

## Une pratique culturelle alternative (utilisation de plants à nodosités)

### Problématique :

- Comment améliorer les rendements en diminuant les engrais ?

### Objectifs :

Notions et contenus	Compétences exigibles
<b>La production végétale : utilisation de la productivité primaire</b>	
Le coût énergétique et les conséquences environnementales posent le problème des pratiques utilisées. Le choix des techniques culturales vise à concilier la nécessaire production et la gestion durable de l'environnement.	Faire preuve d'esprit critique en étudiant la conduite d'une culture quant à son impact sur l'environnement.

**Type d'activité :** documentaire

### Conditions de mise en œuvre :

- Document d'appel (annexe 1) : formulation du problème
- Exploitation de documents sur des cultures de légumineuses (luzerne....) sur sol pauvre en nitrates avec un rendement de 15 t de M.S/ha et chaque culture laisse un reliquat pour culture suivante de 50 unités N (annexe 2)
- Formulation d'une hypothèse sur la présence de structures racinaires permettant la production excédentaire de nitrates dans le milieu de culture des légumineuses
- Test de l'hypothèse : montrer que les racines de Légumineuses possèdent des structures que ne possèdent pas les autres racines
- Recherche de la structure :
  - observation de racines de trèfles mettant en évidence la présence de nodosités (annexe 3)
  - observation de racines d'un autre végétal montrant qu'il n'y a pas de nodosités
  - réalisation de préparations microscopiques : (annexe 4)
- Exploitation des informations :
  - réalisation d'un dessin
  - exploitation de données concernant le rôle des bactéries (annexe 4) et de résultats expérimentaux (annexe 5)
  - construction d'un schéma fonctionnel

### Modalités de travail, capacités pouvant être travaillées :

- Réaliser une préparation microscopique
- Observer à la loupe binoculaire et au microscope
- Communiquer par un dessin et un schéma fonctionnel

### Documents et matériel à disposition :

- Racines de Fabacées (trèfle, luzerne, haricot, genêt, glycine....) avec nodosités
- Lame de rasoir, aiguille lancéolée, microscope, lames, lamelles, aiguille lancéolée, rouge neutre, réactif iodo-ioduré qui colore l'amidon contenu dans les bactéries, bleu de méthylène qui colore les bactéries

### Communication des résultats :

- Le bilan met en évidence la production de nitrates utilisables par les végétaux à partir d'azote atmosphérique fixé par les bactéries donc l'enrichissement du sol en azote sans un apport d'engrais.

### Compétences pouvant être travaillées et / ou évaluées :

- Capacités pratiques
  - Observer le réel
  - Réaliser une préparation en vue de l'observation
- Capacités de communication
  - Traduire des informations par un schéma
- Attitudes
  - Développer son esprit critique
  - Sensibilisation à la santé, au développement durable, etc.

## **Annexe 1 : Résultats de mesure de concentration en nitrates dans le bassin Seine-Normandie (source agence de l'eau Seine Normandie)**

Les nitrates du Bassin Seine-Normandie sont alors principalement d'origine agricole. On constate depuis de nombreuses années une augmentation des teneurs en nitrates dans les eaux souterraines du Bassin Seine-Normandie. Or l'élimination naturelle de ces molécules est relativement faible. De fait, cette pollution diffuse peut atteindre des concentrations élevées et constitue un phénomène récurrent (pollution de fond). En 2001, sur 414 captages, un tiers des captages du réseau montrent une eau de composition naturelle ou proche de l'état naturel ( $< 20 \text{ mg/l}$ ), un tiers montre une dégradation significative ( $20 \text{ à } 40 \text{ mg/l}$ ) et l'autre tiers montre une dégradation importante ou très importante de l'eau ( $> 40 \text{ mg/l NO}_3$ ).

Les nappes les plus polluées par les nitrates ( $> 40 \text{ mg/l}$ ) en proportion de captages dégradés sont les calcaires de Brie, les calcaires de Champigny, le Lutétien-Yprésien, les calcaires de Beauce et sables de Fontainebleau, les nappes de la craie et du Jurassique.

On note donc une dégradation progressive de la qualité des eaux vis-à-vis des nitrates.

Les niveaux inférieurs à  $20 \text{ mg/l}$  diminuent d'année en année, alors que le niveau supérieur à  $40 \text{ mg/l}$  progresse.

Sur les 414 captages du RES	1998	1999	2000	2001
$< 20 \text{ mg/L NO}_3$	42%	40%	38%	35%
$20\text{-}40 \text{ mg/L NO}_3$	38%	37%	35%	35%
$> 40 \text{ mg/L NO}_3$	19%	23%	27%	30%

## Annexe 2 : L'intérêt de la culture des légumineuses

Depuis longtemps, les paysans connaissent tout l'intérêt des légumineuses. Parmi celles-ci (341 espèces en France et 7 000 dans le monde), ils en ont sélectionné quelques-unes et ce, dès les premiers jours de l'agriculture. D'abord pour se nourrir (lentille, pois sec, fève et pois chiche puis soja, haricot, lupin, arachide...). Ils ont ensuite sélectionné des plantes fourragères pour nourrir leur bétail (luzerne, trèfles, sainfoin, vesce, etc.). Plus récemment, ils ont adapté certaines variétés pour intensifier la production de ce même bétail (tourteau de soja, protéagineux...).

[www.inra.fr/dpenv/pointc44.htm](http://www.inra.fr/dpenv/pointc44.htm)

Lupin	<i>Lupinus luteus</i>
Minette, lupuline	<i>Medicago Lupulina</i>
Luzerne	<i>Medicago sativa</i>
Fenugrec	<i>Trigonella Foenum-graecum</i>
Trèfle blanc	<i>Trifolium repens</i>
Trèfle incarnat	<i>Trifolium incarnatum</i>
Trèfle violet	<i>Trifolium pratense</i>
Vesce	<i>Vicia sativa</i>
Fève	<i>Vicia Faba</i>
Pois	<i>Pisum arvense</i>
Gesse commune, pois carré	<i>Lathyrus sativus</i>
Sainfoin, esparcette	<i>Onobrychis sativa</i>

Tableau. Liste des espèces de légumineuses cultivées en France

L'intérêt des légumineuses est double. D'une part, elles possèdent un taux de protéines élevé (17 à 25%, voire 36% à 44% pour le soja et le lupin). Elles tiennent ainsi un rôle important dans notre alimentation humaine (dans beaucoup de pays, elles remplacent les protéines animales) et, aujourd'hui, dans celle de nos animaux, en particulier les porcs et les volailles. D'autre part, elles fixent l'azote de l'air et, à ce titre, sont très avantageuses pour le paysan qui a toujours dû courir après son azote (sauf depuis l'ère du pétrole dans les pays qui peuvent se le payer).

L'intérêt des légumineuses est connu depuis longue date :

- " La fève fertilise le sol où on l'a semée et elle tient lieu de fumier. Virgile conseille de laisser reposer les champs une année sur deux - si l'étendue du domaine le permet, c'est très utile sans aucun doute - ; si cela n'est pas possible, il faut semer de l'amidonnière dans le champ où on a récolté du lupin ou de la vesce ou de la fève ou tout autre plante qui engraisse la terre.
- Une culture de lupin engraisse les champs et les vignes, nous l'avons dit ; aussi, loin d'avoir besoin de fumier, il tient lieu du meilleur engrais. La vesce aussi engraisse les champs " (Pline l'Ancien).
- " Le lupin amende et améliore la terre, lui tient lieu d'engrais " (Ibn Al Awwam, 1200).
- " L'esparcette en terre maigre y laisse certaine vertu engraisseuse à l'utilité des blés qui ensuite y sont semés... Les fèves engraissent les terres où elles auront été semées et recueillies, y laissant quelque vertu agréable aux fromens qu'on y fait par après " (Olivier de Serres, 1605).

Ainsi les légumineuses occupaient en France plus de 6 millions d'hectares, soit 18% de la SAU en moyenne (avec un maximum atteint en 1958 avec 6,8 millions d'hectares). On les trouve dans les prairies naturelles (on estime qu'elles représentent en moyenne 20% de la production), dans les prairies dites " artificielles ", mais aussi en cultures dérobées, en mélange avec des céréales ou en cultures pures pour leurs graines. Les légumineuses ont contribué à la révolution agricole qui démarra vers 1800, en permettant l'abandon de la jachère, entraînant ainsi une forte croissance de la production agricole.

Les légumineuses sont devenues un élément clef de l'autonomie de l'agriculture.

Le développement de la chimie et l'accès à un pétrole (ou à un gaz) bon marché ont permis la fabrication en quantité d'azote chimique. Cet accès sans limite à cette ressource autrefois rare, allié à d'autres changements (mécanisation...), a permis une simplification des systèmes de production qui s'étaient mis en place depuis des siècles, dont la polyculture-élevage est l'exemple le plus connu mais pas le seul. Les animaux permettaient un transfert de fertilité (dont l'azote) des prairies de fauche essentiellement vers les cultures via le fumier. L'absence d'azote chimique obligeait l'agriculteur à un souci permanent d'économie (gestion fine des fumiers, récupération des jus, etc.). " Se soignera-t-on aussi de faire entrer dans le pré les égouts des étables et chemins ; à telle cause tenant ouvertes et curées leurs entrées, à ce que par la survenue des pluies, aucune graisse ne se perde " (Olivier de Serres). Il poussait aussi l'agriculteur à recycler tout ce qu'il pouvait trouver (boues urbaines, goémon...).

### **Annexe 3 : Protocole permettant d'observer des nodosités**

observation du système racinaire de Fabacée (trèfle, luzerne...) à l'œil nu ou à la loupe binoculaire qui montre la présence de nodosités :

- prélever un pied de trèfle avec la motte de terre qui entoure le système racinaire
- rincer sous l'eau courante et poser l'ensemble dans un cristalliseur contenant de l'eau



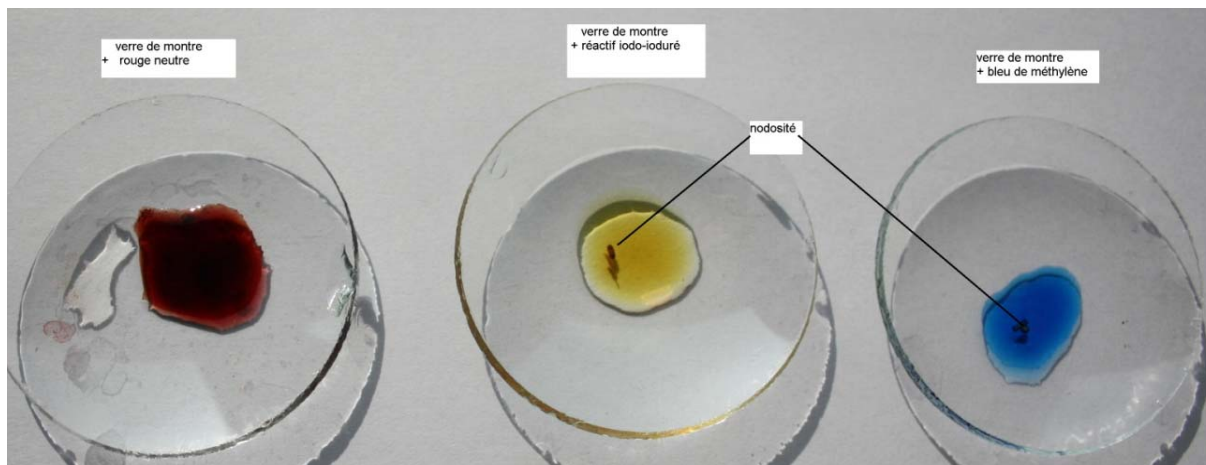
Photographie de plant de trèfle



Photographie du système racinaire

## Annexe 4 : Protocole de préparation microscopique de cellules de nodosité

- Sous la binoculaire, couper un fragment de racine contenant la nodosité et mettre celle-ci dans des verres de montre contenant respectivement :
  - du rouge neutre (colorant vital) ;
  - du bleu de méthylène ;
  - du réactif iodo-ioduré.



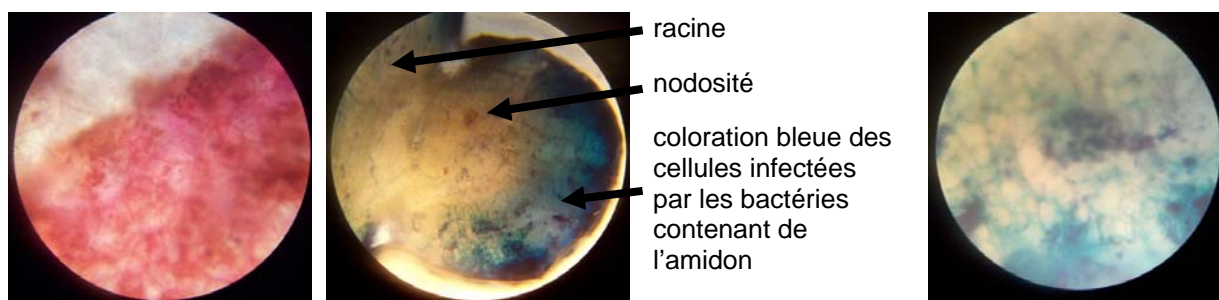
- Laisser reposer quelques instants.
- Prélever la nodosité, la poser sur une lame et le plat d'une aiguille lancéolée, faire un écrasement de la nodosité.
- Ajouter une goutte d'eau et recouvrir d'une lamelle.
- Observer au microscope et si nécessaire, procéder à un nouveau écrasement en appuyant délicatement sur la lamelle avec le manche de l'aiguille.

### Photographies réalisées avec un appareil photo au grossissement X 400

Coloration au rouge neutre

Coloration au Lugol

Coloration au bleu de méthylène



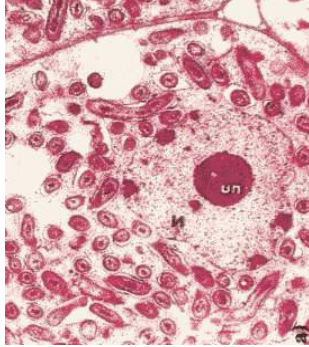
Au fort grossissement, il est possible de distinguer :

- de grosses cellules déformées, contenant une quantité importante de bactéries du genre *Rhizobium*. Avec le rouge neutre, on peut voir bouger certaines de ses bactéries (elles sont munies d'un cil non visible) ;
- des grains d'amidon dans les bactéries sont fortement colorés en bleu si l'on a utilisé le Lugol ;
- de grosses cellules contenant des bactéries colorées en bleu par le bleu de méthylène.



L'observation au microscope (X 1000) de ces bactéries montre 3 aspects morphologiques différents :

- des formes jeunes, allongées, très mobiles ;
- des formes adultes, ramifiées en Y, qui fixent activement l'azote de l'air et produisent des sécrétions azotées utilisées par la plante ;
- des formes vieilles, ovoïdes, progressivement digérées par la plante.



*Bactéries du genre Rhizobium vues au microscope optique*

(x 1 000) (© G. Dolisi)



*Bactérie du genre Rhizobium vue au microscope électronique*

Kingdom : Eubacteria  
Scientific Name : Rhizobium trifolii  
Image Courtesy of : Dazzo, Frank  
Image Width : 2 microns  
Image Technology : TEM

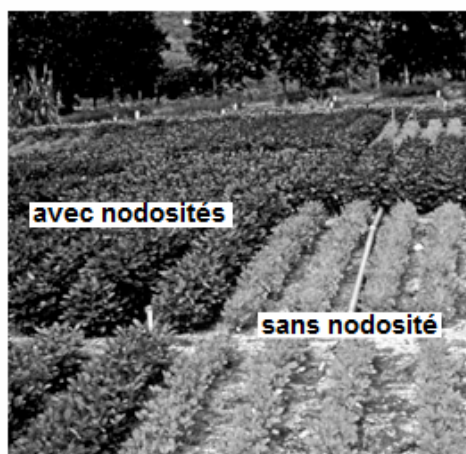
Une fois à l'intérieur des cellules de la nodosité, les bactéries du genre Rhizobium se différencient en bactéroïdes capables de réduire le diazote ( $N_2$ ) en ammonium ( $NH_4^+$ ).

La réaction est catalysée par une nitrogénase, enzyme produite uniquement par les bactéries et qui fonctionne en absence de  $O_2$ . La bactérie utilise de l'énergie et des nutriments fournis par la racine. Des nitrates  $NO_3^-$  peuvent être produits à partir de  $NH_4^+$  et sont utilisés par les cellules végétales.

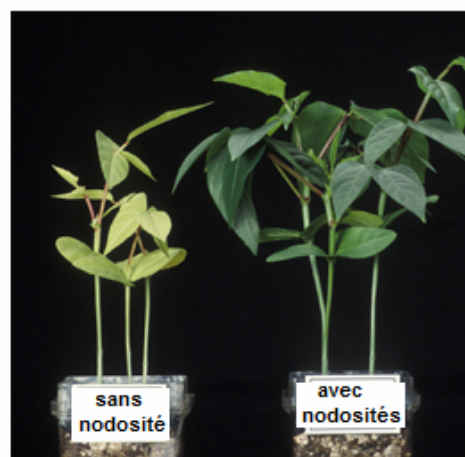
## Annexe 5 : Résultats expérimentaux

Plants de Vigna radiata :

en champs



en laboratoire



Source : [www.unige.ch/sciences/biologie/biveg/microbio/themes/XavierPerret.html](http://www.unige.ch/sciences/biologie/biveg/microbio/themes/XavierPerret.html)