



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



Etude de la diversité fonctionnelle d'une activité bactérienne associée au cycle de l'azote

Auteur : Flavien DUMONT

Encadrant : Najat NASSR

Résumé : L'activité nitrifiante est une composante majeure du cycle bio-géochimique des sols car elle a un rôle significatif dans la biodisponibilité de l'azote. Elle est réalisée par deux types de bactéries, les AOB (*Ammonia Oxidizing Bacteria*) et les NOB (*Nitrite Oxidizing Bacteria*). Cependant l'ajout d'intrant à un sol peut avoir un effet sur cette activité ou sur la diversité génomique de ses populations. Cette étude a pour but de mettre en lien cette fonction biologique et l'évolution des AOB après ajout d'un produit au sol et si possible, proposer un test d'évaluation de l'impact de ce dernier.

L'impact d'un produit sur l'activité nitrifiante se fait par ajout de l'intrant au sol. Le NH_4 , NO_2 et NO_3 est mesuré par extraction au KCl aux jours J0, J7, J14 et J21. L'étude de la diversité génomique des AOB se fait en parallèle par amplification PCR des ADN extrait des sols (amorce spécifique des AOB) puis par migration sur gel TTGE.

Après avoir fait le choix d'un sol standardisé, un protocole efficace d'extraction de l'ADN a été développé. Celui-ci doit permettre l'amplification par PCR qui sera ensuite étudiée par TTGE. Un protocole de base a été fourni par RITMO mais celui-ci a dû subir des modifications. L'ajout d'une solution de floculation à base d'aluminium a été testé afin d'éliminer les acides humiques, cependant ceux-ci font précipiter l'ADN. Une étape de lavage avant la lyse a également été rajoutée afin d'éliminer l'excès d'aluminium et dissiper les effets négatifs de celui-ci. Enfin, le tampon de lyse contenant une concentration plus importante d'EDTA remplace celui d'origine afin de contrer une inhibition par les métaux.

L'impossibilité d'amplifier spécifiquement les AOB grâce aux différentes amorces est un obstacle majeur à notre étude. En attendant de résoudre ce problème, des bioessays ont été menés sur deux intrants : le cuivre à 200mg/kg et le zinc à 90, 180 et 360mg/kg. Seul ce dernier aux plus hautes concentrations a un impact sur l'activité nitrifiante. Ces échantillons susciteront de notre part un intérêt certain après résolution du problème PCR.

Mots-clés : Nitrification, Sol, PCR, TTGE, AOB, Aluminium, Zinc, Cuivre