

Respirométrie Oxitop®

S. Criquet & coll., IMBE, UMR CNRS 7263 – IRD 237
Contact : steven.criquet@imbe.fr



DESCRIPTION DE L'INDICATEUR



Nom de l'indicateur : Détermination de la respiration des sols à l'aide du système automatisé Oxitop®

Rôle écologique de l'indicateur testé : La respiration est un processus universel permettant aux cellules vivantes, qu'elles soient animales, végétales ou microbiennes, d'assurer leurs besoins énergétiques. Il existe différents types de respiration, mais la plus courante et la plus connue du grand public est la respiration aérobie des organismes chimio-organotrophes. Cette dernière consiste à oxyder de la matière organique, qui sert de source d'électrons et d'énergie, et à faire transiter les électrons dans une chaîne respiratoire jusqu'à un accepteur final, ici l'oxygène. En fin de processus les produits issus de la minéralisation (oxydation) de la matière organique (CO_2) et de la réduction de l'oxygène (H_2O) sont rejetés par l'organisme.

L'activité respiratoire peut ainsi être mesurée en quantifiant le CO_2 produit ou l' O_2 consommé.

Les premières mesures de respiration du sol ont été effectuées il y a 60 ans, ce qui fait de cette technique l'une des plus anciennes mise en œuvre pour quantifier des activités biologiques dans les sols. Cette activité peut provenir du métabolisme énergétique des racines, mais il est généralement admis que c'est la respiration des microorganismes qui prédomine. La respiration du sol est couramment utilisée comme indicateur de l'impact des pratiques agricoles ou d'intrants chimiques (e.g. pesticides, métaux, HAP) sur le fonctionnement biologique des sols.

Type d'indicateur : Bioindicateur d'effet : la respiration du sol est mesurée à intervalles de temps réguliers dans une jarre hermétique à l'aide d'un capteur autonome de pression Oxitop®. À l'inverse d'autres techniques de respirométrie, l'indicateur Oxitop permet d'avoir une vision cinétique de la respiration au travers de la consommation en oxygène par les microorganismes du sol. Au cours de l'incubation, le CO_2 est piégé par de la soude et peut être quantifié en fin d'expérimentation par titrage chimique.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

Normes et/ou protocoles de référence

Le système Oxitop® control est une marque déposée (WTW, Weilheim, Allemagne) permettant la mesure en continu de la respiration microbienne des sols. Le système, ainsi que les protocoles de mesure, sont disponibles auprès du fournisseur et des distributeurs. Ils ont fait l'objet de procédures de normalisation ; Normes ISO 16072 : 2002 et DIN 19 737.

Plan et méthode d'échantillonnage

Suivant la finalité de l'étude, les stratégies et les techniques d'échantillonnage peuvent considérablement varier. Pour une vision exhaustive de ces différentes techniques, on pourra se référer à : « Manual of Soil Analysis. Monitoring and Assessing Soil Bioremediation » R. Margesin, F. Schinner (Eds.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2005 (366 pp). Dans le cadre du Programme Bioindicateurs de l'Ademe, les sols ont été prélevés sur une profondeur de 15 cm, puis tamisés à 2 mm au laboratoire avant analyse. Dans le cas des sols forestiers, les horizons O ont été écartés avant le prélèvement. Une stratégie commune d'échantillonnage a été appliquée à l'ensemble des parcelles du programme. Pour chaque modalité, un échantillon moyen composite a été réalisé en prélevant aléatoirement 9 sous-échantillons élémentaires et en les mélangeant. Quatre répétitions d'échantillon composite ont été réalisées pour chaque modalité (parcelle). Suite aux prélèvements, les échantillons ont été stockés temporairement à 4°C (glacière) et acheminés dans les plus brefs délais au laboratoire.

■ **Stockage et pré-traitement des échantillons** : Après réception des échantillons au laboratoire, ceux-ci sont stockés à 4°C et analysés dans les plus brefs délais et pour une durée n'excédant pas 3 mois. D'autres procédures existent dans l'éventualité où l'on souhaiterait conserver plus longtemps les échantillons avant analyses : congélation à -20°C (max. 1 an) ; congélation -80°C ou azote liquide (max. 10 ans). Pour plus d'informations, on pourra se référer à la norme NF ISO 10381-6 « Qualité du sol – Echantillonnage – Partie 6 : Lignes directrices pour la collecte, la manipulation et la conservation, dans des conditions aérobies, de sols destinés à l'évaluation en laboratoire des processus, de la biomasse et de la diversité microbiens ».

■ **Description simplifiée de la méthode de mesure** : La mesure de l'activité respiratoire des sols est réalisée à l'aide du système OxiTop® control. Ce système diffère des incubations classiques en point final car il permet de suivre automatiquement et en continu la consommation en oxygène d'un échantillon. L'appareillage se compose d'une jarre (modèle B6M) munie d'un système de fermeture hermétique à l'air ambiant, d'une tête de mesure permettant d'enregistrer les variations de pression, et d'un contrôleur Oxitop® OC 110 permettant l'enregistrement puis la récupération des données par infrarouges (Figure 1). L'incubation s'effectue dans une armoire thermorégulatrice avec une résolution n'excédant pas 0,1°C.

Deux types de respiration peuvent être mesurés sur un échantillon de sol : la respiration basale et la respiration induite. La respiration basale correspond à la respiration du sol sans ajout de matière organique. La respiration induite, mieux connue sous le terme anglo-saxon SIR (Substrate-Induced Respiration) correspond à la respiration du sol suite à l'ajout d'une source de C facilement métabolisable pour les microorganismes, le plus souvent du glucose.

La respiration est mesurée en suivant l'évolution de la pression en O₂ dans une jarre hermétique contenant le sol ; le CO₂ étant quant à lui piégé par de la soude. L'évolution de la pression permet de déterminer la quantité d'O₂ consommée au cours de la respiration. En pratique, 20 g de sol frais ou à une teneur en eau variant de 50 à 70 % de sa capacité au champ, sont introduits dans la jarre ; dans le cas de la respiration induite, 100 mg de glucose sont mélangés au sol. Un piège à CO₂ contenant soit des pastilles de soude, soit 20mL de NaOH 0,2 N est également introduit dans la jarre. L'ensemble est fermé hermétiquement à l'aide d'un joint, de graisse de silicone et d'étriers. Les variations de pression sont mesurées en continu durant 3 jours à une température fixe de 20°C. Au bout de 3 jours, les données sont téléchargées et un modèle linéaire est calculé pour établir la pente exacte de perte de pression dans la jarre. Les résultats sont exprimés en mg d'O₂ consommé par jour et par gramme de sol sec selon la formule :

$$SR = \frac{M(O_2) \cdot V_{fr} \cdot dP}{R \cdot T \cdot M(DS) \cdot Xd}$$

où SR : respiration du sol ; M(O₂) : masse molaire de O₂ ; V_{fr} : volume libre ; dP : différence de pression ; R : constante des gaz parfaits ; T : température Kelvin ; M(DS) : masse de sol sec ; Xd : nombre de jours.

En fin d'expérimentation, la quantité de CO₂ libérée peut également être quantifiée par titrage si le piège à CO₂ contenait une solution 0,2 N de NaOH.

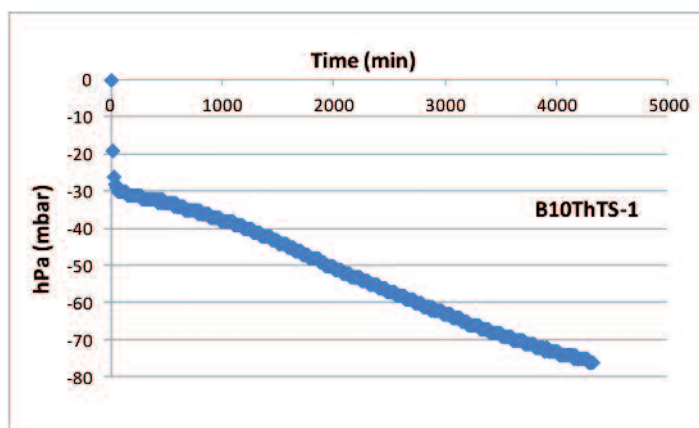


Figure 1. A gauche : Système Oxitop avec, visible de haut en bas, la tête d'enregistrement de pression, le joint + étriers, la jarre en verre, le piège à CO₂, l'échantillon de sol. A droite : exemple de cinétique de dépression obtenue par consommation de l'O₂ par les microorganismes du sol ; le décrochement initial est un artefact systématique correspondant au temps nécessaire pour la stabilisation de la température dans la jarre.

EXEMPLE D'APPLICATION - INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Nécessité d'un référentiel global, faisant appel à une base de données

La technologie Oxitop, malgré son côté pratique et simple, est encore relativement peu utilisée dans des études fondamentales de sciences du sol. Elle est en revanche plus utilisée dans les cabinets d'étude et dans les recherches appliquées sur la dégradabilité de xénobiotiques. Le programme Bioindicateurs a permis d'établir un premier référentiel de la variabilité des données de respiration des sols dans des contextes très variés (Figure 2). Les boîtes à moustaches jaunes concernent des pratiques agricoles, les vertes des sols de forêts et les rouges des sols pollués par des métaux ou des HAP.

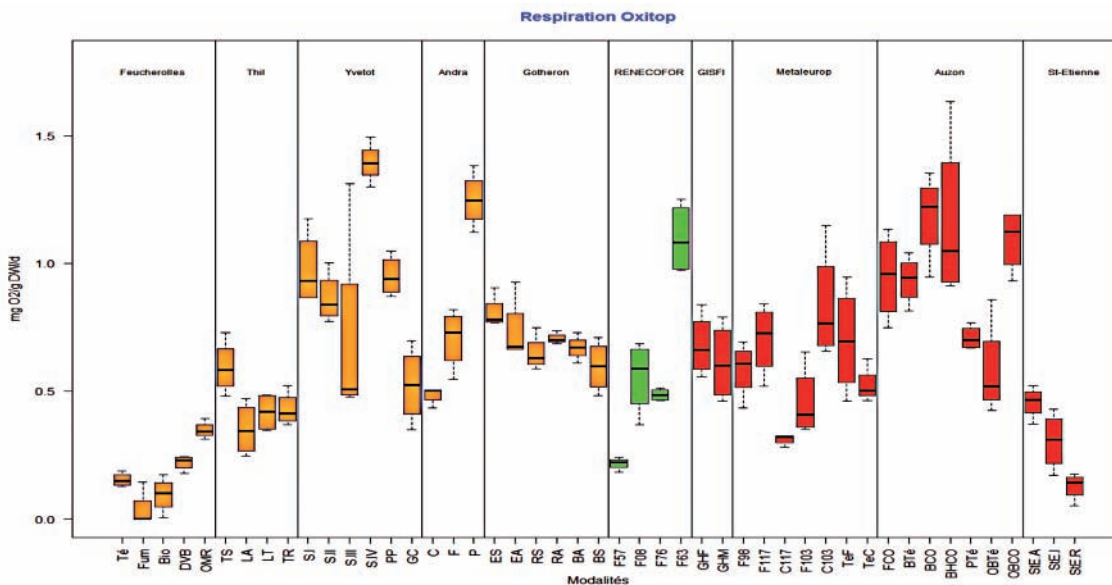


Figure 2 : Comparaison multi-sites de l'indicateur respiration OxiTop®.

Disponibilité/accès à la base de données

Les valeurs d'activité respiratoire Oxitop® sont indexées dans la base de données « Bio 2 BD » hébergée par le site Ecobiosol de l'Université de Rennes 1 : <http://ecobiosol.univ-rennes1.fr>. Les caractéristiques physico-chimiques des sols ainsi que les niveaux de pollution ou les pratiques agricoles auxquels ils sont soumis y sont également disponibles. L'accès à cette base de données est soumis à autorisation préalable.

Informations complémentaires nécessaires (ex : climat, usage, type de sol..)

Si la respiration du sol est sensible au mode de gestion et aux intrants chimiques, elle l'est également vis-à-vis des facteurs naturels environnementaux. Il est donc impératif de disposer de données relatives aux propriétés physico-chimiques des sols et aux conditions climatiques. En effet, certaines variables, comme la teneur en matière organique, peuvent significativement influencer la respiration et, de fait, constituer des facteurs confondants de l'effet d'une perturbation. Pour pallier à cette ambiguïté, il est nécessaire de pouvoir distinguer la variance due à la perturbation de celle due aux propriétés intrinsèques des sols (Floch *et al.*, 2009)

Floch C., Capowiez Y, Criquet S. (2009) Enzyme activities in apple orchard agroecosystems : How are they affected by management strategy and soil properties. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 61-68.



INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR

- + Permet d'avoir une vision cinétique de la respiration d'un sol et non pas un point final.
 - + Utilisation très simple et accessible à tous
 - + Possibilité de titrer le CO₂ en point final
 - + Possibilité d'utiliser des jarres à ouvertures tubulaires latérales permettant l'ajout d'écotoxiques et de suivre leurs effets sur la respiration
 - + Coût de fonctionnement très faible
- Coût à l'achat
 - Il est impératif que les sols ne soient pas saturés d'eau pour éviter l'anaérobiose. Le choix d'une teneur en eau adéquate doit au préalable être effectué.
 - Nécessité d'un plus grand nombre de données pour les calibrer par rapport à d'autres techniques de respirométrie.

PARTICIPANTS

Ont participé à cette étude : Virgile Calvert, Stéven Criquet, Vincent Pujol



IMBE – Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie
UMR CNRS 7263 IRD 237. Aix-Marseille Université.
FST St-Jérôme. Marseille 13397 Cédex 20.

CONTACT
steven.criquet@imbe.fr