pourcentage de CO₂ injecté dans les pots et la différence d'absorbance ($\Delta_{abs} = abs_{T0} - abs_{T24}$), représentée par la formule :

$$y (\%CO_2) = a \cdot \exp(b \cdot \Delta_{abs})$$

a, b : Constantes de calibrations déterminées à partir de la courbe de régression reliant %CO₂ et Δ_{abs}

Exemple d'une courbe de régression et identification de a et b :



Phase de mesure sur le terrain : En utilisant l'équation de la courbe de régression, on déduit le pourcentage de CO₂ (%CO₂) dans l'échantillon à partir du Δ_{abs} mesuré ($\Delta_{abs} = abs_{T0} - abs_{T24}$). Le résultat final est exprimé en mg de CO₂ produit par kg en utilisant l'équation :

$$\text{SituResp mgCO}_2\text{C.kg}^{-1} \text{ soil} = (y \cdot M \cdot P \cdot V \cdot 10) / (m \cdot R \cdot T)$$

y = pourcentage de CO₂ dans l'échantillon (%CO₂)

m = Matière sèche du sol incubé (kg) ;

M = Masse molaire du Carbone (g.mol⁻¹) ;

P = Pression du gaz (Pa) ;

R = Constante Universelle des gaz parfaits

T = Température d'incubation (K) ;

V = Volume de l'espace libre dans le pot (m³)



La différence d'absorbance est de plus en plus utilisée comme indicateur de l'activité microbienne. C'est aussi un indicateur spectro-dépendant qui permet d'éviter les extrapolations et les comparaisons avec des méthodes plus usuelles au laboratoire que l'on utilise pour faire des analyses comparatives.

CONCLUSION

La méthode Situresp est une méthode peu coûteuse et simple à appliquer sur le terrain pour des mesures rapides. La décomposition de la matière organique est évaluée indirectement en mesurant la respiration microbienne. Elle peut être directement réalisée sur le terrain si l'on dispose d'un spectrophotomètre portatif.

Différences et complémentarités entre SituResp et MicroResp

Cette méthode sur terrain a été adaptée de la méthode Microresp™, qui est une méthode de mesure de la respiration basale du sol faite en laboratoire mais est aussi et surtout utilisée pour faire des profils de diversité fonctionnelle des microorganismes du sol.

Elle est facile à réaliser directement sur le terrain, mais sujette aux aléas d'humidité du sol, d'ensoleillement qui peuvent jouer sur la respiration microbienne. Elle est donc moins précise que la méthode de mesure de la respiration du sol par incubation en laboratoire où températures et humidités sont contrôlées.

POUR EN SAVOIR PLUS :

Sources bibliographiques :

Thoumazeau A., Gay F., Alonso P., Suvannang N., Phongjinda A., Panklang P., Chevallier T., Bessou C. & Brauman A. (2017) SituResp®: a time- and cost-effective method to assess basal soil respiration in the field. *Applied Soil Ecology* 121: 223-230.

Campbell C.D. et al. (2003) A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 3593-3599.

Sources Internet :

[Lien vers la vidéo
\(non disponible\)](#)

