



NF EN ISO 9001

RITMO Agroenvironnement
Z. A. BIOPÔLE
37 rue de Herrlisheim
CS 80023
68025 Colmar Cedex
Tel : 03 89 80 47 00 / Fax : 03 89 21 16 70



Impact agronomique et environnemental des déchets organiques apportés au sol

Développement d'une méthode de mesure de la croissance des bactéries nitrifiantes en microplaque

Auteur : *Alexandre GOETZ*

Encadrant : *Najat NASSR*

Résumé : L'objectif de cette étude est de mettre au point une méthode de mesure des communautés bactériennes nitrifiantes en microplaque qui soit à la fois pertinente, reproductible et utilisable en routine. Le sol utilisé pour les essais est un sol limoneux argileux qui a été sélectionné eu égard de sa faible teneur en carbone organique et en argile ainsi que sa forte activité nitrifiante. De nombreux essais ont été menés dans le but d'améliorer la mesure de croissance des communautés nitritantes et nitratantes du sol inoculés dans des microplaques contenant le substrat azoté adéquat (NaNO_2 pour les nitratants, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ pour les nitritants). L'incubation des microplaques est effectuée dans des conditions optimales de croissance des nitrifiants (pH, T° , obscurité), pendant une durée totale de trois semaines au cours desquelles sont réalisées des mesures de DO (Densité Optique) à 620nm et ceci à chaque temps d'incubation prédéfini.

Suite aux résultats obtenus, il semble que la mesure de $\text{DO}_{620\text{nm}}$ ne s'avère pas très spécifique pour estimer la croissance des nitritants et nitratants en microplaque. Des observations au microscope des suspensions incubées en microplaque montre la formation d'agrégats bactériens au cours de l'incubation. Ces agrégats, qui ne s'observent pas sur une suspension de sol avant inoculation en microplaque, induisent une sous estimation de la densité des populations bactériennes par mesure de $\text{DO}_{620\text{nm}}$. L'utilisation du Tween 20 (50%) comme produit dispersant les suspensions dans les puits n'a pas permis d'améliorer les mesures. De plus, une croissance est observée dans les puits témoins (contenant le milieu nutritif sans substrat azoté) qui ne peut être attribuée aux nitrifiants. Ceci est probablement lié au fait que lors de l'inoculation en microplaque de la suspension de sol, du carbone soluble soit ajouté aux puits, constituant un substrat de croissance pour les bactéries non nitrifiantes.

L'utilisation de tétrazolium violet comme indicateur évaluant la croissance des bactéries nitrifiantes via la mesure de l'activité respiratoire a permis de s'affranchir du problème d'agrégats bactériens formés dans les microplaques.

