

CN880007  
ASSO/P340  
FAY

**REPUBLIQUE DU SENEGAL**  
**MINISTRE DE L'AGRICULTURE**  
**Institut Sénégalais de RECHERCHES**  
**AGRICOLES**

**RAPPORT DE STAGE**

**Formation théorique et pratique aux techniques de mesure de la biomasse  
microbienne et de la caractérisation de la matière organique du sol.**

**SALIOU FAYE / CNRA / BAMBEY**

**février-mars 1998**  
**OREGON STATE UNIVERSITY**  
**OSU/USA**

**ISRA/NRBAR**

# sommaire

## I. Introduction

## II. Biomasse microbienne

1) Introduction

2) Matériel

Méthodes

3-1 fumiaation -incubation

3-2Standard curve

3-3Utilisation appareil CARLE

## III. MATIERE ORGANIQUE PARTICULAIRE:

1) Introduction

2) Matériel 3) Méthodes

3-1) Préparation échantillons

3-2) Agitations-tamissage

3-3) Séchage -broyage

3-4) Carbon Analyser DOHRMAN

3-5) Tableau de résultats

## IV. ENZYMES

1) Introduction

2) Matériel

3) Méthodes

## V conclusions

- Gas chromatographe
- Bouteille de CO<sub>2</sub> ▪ Hélium -Argon

### 3- Méthodes

#### 3-1 Fumigation - Incubation

La biomasse microbienne C est mesurée par la méthode fumigation-incubation. On pèse pour chaque échantillon  $\pm 10$  g de sol tamisé (2 mm) en deux répétitions. Le premier sera fumigé et le second non fumigé. Il peut faire en même temps l'humidité de chaque échantillon.

Les échantillons à fumiger seront mis dans des flacons en verre (bouteilles de 25 ml) et sont installés dans un dessiccateur. On met au milieu un becher contenant du boiling stone et 30 ml de chloroforme. Le couvercle sera mis sur le becher pour empêcher le chloroforme de toucher le sol au moment de l'aspiration. On ferme le dessiccateur hermétiquement. Par la pompe, on fait bouillir le chloroforme 1 fois, on vide, on répète une 2<sup>e</sup> fois sans vider. La fumigation doit durer 24 heures.

Les échantillons non fumigés sont mis dans des tubes d'incubation pendant 24 h . Les tubes restent ouvertes. Il faut noter que le chloroforme doit être bouilli pendant une minute.

Après 24 h, les échantillons fumigés sont transvasés dans des tubes d'incubation et fermés de même que les tubes non-fumigés. Il faut faire coucher le tube pour étaler le sol sur la longueur. Les tubes sont mis dans un portoir et installés dans un incubateur à 25°C pour 10 jours.

#### Prélèvement de CO<sub>2</sub> plus mesure

Aussitôt après incubation, des prélèvements de 5 ml de CO<sub>2</sub> sont faits pour chaque échantillon (F + NF). Il faut bien mélanger le gaz à l'intérieur du tube en pompant 3 fois.

#### 3-2 Standard curve

Il faut calculer le standard curve à partir du CO<sub>2</sub> et l'Argon. Deux flacons de 160 ml sont remplis avec ses deux gaz. On prélève 5 ml de CO<sub>2</sub> que l'on met dans le flacon contenant l'Argon. Une aliquote 0,5 ml CO<sub>2</sub> est prise pour chaque échantillon. Il faut sortir du flacon contenant l'argon 5 ml avant d'y mettre 5 ml de CO<sub>2</sub>.

### Coefficient of Standard curve

| Bottle 160 ml | CO <sub>2</sub> % | 0.2 ml | 0.4    | 0.5    | 0.6    | 0.8    |
|---------------|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0.3 ml        | 0.19              | 0.186  | 0.371  | 0.464  | 0.557  | 0.742  |
| 3.5 ml        | 0.31              | 0.309  | 0.618  | 0.772  | 0.927  | 1.236  |
| 1.5 ml        | 0.99              | 0.921  | 1.842  | 2.303  | 2.743  | 3.684  |
| 3 ml          | 1.84              | 1.825  | 3.651  | 4.563  | 5.476  | 7.301  |
| 5 ml          | 3.03              | 3.005  | 6.011  | 6.513  | 9.016  | 12.021 |
| 10 ml         | 5.88              | 5.835  | 11.667 | 14.584 | 17.501 | 23.335 |
| 15 ml         | 8.57              | 8.501  | 17.001 | 21.251 | 25.502 | 34.002 |
| 20 ml         | 11.11             | 11.011 | 22.039 | 27.548 | 33.058 | 44.077 |
| 25 ml         | 13.51             | 13.401 | 26.804 | 33.505 | 40.205 | 53.607 |
| 30 ml         | 15.79             | 15.651 | 31.318 | 39.147 | 46.977 | 62.636 |
| 35 ml         | 17.95             | 17.801 | 35.601 | 44.501 | 53.401 | 71.202 |
| 4.0 ml        | 20.00             | 19.831 | 39.669 | 49.587 | 59.504 | 79.339 |
| 50 ml         | 23.81             | 23.611 | 47.226 | 59.032 | 70.838 | 94.451 |

### 3-3 Comment fonctionne l'appareil

ON : (pour démarrer)

1) Changer Septa

2) Alimenter en hélium

3) Tourner « Power » sur ON

4) Mettre la température à 85° C

5) Mettre Inlet à la position « OFF »

6) Laisser la machine chauffer pendant 30 mn

7) Tourner thermos sur ON

Soyez sûr que le gaz est ouvert (hélium)

OFF : (pour arrêter)

1) Tourner thermos sur OFF

2) Tourner « Power » OFF

3) Attendre 30 mn

4) Fermer l'hélium

### Formules

+ calcul:  $\mu\text{g CO}_2 = \text{GC Reading} : \text{Coef of S.C}$   
( $\mu\text{g CO}_2/\text{g de sol}$ ) =  $[(\mu\text{g CO}_2 - \text{blanc } \mu\text{g CO}_2) (72 \text{ ml-sample wt} / 2,65)] / (\text{Soil Weight g} \times \text{Aliquote})$

+ 72 ml = volume des tubes d'incubation

blanc= se fera à partir des tubes vides qu'on ferme

Biomasse=dégagement  $\text{CO}_2$  ( $\mu\text{g CO}_2/\text{g de sol} / K$ )

Biomasse C =  $\mu\text{g CO}_2/\text{g soil} : 0.41$

Soil respiration =  $\mu\text{nf} (\mu\text{g CO}_2/\text{G/F}) \cdot \text{Biomass C}$

- 2,65 = densité du sol

- K = 0,41

- aliquote = 0,5 ml

### **III - MATIERE ORGANIQUE PARTICULAIRE:**

#### 1 - Introduction

La matière organique du sol est une source importante pour les substances nutritives de la plante nécessaire à une bonne production. La matière organique particulaire représente une fraction importante de cette matière organique.

La méthode que nous utilisons consiste à disperser le sol et isoler la matière

organique par l'emploi du Hexamétaphosphate de sodium.

## 2- Matériel

- 10 g de sol / échantillons
- 1 tamis de 2 mm
- Flacons de 100 ml avec couvercle
- Balance
- 1 agitateur
- Bocal en verre
- Tamis de 53  $\mu\text{m}$
- Etuve
- Tamis de 0,250
- Ballon de 1 l - 2 l ;
- Mortier + pilon
- 1 appareil carbon analyser (Dohrmad)
- Sodium hexométaphosphate ou polyphosphate (5 g/l)
- Seringue graduée 50  $\mu\text{ml}$

## 3- Méthode

### 3-1 préparation

Le sol prélevé sur le terrain est broyé au laboratoire à la main et tamisé (2 mm). Les gros morceaux et racines qui passent au tamis seront enlevés à la main. Le sol tamisé passera à l'étuve pendant 24 h pour enlever l'humidité à 50 °C.

### 3-2 Agitation + tamisage

On pèsera pour chaque échantillon 10 g de sol. On ajoutera 30 ml de solution de hexamétaphosphate desodium (5 g/l). Le tout sera mis dans des flacons de 100 ml pour agitation ; cette opération doit durer 15 h.

La solution passera au tamis de 53  $\mu\text{m}$  il faut bien rincer les flacons et le tamis avec environ 100 ml d'eau distillée.

Les échantillons tamisés sont mis dans des bocaux et après on les amène à l'étuve pour séchage ( 24 h à 50 °C).

### 3-3 Séchage + broyage

Aussitôt à la sortie de l'étuve, on procède au broyage à la main au mortier et au tamisage (0,250 mm). C'est une partie qui demande un grand soin et il est souhaitable de souffler le matériel entre deux échantillons. L'échantillon tamisé est mis dans de petits sachets et la fraction supérieure à 0.25 mm est jetée.

### 3-4 Carbon analyser

On dose ensuite le carbon contenu dans la fraction tamisée avec le carbon Analyser

- Allumer l'appareil 24 avant le début de travail
- La bouteille d'oxygène est réglée à 20 PSI ; elle est ouverte 1 h avant démarrage.
- Procéder au calibrage avec une solution standard 2000 ppmC
- Nettoyer le boat ou platinum (2 mm)
- Injecter dans le boat 40 µl de la solution standard.
- Ne pas toucher le bouton calibrage
- Lire 2000 ± 50, sinon reprendre 1 standard
- Passer deux échantillons de référence
- Peser l'échantillon qui doit passer à l'appareil (2-4 mg)
- Faire une référence après chaque 20 échantillons
- On lit sur l'appareil le total organic carbon (TOC)
- Laisser l'échantillon dans le four tant que le bouton « ready » n'est pas allumé
- Si le Toc est > 5 % par la prise d'essai < 2 mg.

$$\text{toc en PPM} = \frac{C. \text{ Ready} \times 40 \times 10^{-6}}{\text{Sample weigh (mg)} \times 10}$$

TOC dans la fraction < 53µm

#### **IV - LES ENZYMES**

##### 1- Introduction

Les enzymes sont des catalyseurs. Un catalyseur est une substance qui accélère la vitesse d'une réaction chimique sans pour autant la changer de sa nature. La plupart des catalyseurs biologiques sont des enzymes. L'étude des enzymes est de connaître leur activité. Le toluène utilisé dans cette étude joue le rôle d'un agent antiseptique. Il arrête les futures synthèses des enzymes par des cellules vivantes et prévient une assimilation des produits de la réaction enzymatique durant l'incubation. Il libère aussi des enzymes intercellulaires et bloque les enzymes présents dans les cellules vivantes.

##### 2- Matériels

- Réactifs :
- NaOH 0,5 M → 20 g/l
- NaOH 1 M → 40 g/l

- HCl 0,1 N → 8,3 ml/l
- CaCl 0,5 M → 73,5 g/l
- THAM 0,1 M pH 12 → 12,2 g/l
- MUB Stock
- MUB PH 6
- PNG 0,377 g/50 ml de MUB pH 6
- Toluène
- PNG standard solution

MUB Stock = pour 1 litre à garder au réfrigérateur

- 2,1 g Tham
- 1,6 g Maleic acide
- 4,0 g Acide citrique
- 6,3 g Acide borique
- 448 ml de NaOH 1 N → ( 40 g/l)
- + H<sub>2</sub>O distillée pour avoir 1 litre

\* à garder au réfrigérateur

MUB pH 6: à garder au réfrigérateur

- 200 ml de MUB stock
- Ajuster le pH à 6 en utilisant le HCl 0,1 N
- Ramener le volume à 1 l avec de l'eau distillée à garder au réfrigérateur

Matériels

- Pipette 1000 µl et 5000 µl et cones correspondants.
- Entonnoirs à tuyau
- Bechers de 50 ml - 100 ml
- 1 balance de précision
- Erlens de 50 ml

- 1 incubateur
- 1 tamis de 2 mm
- 1 spectrophotomètre

### 3 - Méthodes

Le sol prélevé au champ doit être tamisé (2 mm) puis séché à l'air au moins pendant 48 heures. On pèsera  $1 \text{ g} \pm 0,005 \text{ g}$  qu'on mettra dans des erlens de 50 ml. Pour chaque échantillon, on utilise 2 à 3 répétitions et un témoin standard.

- 4 ml de MUB pH6
- 1 ml de PNG sauf les témoins
- 0,25 ml de toluène
- Agiter un peu à la main le portoir contenant les erlens
- Incuber à  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  pendant 1 heure

Après incubation

On ajoute dans les erlens :

- 1 ml de CaCl
  - 4 ml de Tham
  - 1 ml de PNG seul dans contrôle
  - Agiter le plateau pour mélanger les solutions
- On passe après au filtre (Whatman 2)

**NB** : Quand on met le toluène et au moment du filtrage, il faut aller à la hotte.

Les échantillons seront passés après au spectrophotomètre.

#### Réglage de l'appareil

- Allumer l'appareil
- Afficher 420 puis Entrer
- Pour avoir zéro sur ABS, appuyer sur 100% T, OABS
- Si le zéro n'est pas obtenu, passer  $\text{H}_2\text{O}$  distillée.

Il est conseillé d'allumer l'incubateur et le spectrophotomètre 1h avant leur utilisation.

Calcul :

$$\mu\text{g.p-Nitrophénol/g Soil} = \frac{(\text{sample abs}) \text{ dilution rate}}{(\text{Slope} \times \text{Sample weight})} - \frac{(\text{control abs} \times \text{dilution rate})}{\text{Slope} \times \text{control weigh}}$$

- Slope =  $\text{abs}/\mu\text{g p-Nitrophénol}$

## Préparation de la solution standard

|    | $\beta$ -galactosidase | Standards |        | Solution |         |        |
|----|------------------------|-----------|--------|----------|---------|--------|
|    | $\mu$ mol/ml<br>sta    | ml sTd    | ml MUB | ml CaCl  | ml Tham | ml Tol |
| 1  | 0                      | 0.0       | 5.0    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 2  | 0.1                    | 0.1       | 4.9    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 3  | 0.2                    | 0.2       | 4.8    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 4  | 0.3                    | 0.3       | 4.7    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 5  | 0.4                    | 0.4       | 4.6    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 6  | 0.5                    | 0.5       | 4.5    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 7  | 0.6                    | 0.6       | 4.4    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 8  | 0.7                    | 0.7       | 4.3    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 9  | 0.8                    | 0.8       | 4.2    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 10 | 0.9                    | 0.9       | 4.1    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |
| 11 | 1.0                    | 1.0       | 4.0    | 1.0      | 4.0     | 0.25   |

p- nitrophénol standard solution,  
il faut 1 ml  $\rightarrow$  9 ml de MUB pH 6

Somment faire une dilution ?

On prend 1 ml de la solution de l'échantillon et on ajoute 2 ml de Tham pH 10. Dans ce cas, dilution rate = 2. Il faut diluer quand l'ABS > 1.3.

ABS die la solution St

1) 0.001  
0.005  
0.008  
0.004

2) 0.144  
0.149  
0.148  
0.152

3) 0.287  
0.288  
0.218  
0.246

4) 0.481  
0.517  
0.521  
0.480

5) 0.622  
0.606  
0.630  
0.605

6) 0.791  
0.765  
0.784  
0.670

7) 0.197  
0.8200

8) 0.884  
0.890

9) 1.091  
1.029

10) 1.157  
1.160

II) 1.275  
1.276

## ~Conclusion:

Je dirai que le stage a été très bénéfique pour l'ISRA et pour moi. J'ai accédé à de nouvelles techniques d'analyses nécessaires pour la recherche concernant l'évolution du statut organique des sols. Mes compétences en matière de mesure au laboratoire de la biomasse microbienne C, de la matière organique particulaire et de l'activité des enzymes se sont améliorées.

Je trouve que ces genres de stage sont très utiles pour les techniciens car la recherche demande une formation continue. La durée du stage est cependant un peu courte pour exécuter l'ensemble du programme

Je souhaiterais très vivement dans l'avenir retourner dans les laboratoires de M. DICK OSU pour poursuivre cette formation très utile pour moi et nécessaire pour les techniciens d'un laboratoire de biochimie des sols.

| crop |    |   | Depth (cm) | wt (mg) | TOC  | ppm    |            |
|------|----|---|------------|---------|------|--------|------------|
| 1 A  | PR | 0 | 1          | 0-10    | 2,3  | 1560   | 27130,4348 |
| 2A   | PR | 0 | 1          | 10-20   | 3,86 | 2062   | 21367,8756 |
| 3A   | PR | 0 | 1          | 20-40   | 6,2  | 2439   | 15735,4839 |
| 4A   | PR | 0 | 1          | 40-80   | 5,62 | 1214   | 8640,5694  |
| 5 A  | PR | 0 | 2          | 0-10    | 1,49 | 956    | 25664,4295 |
| 6A   | PR | 0 | 2          | 10-20   | 2,21 | 1345   | 24343,8914 |
| 7A   | PR | 0 | 2          | 20-40   | 5,05 | 2777   | 21996,0396 |
| 8A   | PR | 0 | 2          | 40-80   | 3,18 | 875,3  | 11010,0629 |
| 9 A  | PR | 0 | 3          | 0-10    | 2,33 | 1698   | 29150,2146 |
| 10 A | PR | 0 | 3          | 10-20   | 2,77 | 1296   | 18714,8014 |
| 11 A | PR | 0 | 3          | 20-40   | 3,62 | 1159   | 12806,6298 |
| 12 A | PR | 0 | 3          | 40-80   | 4,14 | 980,2  | 9470,5314  |
| 13 A | PR | 1 | 1          | 0-10    | 3,62 | 2903   | 32077,3481 |
| 14A  | PR | 1 | 1          | 10-20   | 2,17 | 1010   | 18617,5115 |
| 15 A | PR | 1 | 1          | 20-40   | 2,3  | 1079   | 18765,2174 |
| 16 A | PR | 1 | 1          | 40-80   | 5,05 | 1500   | 11881,1881 |
| 17A  | PR | 1 | 2          | 0-10    | 3,74 | 2283   | 24417,1123 |
| 18A  | PR | 1 | 2          | 10-20   | 4,23 | 1764   | 16680,8511 |
| 19 A | PR | 1 | 3          | 0-10    | 4,48 | 2445   | 21830,3571 |
| 20A  | PR | 1 | 3          | 10-20   | 2,77 | 891,7  | 12876,5343 |
| 21A  | PR | 1 | 3          | 20-40   | 5,18 | 1594   | 12308,8803 |
| 22A  | PR | 1 | 3          | 40-80   | 3,11 | 1128   | 14508,0386 |
| 23A  | PR | 1 | 4          | 0-10    | 1,93 | 1167   | 24186,5285 |
| 24A  | PR | 1 | 4          | 10-20   | 2,43 | 587,1  | 9664,19753 |
| 25A  | PR | 1 | 5          | 0-10    | 2,28 | 1224   | 21473,6842 |
| 26A  | PR | 1 | 5          | 10-20   | 3    | 1197,5 | 15966,6667 |
| 27A  | PR | 2 | 1          | 0-10    | 2,63 | 1438   | 21870,7224 |
| 28A  | PR | 2 | 1          | 10-20   | 2,17 | 618    | 11391,7051 |
| 29A  | PR | 2 | 1          | 20-40   | 2,09 | 629,2  | 12042,1053 |
| 30A  | PR | 2 | 1          | 40-80   | 1,54 | 255,4  | 6633,76623 |
| 31 A | PR | 2 | 2          | 0-10    | 1,78 | 874,5  | 19651,6854 |
| 32A  | PR | 2 | 2          | 10-20   | 2,39 | 751    | 12569,0377 |
| 33A  | PR | 2 | 3          | 0-10    | 2,87 | 1372   | 19121,9512 |
| 34A  | PR | 2 | 3          | 10-20   | 4,51 | 1578   | 13995,5654 |
| 35 A | PR | 2 | 3          | 20-40   | 1,97 | 534,2  | 10846,7005 |
| 36A  | PR | 2 | 3          | 40-80   | 1,35 | 304,4  | 9019,25926 |
| 37A  | PR | 2 | 4          | 0-10    | 2,99 | 1522   | 20361,204  |
| 38A  | PR | 2 | 4          | 10-20   | 2,96 | 1238   | 16729,7297 |
| 39A  | PR | 2 | 5          | 0-10    | 3    | 1691   | 22546,6667 |
| 40A  | PR | 2 | 5          | 10-20   | 2,99 | 1100   | 14715,7191 |
| 41 A | PR | 3 | 1          | 0-10    | 1,49 | 897,6  | 24096,6443 |
| 42A  | PR | 3 | 1          | 10-20   | 1,67 | 777,8  | 18629,9401 |
| 43A  | PR | 3 | 1          | 20-40   | 2,65 | 788,5  | 11901,8868 |
| 44 A | PR | 3 | 1          | 40-80   | 1,41 | 284,7  | 8076,59574 |
| 45 A | PR | 3 | 2          | 0-10    | 3,03 | 1641   | 21663,3663 |
| 46A  | PR | 3 | 2          | 10-20   | 1,74 | 647,9  | 14894,2529 |
| 47A  | PR | 3 | 3          | 0-10    | 2,78 | 1844   | 26532,3741 |
| 48A  | PR | 3 | 3          | 10-20   | 2,69 | 1023   | 15211,8959 |
| 49A  | PR | 3 | 3          | 20-40   | 2,51 | 715,8  | 11407,1713 |
| 50 A | PR | 3 | 3          | 40-80   | 3,56 | 706,9  | 7942,69663 |
| 51 A | PR | 3 | 4          | 0-10    | 3,7  | 2177   | 23535,1351 |
| 52A  | PR | 3 | 4          | 10-20   | 3,81 | 1418   | 14887,1391 |

|         |    |   |         |      |       |            |
|---------|----|---|---------|------|-------|------------|
| 53 A    | PR | 3 | 5 0-10  | 4,87 | 2805  | 23039,0144 |
| 54A     | PR | 3 | 5 10-20 | 4,93 | 1939  | 15732,2515 |
| 55 M    | PR | 0 | 1 0-10  | 2,91 | 2152  | 29580,756  |
| 56 M    | PR | 0 | 1 10-20 | 4,21 | 2869  | 27258,9074 |
| 57 M    | PR | 0 | 1 20-40 | 4,09 | 2212  | 21633,2518 |
| 58 M    | PR | 0 | 1 40-80 | 2,36 | 779,3 | 13208,4746 |
| 59 M    | PR | 0 | 2 0-10  | 3,91 | 2298  | 23508,9514 |
| 60M     | PR | 0 | 2 10-20 | 2,3  | 983,7 | 17107,8261 |
| 61 M    | PR | 0 | 2 20-40 | 2    | 687   | 13740      |
| 62 M    | PR | 0 | 2 40-80 | 2,52 | 669   | 10619,0476 |
| 63 M    | PR | 0 | 3 0-10  | 2,91 | 1933  | 26570,4467 |
| 64 M    | PR | 0 | 3 10-20 | 2,53 | 1381  | 21833,9921 |
| 65 M    | PR | 0 | 3 20-40 | 3,41 | 1656  | 19425,2199 |
| 66 M    | PR | 0 | 3 40-80 | 2,66 | 775,8 | 11666,1654 |
| 67 M    | PR | 1 | 1 0-10  | 2,56 | 1167  | 18234,375  |
| 68 M    | PR | 1 | 1 10-20 | 1,98 | 705   | 14242,4242 |
| 69 M    | PR | 1 | 1 20-40 | 2,76 | 726,4 | 10527,5362 |
| 70 M    | PR | 1 | 1 40-80 | 2,8  | 583,2 | 8331,42857 |
| 71 M    | PR | 1 | 2 0-10  | 3,55 | 1854  | 20890,1408 |
| 72 M    | PR | 1 | 2 10-20 | 3,68 | 1472  | 16000      |
| 73 M    | PR | 1 | 3 0-10  | 3,04 | 1713  | 22539,4737 |
| 74 M    | PR | 1 | 3 10-20 | 2,08 | 727,1 | 13982,6923 |
| 75 M    | PR | 1 | 3 20-40 | 2,68 | 747,6 | 11 158,209 |
| 76 M    | PR | 1 | 3 40-80 | 3,03 | 569,4 | 7516,83168 |
| 77 M    | PR | 1 | 4 0-10  | 6,19 | 2997  | 19366,7205 |
| 78 M    | PR | 1 | 4 10-20 | 3,16 | 918,5 | 11626,5823 |
| 79 M    | PR | 1 | 5 0-10  | 3,99 | 2127  | 21323,3083 |
| 80 M    | PR | 1 | 5 10-20 | 2,68 | 968,8 | 14459,7015 |
| 81 M    | PR | 2 | 1 0-10  | 2,92 | 2133  | 29219,1781 |
| 82 M    | PR | 2 | 1 10-20 | 2,34 | 860,8 | 14714,5299 |
| 83 M    | PR | 2 | 1 20-40 | 2,56 | 701,3 | 10957,8125 |
| 84 M    | PR | 2 | 1 40-80 | 2,58 | 540,7 | 8382,94574 |
| 85 M    | PR | 2 | 2 0-10  | 1,98 | 1140  | 23030,303  |
| 86 M    | PR | 2 | 2 10-20 | 2,63 | 1026  | 15604,5627 |
| 87 M    | PR | 2 | 3 0-10  | 1,76 | 953,3 | 21665,9091 |
| 88 M    | PR | 2 | 3 10-20 | 2,67 | 912,2 | 13665,9176 |
| 89 M    | PR | 2 | 3 20-40 | 3,46 | 831,5 | 9612,71676 |
| 90 M    | PR | 2 | 3 40-80 | 2,37 | 496,6 | 8381,4346  |
| 91 M    | PR | 2 | 4 0-10  | 3,84 | 2105  | 21927,0833 |
| 92 M    | PR | 2 | 4 10-20 | 2,69 | 1013  | 15063,197  |
| 93 M    | PR | 2 | 5 0-10  | 2,83 | 1589  | 22459,364  |
| 94 M    | PR | 2 | 5 10-20 | 3,22 | 999   | 12409,9379 |
| 95 M    | PR | 3 | 1 0-10  | 3,06 | 2151  | 28117,6471 |
| 96M     | PR | 3 | 1 10-20 | 3,08 | 1318  | 17116,8831 |
| 97 M    | PR | 3 | 1 20-40 | 2,93 | 814,8 | 11123,5495 |
| 98M     | PR | 3 | 1 40-80 | 2,7  | 583,5 | 8644,44444 |
| 99 M    | PR | 3 | 2 0-10  | 3,02 | 1916  | 25377,4834 |
| ### M P | R  | 3 | 2 10-20 | 4,5  | 1651  | 14675,5556 |
| 101 M   | PR | 3 | 3 0-10  | 3,63 | 1951  | 21498,6226 |
| IQ2 M   | PR | 3 | 3 10-20 | 3,68 | 1288  | 14000      |

103n PR 3 3 20-40 2,6 713,5 10377

|     |   |    |   |   |       |      |       |       |
|-----|---|----|---|---|-------|------|-------|-------|
| 104 | M | PR | 3 | 3 | 40-80 | 3.47 | 707.9 | 8160  |
| 105 | M | PR | 3 | 4 | O-10  | 2.61 | 1483  | 22728 |
| 106 | M | PR | 3 | 4 | 10-20 | 3.95 | 1385  | 14025 |
| 107 | M | PR | 3 | 5 | O-10  | 3.81 | 1849  | 19412 |
| 108 | M | PR | 3 | 5 | 10-20 | 2.57 | 806.6 | 12554 |



| sample | traitements | net W<br>mg | toc  | ppm            |
|--------|-------------|-------------|------|----------------|
| 1 M    | CPI - 1     | 0-10        | 2.35 | 1193 20306.38  |
| 2 M    | CPI - 1     | 10-20       | 2.62 | 972.7 14850.38 |
| 3 M    | CPI - 1     | 20-40       | 2.23 | 599.4 10751.56 |
| 4 M    | CP1-1       | 40-80       | 1.6  | 307.5 7687.5   |
| 5 M    | CPI - 2     | 0-10        | 2.48 | 1420 22902.22  |
| 6 M    | CP1-2       | 10-20       | 3.36 | 1149 13678.57  |
| 7 M    | CP1-3       | 0-10        | 2.3  | 1283 22313.04  |
| 8 M    | CPI - 3     | 10-20       | 2.04 | 947.5 18578.43 |
| 9 M    | CPI - 3     | 20-40       | 2.27 | 638.9 11258.14 |
| 10 M   | CPI - 3     | 40-80       | 1.41 | 217.1 6158.86  |
| 11 M   | CPI - 4     | 0-10        | 2.3  | 1358 23617.39  |
| 12 M   | CP1-4       | 10-20       | 1.87 | 742.6 15864.49 |
| 13 M   | CPI - 5     | 0-10        | 3.73 | 2038 21855.23  |
| 14 M   | CPI - 5     | 10-20       | 4.92 | 1751 14235.77  |
| 15 M   | CP2-1       | 0-10        | 3.21 | 1724 21482.87  |
| 16 M   | CP2-1       | 10-20       | 3.2  | 1345 16812.5   |
| 17 M   | CP2-1       | 20-40       | 4.19 | 1074 10252.98  |
| 18 M   | CP2-1       | 40-80       | 3.61 | 663.5 7351.8   |
| 19 M   | CP2-2       | 0-10        | 2.81 | 1499 21338.07  |
| 20 M   | CP2-2       | 10-20       | 3.49 | 1195 13696.27  |
| 21 M   | CP2-3       | 0-10        | 3.66 | 2021 22087.43  |
| 22 M   | CP2-3       | 10-20       | 2.66 | 1003 15082.71  |
| 23 M   | CP2-3       | 20-40       | 3.29 | 902.4 10971.43 |
| 24 M   | CP2-3       | 40-80       | 3.9  | 558.8 5731.28  |
| 25 M   | CP2-4       | 0-10        | 4.53 | 1936 17094.92  |
| 26 M   | CP2-4       | 10-20       | 2.22 | 809.3 14581.98 |
| 27 M   | CP2-5       | 0-10        | 2.44 | 1245 20409.84  |
| 28 M   | CP2-5       | 10-20       | 4.91 | 1335 10875.76  |
| 29 M   | CP3-1       | 0-10        | 3    | 1979 26386.67  |
| 30 M   | CP3-1       | 10-20       | 3.18 | 1256 15798.74  |
| 31 M   | CP3-1       | 20-40       | 3.21 | 878 10940.81   |
| 32 M   | CP3-1       | 40-80       | 3.98 | 767.5 7713.57  |
| 33 M   | CP3-2       | 0-10        | 4.81 | 2483 20648.64  |
| 34 M   | CP3-2       | 10-20       | 3.4  | 1086 12776.47  |
| 35 M   | CP3-3       | 0-10        | 4.2  | 1855 17666.67  |
| 36 M   | CP3-3       | 10-20       | 2.3  | 619.2 10768.69 |
| 37 M   | CP3-3       | 20-40       | 3.68 | 829.5 9016.3   |
| 38 M   | CP3-3       | 40-80       | 3.8  | 626.7 6596.84  |
| 39 M   | CP3-4       | 0-10        | 3.56 | 1598 17955.06  |
| 40 M   | CP3-4       | 10-20       | 3.76 | 1152 12253.32  |
| 41 M   | CP3-5       | 0-10        | 4.95 | 2377 19208.08  |
| 42 M   | CP3-5       | 10-20       | 4.92 | 1603 13032.52  |

|      |        |        |      |             |          |
|------|--------|--------|------|-------------|----------|
| 43 A | CPI -1 | 0-1 0  | 2.88 | <b>2015</b> | 27986.11 |
| 44 A | CPI -1 | 1 0-20 | 2.4  | 1130        | 18833.33 |
| 45 A | CP1-1  | 20-40  | 3.03 | 1062        | 14019.8  |
| 46 A | CPI -1 | 40-80  | 3.03 | 673.3       | 8888.45  |
| 47 A | CPI -2 | 0-10   | 4.52 | 2764        | 24460.38 |
| 48 A | CPI -2 | 1 0-20 | 4.39 | 1702        | 15507.97 |
| 49 A | CPI -3 | 0-10   | 3.48 | 1666        | 19149.42 |
| 50 A | CPI -3 | 1 0-20 | 3.29 | 1225        | 14893.62 |
| 51 A | CPI -3 | 20-40  | 4.8  | 1361        | 11341.67 |
| 52 A | CPI -3 | 40-80  | 3.31 | 563.7       | 7053.78  |
| 53 A | CPI -4 | 0-10   | 3.01 | 1501        | 19946.84 |
| 54 A | CPI -4 | 1 0-20 | 4.7  | 1797        | 15293.62 |
| 55 A | CP1-5  | 0-10   | 1.56 | 829.8       | 21276.92 |
| 56 A | CPI -5 | 1 0-20 | 2.56 | 1050        | 16406.25 |
| 57 A | CP2-1  | 0-10   | 3.24 | 2052        | 25333.33 |
| 58 A | CP2-1  | 1 0-20 | 2.86 | 1085        | 15174.83 |
| 59 A | CP2-1  | 20-40  | 3.25 | 1041        | 12812.31 |
| 60 A | CP2-1  | 40-80  | 2.67 | 547         | 8194.76  |
| 61 A | CP2-2  | 0-1 0  | 3.22 | 1889        | 23465.83 |
| 62 A | CP2-2  | 1 0-20 | 4.24 | 1991        | 18783.02 |
| 63 A | CP2-3  | 0-10   | 3.29 | 1711        | 20802.43 |
| 64 A | CP2-3  | 1 0-20 | 3.38 | 1353        | 16011.83 |
| 65 A | CP2-3  | 20-40  | 2.39 | 716.3       | 11988.28 |
| 66 A | CP2-3  | 40-80  | 2.41 | 500         | 8298.75  |
| 67 A | CP2-4  | 0-1 0  | 4.25 | 2082        | 19595.29 |
| 68 A | CP2-4  | 1 0-20 | 2.93 | 1099        | 15003.41 |
| 69 A | CP2-5  | 0-1 0  | 3.44 | 1872        | 21767.44 |
| 70 A | CP2-5  | 1 0-20 | 5.45 | 1987        | 14583.48 |
| 71 A | CP3-1  | 0-1 0  | 3.22 | 2132        | 26472.02 |
| 72 A | CP3-1  | 1 0-20 | 4.74 | 1673        | 14118.14 |
| 73 A | CP3-1  | 20-40  | 2.67 | 698.4       | 10462.92 |
| 74 A | CP3-1  | 40-80  | 2.19 | 332.9       | 6080.36  |
| 75 A | CP3-2  | 0-10   | 2.51 | 1380        | 21992.03 |
| 76 A | CP3-2  | 1 0-20 | 1.57 | 609.8       | 15536.31 |
| 77 A | CP3-3  | 0-10   | 1.88 | 914.7       | 19461.7  |
| 78 A | CP3-3  | 1 0-20 | 2.75 | <b>1085</b> | 15781.82 |
| 79 A | CP3-3  | 20-40  | 1.93 | 694         | 14383.41 |
| 80 A | CP3-3  | 40-80  | 2.5  | 548         | 8768     |
| 81 A | CP3-4  | 0-10   | 3.34 | 1694        | 20287.42 |
| 82 A | CP3-4  | 1 0-20 | 2.9  | 1200        | 16551.72 |
| 83 A | CP3-5  | 0-1 0  | 1.85 | 972.7       | 21031.35 |
| 84 A | CP3-5  | 1 0-20 | 2    | 768.46      | 15369.2  |

# Standard curve $\beta$ -glucosidase activity

| $\mu\text{mol/p-nitrophenol}$ | $\mu\text{g p-nitrophenol}$ | absorbance | $\mu\text{g p-nitrophenol}$ | Mean/absorbance |
|-------------------------------|-----------------------------|------------|-----------------------------|-----------------|
| 0                             | 0                           | 0.006      | 0                           | 0.005           |
| 0                             | 0                           | 0.004      | 13.911                      | 0.141           |
| 0.1                           | 13.911                      | 0.139      | 27.822                      | 0.2635          |
| 0.1                           | 13.911                      | 0.143      | 41.733                      | 0.4165          |
| 0.2                           | 27.822                      | 0.26       | 55.644                      | 0.5265          |
| 0.2                           | 27.822                      | 0.267      | 69.555                      | 0.661           |
| 0.3                           | 41.733                      | 0.41       | 83.466                      | 0.8085          |
| 0.3                           | 41.733                      | 0.423      | 97.377                      | 0.887           |
| 0.4                           | 55.644                      | 0.528      | 111.288                     | 1.055           |
| 0.4                           | 55.644                      | 0.525      | 125.199                     | 1.1585          |
| 0.5                           | 69.555                      | 0.647      | 139.11                      | 1.2755          |
| 0.5                           | 69.555                      | 0.675      |                             |                 |
| 0.6                           | 83.466                      | 0.797      |                             |                 |
| 0.6                           | 83.466                      | 0.82       |                             |                 |
| 0.7                           | 97.377                      | 0.884      |                             |                 |
| 0.7                           | 97.377                      | 0.89       |                             |                 |
| 0.8                           | 111.288                     | 1.091      |                             |                 |
| 0.8                           | 111.288                     | 1.019      |                             |                 |
| 0.9                           | 125.199                     | 1.157      |                             |                 |
| 0.9                           | 125.199                     | 1.16       |                             |                 |
| 1                             | 139.11                      | 1.275      |                             |                 |
| 1                             | 139.11                      | 1.276      |                             |                 |

## Regression Output:

|                     |          |
|---------------------|----------|
| Constant            | 0        |
| Std Err of Y Est    | 0.018216 |
| R Squared           | 0.998145 |
| No. of Observations | 11       |
| Degrees of Freedom  | 10       |
| X Coefficient(s)    | 0.009338 |
| Std Err of Coef.    | 6.67E-05 |

0.009338, slope

Pour convertir le  $\mu\text{mol/p-n}$  en  $\mu\text{g p-n}$ , on le multiplie par

139.11 (RM)

| name | Weight   |          |         | Absorbance |          |         | µg p-nitrophenol |          |          |          |
|------|----------|----------|---------|------------|----------|---------|------------------|----------|----------|----------|
|      | sample 1 | sample 2 | control | sample 1   | sample 2 | control | sample 1         | sample 2 | Average  |          |
| 1    | 0.997    | 1.005    |         | 1.005      | 0.204    | 0.203   | 0.056            | 15.88497 | 15.60399 | 15.74448 |
| 2    | 0.995    | 0.997    |         | 1.005      | 0.378    | 0.35    | 0.063            | 33.90282 | 30.81368 | 32.35825 |
| 3    | 0.999    | 0.997    |         | 0.995      | 0.202    | 0.17    | 0.043            | 17.07188 | 13.67815 | 15.37501 |
| 4    | 1.001    | 0.995    |         | 1.005      | 0.114    | 0.12    | 0.038            | 8.106245 | 8.825553 | 8.465899 |
| 5    | 0.997    | 1        |         | 1.003      | 0.77     | 0.78    | 0.08             | 74.11404 | 74.93682 | 74.52543 |
| 6    | 0.998    | 1.001    |         | 1.004      | 0.391    | 0.411   | 0.068            | 34.64463 | 36.65854 | 35.65158 |
| 7    | 0.995    | 0.999    |         | 0.995      | 0.27     | 0.275   | 0.057            | 22.98584 | 23.40547 | 23.19566 |
| 8    | 0.999    | 0.996    |         | 1          | 0.427    | 0.395   | 0.054            | 39.99009 | 36.68734 | 38.33871 |
| 9    | 0.998    | 0.995    |         | 1          | 1.027    | 1.055   | 0.12             | 97.35041 | 100.6962 | 99.02333 |
| 10   | 1        | 0.999    |         | 0.999      | 0.278    | 0.272   | 0.07             | 22.28207 | 21.66869 | 21.97538 |