

## Utilisation du microrespiromètre différentiel Gilson pour l'étude d'échantillons de sol\*

PAR

P. ROGER (1) et Y. DOMMERGUES (2)

### INTRODUCTION

Le microbiologiste du sol se trouve souvent placé devant des problèmes difficiles à aborder en raison de leur complexité. Toutefois, en faisant appel aux méthodes respirométriques, il lui est souvent possible d'obtenir des informations précieuses qui lui permettent d'accélérer le déroulement de ses recherches ultérieures.

C'est pourquoi, il nous a paru intéressant de présenter ici une note concernant l'emploi du microrespiromètre différentiel GILSON dont nous avons adapté l'équipement à l'étude d'échantillons de sol.

### I. — DESCRIPTION GÉNÉRALE DE L'APPAREIL

Le microrespiromètre Gilson est un appareil avec lequel les mesures effectuées sont des mesures différentielles à pression constante contrairement à l'appareil de Warburg qui fonctionne à volume constant (UMBREIT et al., 1964).

L'appareil type est constitué de 14 unités de mesure montées sur barres oscillantes et d'un bain thermostaté comprenant une cuve en acier inoxydable, un vertex, une résistance chauffante, un agitateur à hélice, un serpentin pour réfrigération.

Le principe de l'appareil et le fonctionnement des unités de mesure sont schématisés dans la figure 1. Une unité de mesure est constituée par une fiole active (FA), un manomètre en U (M), un volumètre à affichage digital (V), un robinet de manomètre (RM), qui permet d'isoler la fiole de mesure de la fiole de

(1) O.R.S.T.O.M., Centre de Pédologie, C.N.R.S., Nancy.

(2) Centre de Pédologie, C.N.R.S., Nancy.

\* Reçu le 21-I-1969.

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n°/3697

27 JAN. 1970

référence (FR), un robinet (RS) qui permet de mettre en circuit ou non l'unité de mesure qui en dépend. L'admission des gaz à l'intérieur de l'appareil se fait au moyen du robinet d'admission (RA) ; l'évacuation s'effectue au niveau des robinets de purge (RP) situés sur les fioles de mesure et les fioles de référence.

En cours d'expérience, lorsqu'une absorption ou un dégagement gazeux se produit dans la fiole active, le liquide manométrique se déplace ; on le ramène à sa position initiale en tournant la vis du volumètre correspondant qui fait varier le volume gazeux dépendant de la fiole active et indique la variation de volume produite, en microlitres.

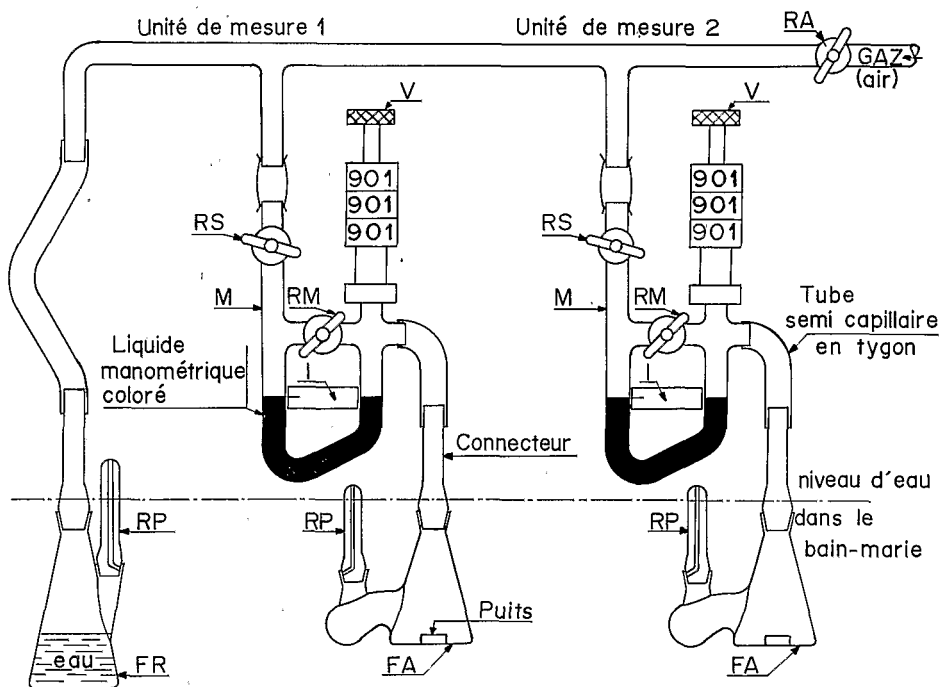


FIG. 1. — Schéma des unités de mesure du respiromètre différentiel GILSON.

## II. — MODIFICATIONS A APPORTER A L'APPAREIL STANDARD ET MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE A UTILISER POUR L'ÉTUDE DES SOLS

Pour obtenir des résultats reproductibles, il faut faire porter les mesures sur des échantillons d'au moins cinq grammes, d'où la nécessité de disposer de chambres de respiration assez grandes. La fiole conçue par DROBNIK (1960) répond à cette exigence ; nous l'avons donc adoptée en la modifiant légèrement.

Nous commencerons par la décrire, puis nous indiquerons les transformations à apporter à l'appareil standard Gilson qui, tel qu'il est livré, ne peut être utilisé directement, ni avec les fioles de Drobnik, ni pour des mesures de longue durée.

## A) Fioles Drobnik modifiées (fig. 2).

Elles sont constituées d'un corps cylindrique, d'un rodage pour bouchon de fermeture, d'un rodage pour robinet de purge, d'un rodage pour raccord au connecteur. Sous ces deux derniers rodages se trouve un évasement permettant de placer un coton pour la stérilisation des fioles.

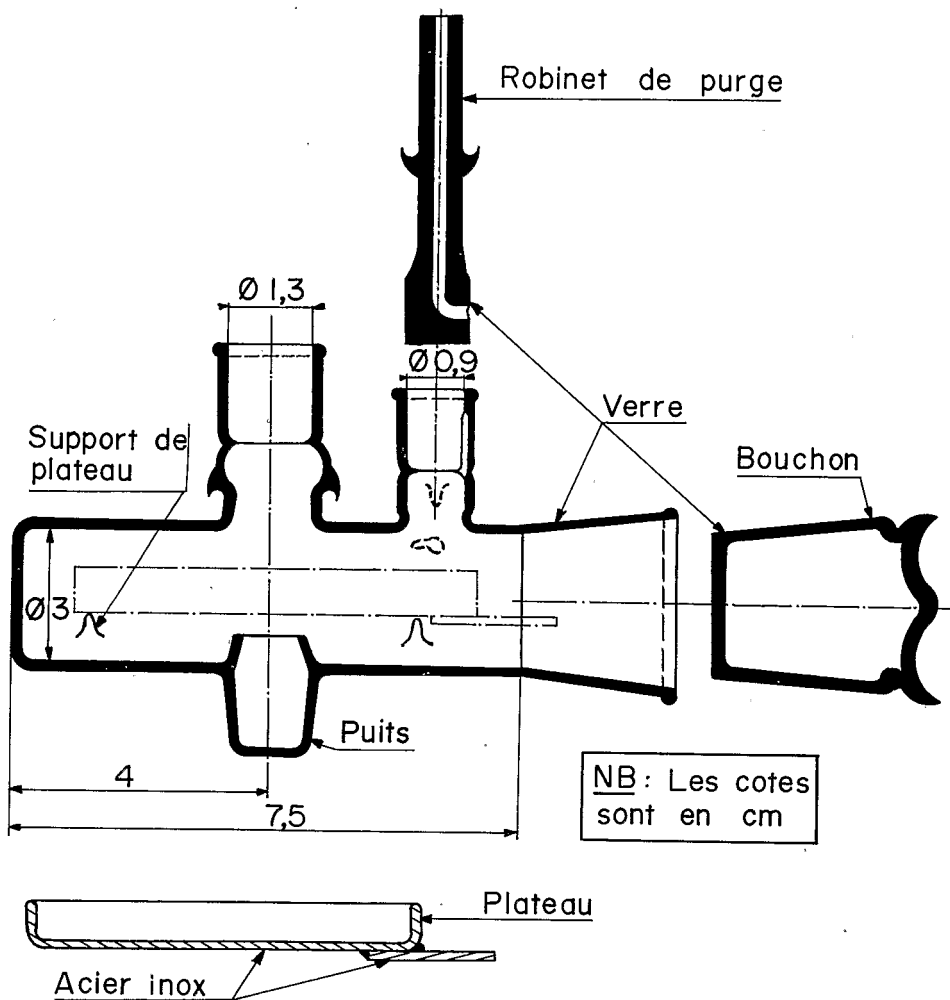


FIG. 2. — Fiole de DROBNIK modifiée.

Elles comportent, en outre, six ergots extérieurs pour fixation au moyen de ressorts métalliques, quatre ergots intérieurs destinés à recevoir un plateau en acier inoxydable (ou une grille en toile fine) où est placé le sol à étudier, un puits destiné à recevoir une solution de potasse fixant le  $\text{CO}_2$  dégagé par le sol.

Le volume intérieur de ces fioles est d'environ 50 ml ce qui correspond, pour douze fioles montées (avec plateau, sol et solution de potasse), à un volume gazeux intérieur total de 500 ml environ, d'où la nécessité d'ajouter une deuxième fiole de référence à l'appareil qui est livré avec une fiole de référence de 250 ml.

B) Montage d'une deuxième fiole de référence (fig. 3).

du bain thermostaté. Dans ces conditions, il est préférable d'intercaler un interrupteur électrique entre le tableau de commandes et le moteur. Cet interrupteur pourra être aisément fixé sous la cuve thermostatée dans une position facilement accessible mais évitant toute mise en service involontaire.

Pour pouvoir loger 12 fioles dans le bain, il convient :

- 1) de tourner à la main le volant d'agitation pour amener l'oscillateur vers la gauche ;
- 2) de retirer le déflecteur avant-droit, afin de pouvoir loger la fiole de l'unité n° 14.

Dans ces conditions, seules les unités 2 et 13 ne sont pas utilisées.

#### D) Montage d'un circuit d'alimentation en air (fig. 4).

Lorsque l'on effectue des expériences de longue durée il est nécessaire, afin d'éviter les conditions d'anaérobiose ou plus exactement d'anoxybiose, de renouveler l'atmosphère des fioles.

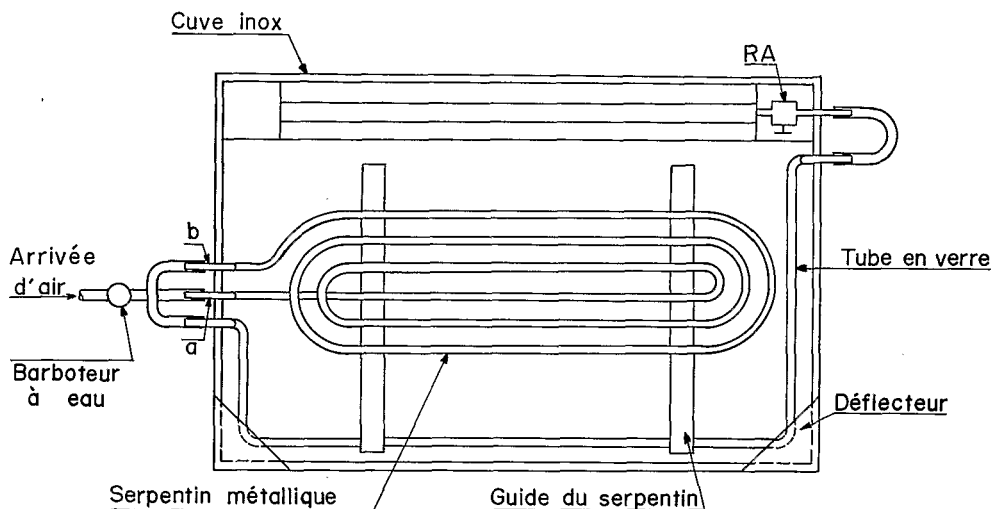


FIG. 4. — Montage d'un circuit d'alimentation en air.

Des expériences réalisées avec une électrode à oxygène et avec « l'Oxygraphe Gilson » nous ont permis de nous rendre compte que ceci se produit lorsque la pression partielle de l'oxygène dans la fiole de mesure devient inférieure à 75 % de celle de l'air, ce qui confirme les expériences de GILMOUR et al. (1958). Il conviendra donc, à partir des mesures effectuées, de calculer approximativement la consommation d'oxygène par l'échantillon étudié et de déterminer la fréquence utile de renouvellement de l'atmosphère des fioles.

Afin de perturber le moins possible les mesures et d'éviter de dessécher le sol, le renouvellement de l'atmosphère des fioles est effectué au moyen d'air préalablement humidifié et porté à la température du bain grâce au montage suivant :

Une pompe, du type de celles utilisées pour l'aération de l'eau des aquariums, est raccordée par l'intermédiaire d'un barboteur à eau à la branche (a) du serpentin métallique monté sur l'appareil. La branche (b) du serpentin est ensuite raccordée au robinet d'admission des gaz (RA) au moyen d'un tube de verre

coudé de 2 m de long. Pour le monter sans difficultés, il convient d'enlever les déflecteurs avant, de démonter les deux oscillateurs à l'une de leurs extrémités, et de les relever ; glisser ensuite le raccord sous les guides du serpentín métallique, remonter les déflecteurs et les oscillateurs.

### III. — UTILISATION

#### A) Précautions opératoires.

##### 1. *Bain thermostaté :*

Pour éviter tout entartrage du bac, il convient de le remplir d'eau distillée ou déminéralisée.

Le niveau de l'eau doit être suffisant pour que le rebord du raccord entre les

respiratoire de 2 échantillons d'un même horizon (Mull forestier) dont un a été conservé à l'état sec pendant un mois et l'autre à l'état humide.

Le temps de conservation est aussi susceptible d'influer sur l'intensité respiratoire des échantillons. A titre d'exemple, nous donnons (fig. 6) les courbes cumulatives de l'absorption d'oxygène par deux échantillons d'un même sol conservé à l'état sec. Le premier échantillon a été prélevé après 1 mois de conservation, le deuxième, après 2 mois.

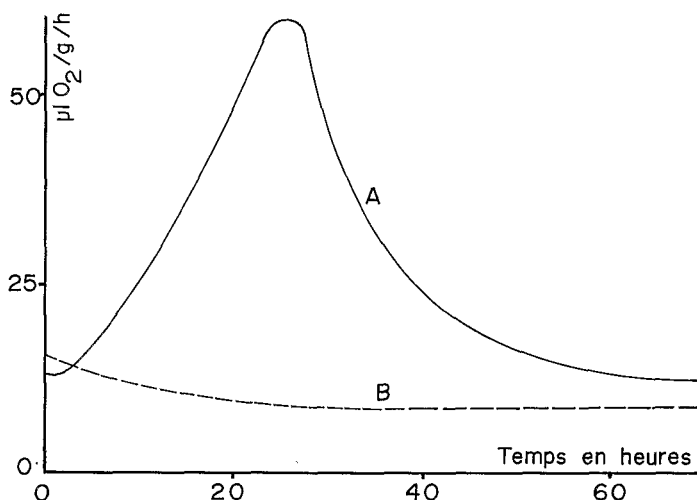


FIG. 5. — Courbes d'intensité respiratoire de deux échantillons d'un Mull forestier dont l'un a été conservé à l'état sec, pendant un mois (A), et, l'autre, à l'état humide (B).

Malgré la perturbation apportée par la dessiccation, la conservation à l'état sec semble être la méthode la plus pratique lorsqu'il s'agit d'étudier l'influence de substrats solubles sur les sols. En effet, la meilleure façon d'apporter le substrat et de le répartir uniformément dans l'échantillon consiste à le diluer dans l'eau qui servira à humecter le sol sec. Si l'on part d'un sol déjà humide, on ne pourra apporter qu'une faible quantité de solution (sous peine de se placer dans des conditions de semi-anaérobiose) et le substrat risquera d'être mal réparti dans l'échantillon.

Lorsqu'il s'agit uniquement de caractériser un sol par sa respiration endogène, il est nécessaire d'utiliser des échantillons immédiatement après leur prélèvement *in situ*.

### C) Conduite d'une expérience.

#### 1. PRÉPARATION DES FIOLES DE MESURE ET DES FIOLES DE RÉFÉRENCE.

Les fioles de mesure étant fragiles et de manipulation peu facile, on a intérêt à les placer dans des portoirs.

##### a) Préparation des fioles de référence :

Calculer le volume gazeux intérieur de l'ensemble des fioles actives utilisées et introduire dans chaque fiole de référence un volume d'eau distillée tel que

la somme des volumes gazeux restant dans ces dernières soit égale à la somme des volumes gazeux des fioles actives.

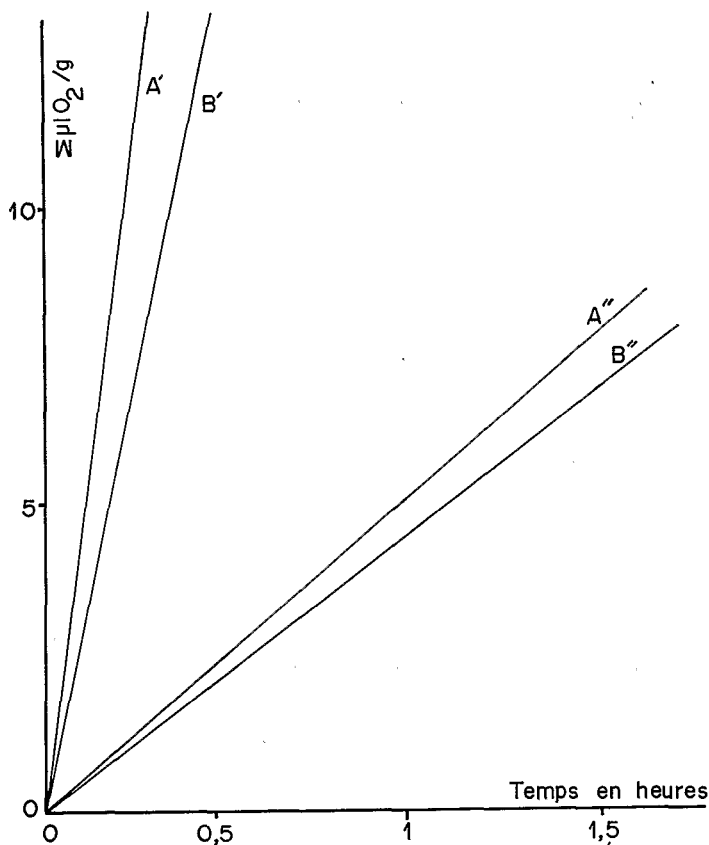


FIG. 6. — Courbes cumulatives de l'absorption d'oxygène par deux échantillons d'un même sol conservés à l'état sec et à 1° C, l'un un mois (A) et l'autre deux mois (B). (A' B' : sol brun lessivé ; A'' B'' : sol podzolique).

*Exemple pour dix fioles de mesure :* Dix fioles de mesure correspondent à un volume gazeux de  $40 \times 10 = 400$  ml. Le volume total des fioles de référence étant de 500 ml il faudra donc ajouter  $\frac{500 - 400}{2}$  ml d'eau distillée dans chaque fiole de référence.

Du... à l'usage de toutes les fioles de mesure disponibles (soit 12)



La meilleure façon de procéder semble être la suivante : tarer un plateau, le remplir de sol en excès et araser avec une spatule appuyée sur ses bords, peser le sol et adopter ce poids pour tous les échantillons d'une même série.

L'humectation du sol sec se fait en apportant une quantité d'eau ou de solution qui amène l'humidité à une valeur proche de l'humidité équivalente.

On dépose l'eau ou la solution uniformément à la surface de l'échantillon au moyen d'une pipette graduée.

c) *Montage des fioles actives :*

Les fioles étant placées dans des portoirs, introduire dans chaque puits 1 ml de solution de potasse à 40 % et un petit cylindre de papier Joseph obtenu en roulant une bande de 15 mm × 30 mm autour d'une allumette. Ce morceau de papier est destiné à augmenter la surface de contact entre la potasse et l'atmosphère de la fiole et à favoriser ainsi la fixation du CO<sub>2</sub> dégagé par le sol.

Introduire les plateaux dans les fioles au moyen de grosses pinces.

Enduire les bouchons, robinets et connecteurs de graisse Rhodorsil aux silicones en évitant tout excès et *en prenant soin de ne pas boucher l'ouverture des robinets de purge.*

Monter bouchons et robinets au moyen de ressorts.

Adapter les fioles sur les connecteurs et les fixer avec les ressorts.

## 2. OPÉRATIONS PRÉLIMINAIRES.

Mettre en route le chauffage principal et le chauffage auxiliaire (lorsque la température voulue est obtenue, on laisse fonctionner seulement le chauffage principal).

Faire fonctionner l'agitateur du bain (agitateur à hélice).

Préparer les fioles et les mettre en place.

*Vérifier que les robinets de manomètre (RM) sont bien ouverts.*

Vérifier que les robinets de purge (RP) sont bien fermés.

Fermer les robinets de mise en service des unités non utilisées (RS).

Fermer l'arrivée d'air (RA).

*N.B. :* Tous les robinets sont ouverts lorsque leur tige de contrôle est en position haute, fermés lorsque leur tige de contrôle est en position basse.

## 3. OBTENTION DE L'ÉQUILIBRE THERMIQUE.

Si l'on ne note aucune absorption d'oxygène dans l'une des unités et, si le sol n'est pas en cause, ceci peut être dû, soit à une erreur de manipulation, soit à un mauvais fonctionnement des volumètres.

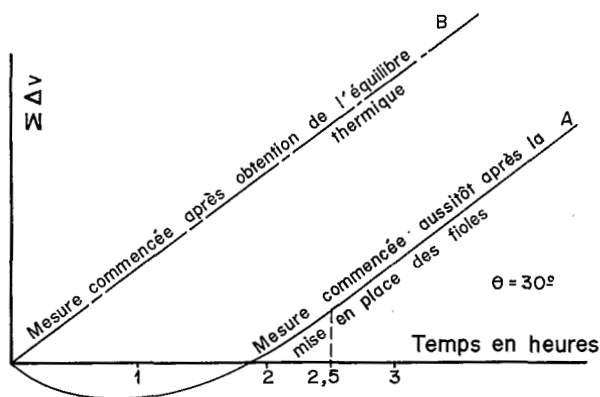


FIG. 7. — Lorsque l'équilibre thermique n'est pas atteint, la courbe obtenue (A) est décalée par rapport à la courbe exacte (B).

Dans le premier cas, vérifier que le robinet de mise en service (RS) de l'unité est bien ouvert. S'il est fermé, commencer par ouvrir le robinet de manomètre correspondant (RM), puis fermer dans l'ordre robinet de mise en service (RS) et robinet de manomètre (RM). Vérifier ensuite que le robinet de purge (RP) de la fiole de mesure est bien fermé, sinon le refermer (dans ce cas, il n'y a pas de précautions particulières à observer).

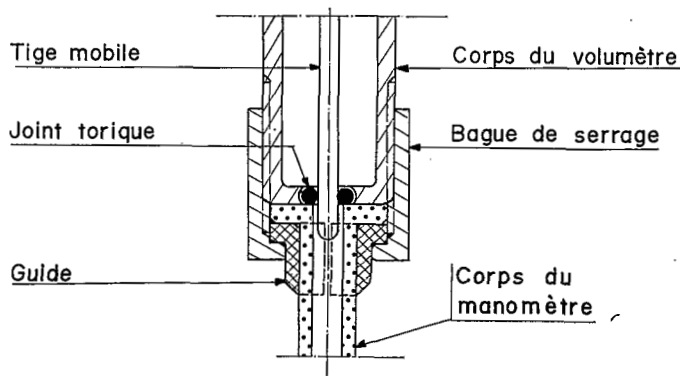


FIG. 8. — Coupe de la base d'un volumètre GILSON.

Si ces opérations se révèlent inutiles, c'est qu'il existe une fuite au niveau du volumètre, dans ce cas, on peut généralement pallier temporairement à cet inconvénient en commençant les mesures au chiffre 10. Pour ce faire, ouvrir le robinet de purge (RP) de la fiole de mesure et régler le chiffre 10 du volumètre puis

se faire que, lorsque le volumètre est au zéro, le contact entre la tige et le joint ne soit pas parfait. En amenant le volumètre à 10, on enfonce la tige et l'on rétablit un contact étroit avec le joint; de façon générale, pour ne pas abîmer le joint intérieur des volumètres, il convient de les manipuler sans brusquerie et de ne jamais aller en-dessous du chiffre 000 ou au-dessus du chiffre 500.

#### D) Mesures de courte durée.

Ce sont des mesures portant au maximum sur une dizaine d'heures et au cours desquelles il n'est pas nécessaire de renouveler l'atmosphère des fioles, la teneur en oxygène restant supérieure à 75 % de la teneur de l'air atmosphérique. A titre d'exemple, nous donnons, fig. 9, les courbes cumulatives correspondant à la respiration endogène du sol rhizosphérique et du sol non rhizosphérique d'*Eleusine coracana* (Sol Dior de Bambey, Sénégal) (GARCIA, 1967).

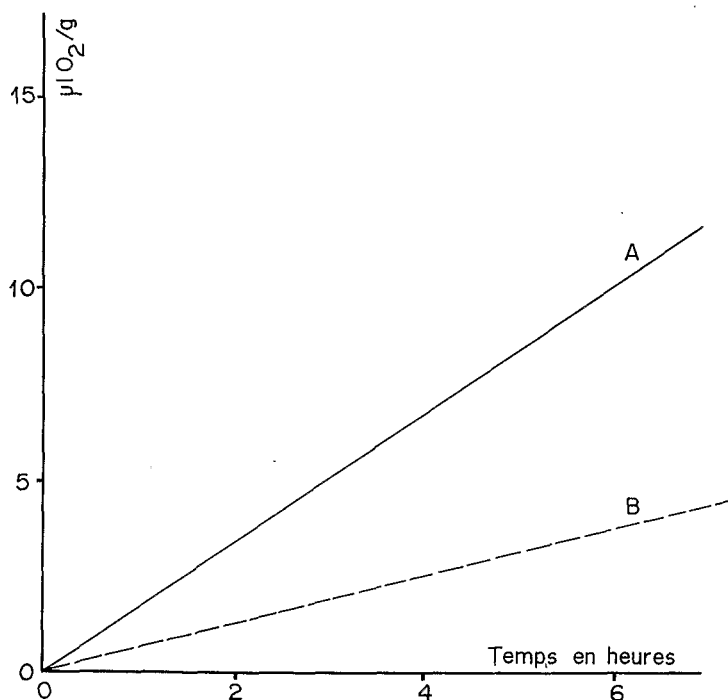


Fig. 9. — Courbes cumulatives correspondant à la respiration endogène du sol rhizosphérique (A) et du sol non rhizosphérique (B) d'*Eleusine*

Ce renouvellement doit être effectué avant que la teneur en oxygène soit tombée en-dessous de 75 % de celle de l'atmosphère. Il s'effectue de la manière suivante :

*Ouvrir les robinets de manomètres (RM).*

Ouvrir les robinets de purge des fioles de compensation, puis des fioles de mesure (RP).

Ouvrir *lentement* le robinet d'admission d'air (RA) ; si le débit est trop fort et risque d'entraîner le liquide manométrique, le réduire à la sortie de la pompe.

Vérifier que l'air passe bien dans toutes les fioles en plaçant le doigt sur les robinets de purge (RP).

Attendre dix minutes environ.

Arrêter la pompe.

Fermer dans l'ordre : fioles de mesure (RP), fioles de compensation (RP), arrivée d'air (RA).

Remettre les volumètres au zéro.

Attendre une demi-heure avant de recommencer les mesures en fermant les robinets de manomètres (RM).

A titre d'exemple, nous donnons ci-après la courbe d'intensité respiratoire d'un sol sec humidifié par 3 ml d'eau pour le témoin, et, par 3 ml d'une solution apportant  $5 \cdot 10^{-3}$  du poids de sol en acide citrique (fig. 10).

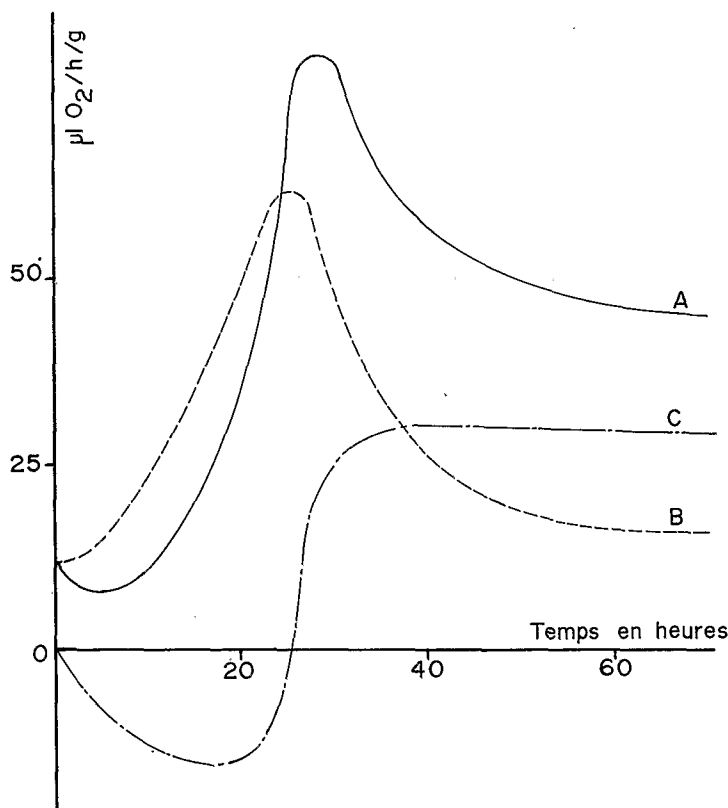


FIG. 10. — Comparaison de l'activité respirométrique de deux échantillons d'un horizon  $A_1$  de sol brun lessivé dont l'un a été enrichi par  $5 \cdot 10^{-3}$  d'acide citrique (A), l'autre, non enrichi, sert de témoin (B) ; La courbe (C) obtenue par différence, correspond sensiblement à la minéralisation du carbone de l'acide citrique.

## IV. — PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

L'absorption tellurique de l'oxygène peut être définie par deux paramètres (DROBNIKOVA et DROBNIK, 1965 ; DOMMERGUES, 1968) :

$$Q = \int_{t_0}^{t_i} IR dt$$

(quantité d'oxygène absorbée dans l'intervalle de temps  $(t_i-t_0)$  exprimée en volume ou en poids par unité de volume ou de poids de sol) ;

$$IR = \frac{dQ}{dt}$$

(intensité momentané de la vitesse de libération de l'oxygène exprimée en volume

1. Il présente, sur les appareils à volume constant, l'avantage d'éviter le jaugeage de la verrerie (les fioles sont alors interchangeables) et les calculs de correction.

2. La mise en route d'une expérience ne nécessite qu'un temps assez court (2 h. environ).

3. La lecture des résultats se fait directement sur l'appareil.

Les modifications que nous avons apportées lui confèrent en outre les avantages suivants :

1. Il permet de prolonger la durée des observations aussi longtemps que nécessaire.

2. Les mesures sont précises et reproductibles.

Il convient toutefois d'observer des précautions qui sont inhérentes, les unes à l'étude des sols, les autres à l'appareil lui-même :

1. A l'intérieur de chaque unité expérimentale, utiliser des échantillons qui ont été récoltés et conservés de façon identique.

2. Homogénéiser les échantillons le mieux possible (emploi de l'échantillonneur-diviseur).

3. Effectuer un minimum de trois répétitions.

4. Attendre l'équilibre thermique avant de commencer les mesures.

5. Ne pas trop remplir les plateaux afin d'éviter toute chute de sol dans les puits contenant la potasse.

6. Dans le cas des mesures de longue durée, renouveler l'atmosphère des fioles

Cette dernière transformation permet de renouveler périodiquement l'atmosphère des fioles et d'effectuer des mesures de longue durée.

L'appareil ainsi modifié présente de nombreux avantages qui ont été énumérés dans la conclusion ; en observant certaines précautions il permet d'obtenir une mesure rapide, précise et reproductible de la vitesse d'absorption de l'oxygène par les sols.

#### SUMMARY

In order to use the Gilson differential microrespirometer for measuring oxygen uptake by soil samples, the authors propose the following transformations:

1. Replacement of the set of 14 active flasks by a set of 12 modified Drobnik flasks.

2. Addition of one extra 250 ml reference flask.

3. Adaptation of a device for replacing the atmosphere of the active flasks by humidified air exactly at the same temperature as that of the bath.

These modifications which do not alter the qualities of the Gilson respirometer (no glassware calibration; digital readout directly in microliters) allow the measure of soil respiration rate over as long periods as it is necessary for studying slow process.

The modified respirometer is precise and reliable provided at least 3 replicates are used for each 4 to 6 g soil sample.

#### BIBLIOGRAPHIE

- DOMMARGUES (Y.), 1968. — Dégagement tellurique du CO<sub>2</sub>. Mesure et signification. *Ann. Inst. Pasteur*, **115**: 627-656.
- DROBNIK (J.), 1960. — A working vessel for soil samples. *Nature*, **188**: 86.
- DROBNIKOVA (V.), DROBNIK (J.), 1965. — Soil Respiration. *Zentbl., Bakt. Parasitkde Zabt.*, **119**: 714-729.
- GARCIA (J.L.), 1967. — Communication personnelle.
- GILMOUR (C.M.), DAMSKY (L.), BOLLEN (W.B.), 1958. — Manometric gaz analysis as an index microbial oxidation and reduction in soil. *Can. J. Microbiol.*, **4**: 287-293.
- UMBREIT (W.W.), BURRIS (R.M.), STAUFFER (J.F.), 1964. — *Manometric Techniques*. Burgess, Minneapolis.