

Détermination de la biomasse microbienne (méthode par respiration induite par le substrat; mesurage selon Isermeyer)

Version 1.2 (2020)

Code	B-BM-IS		Secteurs d'utilisation possibles	
Secteur d'utilisation	Conseil de fumure	Grandes cultures et herbage		
		Légumes (en pleine terre et sous serre)		
		Viticulture, Arboriculture, Culture de baies, Plantes aromatiques et médicinales		
	Caractérisation du site		x	
	Appréciation des polluants			
	Analyse de fertilisants	Engrais de recyclage	Compost	
			Digestat solide	
			Digestat liquide	
			Boue d'épuration	
		Engrais de ferme	Fumier	
			lisier	
Engrais minéraux				
Charbon végétal				
Recherche				
Méthodes correspondantes	Prélèvement de l'échantillon		B-M-PN	
	Préparation de l'échantillon		B-PAL, B-VI	
	extraction		TS, B-WHK	
	mesure		B-BM-IS	

Domaine de concentration	
Résultat	mg de $C_{mic}(SIR)$ par kg de matière sèche du sol. Degré de précision: 1 mg.
Remarques sur méthodes équivalentes	
Sécurité / environnement	



1. Principe

Un échantillon de sol est amendé avec du glucose puis incubé jusqu'à l'obtention de la respiration maximale initiale. La respiration maximale est proportionnelle à la biomasse microbienne.

2. Exécution

Appareils et ustensiles:

- (A) Balance (graduation jusqu'à 1000 g, division en 0.01 g).
- (B) Flacons de réaction: bouteilles SCHOTT avec filetage ISO, 250 ml.
- (C) Conteneurs d'échantillon: éprouvettes en polypropylène Ø 29 x 105 mm, avec collet rabattu et trous latéraux (12 trous de diamètre de 2 mm placés 3 cm en-dessous du collet) permettant les échanges de gaz.
- (D) Joints en caoutchouc: O-Ring 35 x 5 mm.
- (E) Etuve, réglable à 25 ± 0.5 °C.
- (F) Burette ou bouteille munie d'un dispositif à pipettage automatique, volumes de 20 et 10 ml, avec trappe à CO₂.

Réactifs:

- (1) Eau déminéralisée (H₂O, conductibilité < 5 µS/cm).
- (2) Soude caustique 0.025 M:
Diluer la soude caustique Titrisol de 0.1 mol/l avec 4 l H₂O (1).
- (3) Acide chlorhydrique 0.025 M:
Diluer de l'acide chlorhydrique Titrisol 0.1 mol/l avec 4 l H₂O (1).
- (4) Solution de phénolphtaléine:
Dissoudre 0.2 g de phénolphtaléine (C₂₀H₁₄O₄, M = 318.33 g/mol) dans 200 ml d'éthanol à 60 %.
- (5) Solution de chlorure de barium, 0.5 M:
Dissoudre 12.22 g de chlorure de barium (BaCl₂ 2 H₂O, M = 244.28 g/mol, p.a.) dans 100 ml d'eau (1).
- (6) Glucose anhydre (C₆H₁₂O₆, M = 180.16 g/mol).

Mode opératoire:

- Pré-incuber une quantité de sol suffisante pour réaliser 4 échantillons (méthode B-VI).
- Préparer au moins 4 séries parallèles d'échantillonnage par sol à analyser.
- Préparer selon le mode opératoire 5 témoins sans sol. Les témoins servent à corriger l'erreur de titration causé par la fixation du CO₂ de l'air pendant la réalisation de l'essai.
- Étiqueter les bouteilles (B) et les flacons d'essai (C). Transvaser dans les bouteilles (B) 20 ml de solution NaOH 0.025 M (2). Degré de précision: 20 ± 0.1 ml. Utiliser la même solution (même bouteille) pour la même série d'analyses (ceci en relation avec l'échantillon témoin).
- Afin que la soude caustique ne se modifie pas au cours du remplissage, de l'air est envoyé dans la bouteille au travers d'un tube rempli de calcaire natron absorbant le CO₂ de l'air.
- Pour chaque série parallèle d'échantillonnage, peser, dans le conteneur d'échantillon, une quantité de sol pré-incubé correspondant à 20 g de matière sèche.
- Ajouter 60 mg de glucose (6) et mélanger avec une spatule.
- Compenser la quantité d'eau perdue pendant la pré-incubation (méthode B-VI).
- Placer le mélange dans un conteneur d'échantillon (C).
- Incuber dans une étuve pendant 2 heures à 22 °C (phase de latence précédant la respiration du glucose).
- Placer les conteneurs d'échantillon dans les flacons de réaction contenant du NaOH puis fermer.
- Incuber pendant 4 heures à 22 °C.

- Retirer les conteneurs d'échantillon puis refermer les flacons de réaction.
- Titration du NaOH inépuisé.
- Avant la titration, le CO_3^{2-} formé est précipité par une adjonction de 1 ml de solution de BaCl_2 0.5 M (5). Ajouter finalement, dans chaque flacon de réaction (B), 4 gouttes d'indicateur „phénolphtaléine“ (4) et titrer immédiatement avec HCl 0.025 M (3) jusqu'à décoloration de la phénolphtaléine (Lecture: ml de HCl 0.025 M).

• *Remarque:*

• *Pour des sols très actifs (par ex. sols organiques), utiliser seulement la moitié de la quantité de la pesée.*

3. Calcul

A partir des 5 témoins (BW), calculer la moyenne de la quantité de HCl consommé puis calculer pour chaque échantillon (VP) la quantité horaire du CO_2 libéré (respiration induite par substrat, SIR) selon la formule suivante:

$$\text{SIR} = \left((\text{BW} - \text{VP}) \frac{k \cdot 22 \cdot 1000}{\text{EW} \cdot 4} \right) \cdot \frac{22.4}{44.01} \cdot \frac{295}{273}$$

où:

BW	=	moyenne du HCl consommé par les témoins (ml)
VP	=	consommation de HCl par l'échantillon (ml)
k	=	concentration de HCl
22	=	facteur de conversion (1 ml de HCl 1 molaire correspond à 22 mg de CO_2)
EW	=	poids du sol (g sol-TS)
1000	=	conversion de g en kg
(22.4/44.01)	=	conversion de mg CO_2 en ml de CO_2 dans les conditions normales (0 °C)
(295/273)	=	conversion de 0 à 22 °C

A partir de la respiration, on peut calculer selon Anderson et Domsch (1978) la biomasse microbienne. Kaiser et al. (1992) ont déterminé un facteur de conversion de 30 mg de C_{mic} par ml CO_2 . Il en résulte:

$$C_{\text{mic}}(\text{SIR}) = \text{SIR} \cdot 30$$

4. Résultat

mg de $C_{\text{mic}}(\text{SIR})$ par kg de matière sèche du sol. Degré de précision: 1 mg.

5. Remarques

- Les microorganismes aérobies du sol réagissent à un ajout de glucose d'une concentration optimale par une montée immédiate de leur activité respiratoire jusqu'à l'obtention d'une valeur maximale. Celle-ci reste constante pendant quelques heures puis, suite à la croissance des microorganismes, l'activité respiratoire s'élève rapidement. La respiration maximale induite par un substrat est étroitement corrélée selon Anderson et Domsch (1978) avec la biomasse microbienne obtenue selon la méthode par fumigation-incubation (FIM) selon Jenkinson et Powlson (1976). De cette relation, on détermine un facteur qui permet la conversion du taux maximal de la respiration induite par substrat en biomasse microbienne. Pour un échantillon de 100 g de sol (TS) incubé à 22 °C une respiration maximale initiale de 1 ml CO_2 /h correspond à 40 mg de biomasse-C. A l'aide d'une série de sols, Kaiser et al. (1992)³ obtiennent un facteur de conversion de 30 mg de biomasse-C par ml CO_2 . C'est ce facteur que l'on utilise généralement.

- La méthode selon Isermeyer ne permet pas une détermination directe de la production horaire du CO₂. On en déduit que le laps de temps entre 2 et 6 heures d'incubation correspond au plateau de la respiration maximale initiale. Le taux de la production horaire du CO₂ est déterminé par la division de la valeur obtenue après 4 heures d'incubation et par conversion en biomasse à l'aide de la formule correspondante.
- La détermination de la biomasse microbienne selon la méthode SIR d'Anderson et Domsch (1978) requiert un appareillage ou une installation pour la mesure horaire de la respiration du sol. Pour cela, le dispositif de mesurage des gaz aux infrarouges selon Heinemeyer (1989) (méthode B-BM-HM) nous semble être le mieux approprié. Cependant il est aussi possible de mesurer la consommation de O₂ avec un Sapromat ou un appareil Warburg.

6. Bibliographie

Anderson J.P.E. and Domsch K. H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10, 215 - 221.

Jenkinson D.S. and Powlson D.S. (1976). The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8, 209 - 213.

Kaiser E.-A., Müller T., Jörgensen R.G., Insam H. and Heinemeyer O. (1992). Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 24, (7) 675 - 683.

Heinemeyer O., Insam H., Kaiser E.-A. and Walenzik G. (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements: An automated technique based on infrared analysis. *Plant and Soil* 116, 191 - 195.

7. Histoire

Version	Type du changement	nouveau	avant
Version 1 (1996)	établissement de la méthode		
Version 1.1 (1998)	Autorisation de la méthode		
Version xx (2020)	éditorial	Publication électronique avec nouveau layout	

Impressum

Éditeur	Agroscope Reckenholzstrasse 191 8046 Zürich www.agroscope.ch/referenzmethoden
Renseignements	Diane Bürge
Copyright	© Agroscope 2020