

LES NODULES RACINAIRES

Les nodules, observables sur le système racinaire de certaines plantes sont définis comme le résultat d'une symbiose. En Nouvelle-Calédonie, des travaux récents ont permis de comprendre l'importance des symbioses dans le maquis minier. Les recherches sur les effets bénéfiques des microorganismes vis à vis des plantes ont montré que la relation entre symbiontes est si étroite qu'elle induit la transformation de certains organes comme les racines

Nodules dus à Rhizobium sur les racines de *Serianthes calycina*



Source « Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie L. L'HUILLIER »

Dans l'exemple étudié, on s'intéresse à l'association entre une légumineuse « *Serianthes* » de la même famille que le haricot ou le soja et une bactérie du genre *Rhizobium*.

Objectif du TP : Vous devez expliquer en quoi l'association avec une bactérie modifie phénotypiquement la plante et ce qu'elle apporte aux deux partenaires.

Matériel disponible :

Des plans de légumineuses avec et sans nodosités, microscope, lames, lamelles, colorant spécifique, caméra numérique-ordinateur et logiciel de traitement d'image, documents 1 et 2,

Document 1 : La symbiose :

En règle générale, la plante nourrit le microorganisme en éléments carbonés, notamment en sucres issus de la photosynthèse, et celui-ci, en retour fournit à la plante des éléments minéraux essentiels qu'il mobilise plus efficacement. Pour certaines plantes, le partenariat avec les bactéries est indispensable et leur développement est totalement compromis en leur absence. Cette dépendance peut également être fonction des contraintes environnementales et du stade de développement de la plante.

Document 2 : résultats expérimentaux sur la croissance du soja Japonais.

La croissance de plants de soja japonais « inoculés » ou non avec des bactéries du genre « *Rhizobium* » a été mesurée. La masse totale d'azote dans ces plants a également été déterminée. Les résultats figurent dans le tableau ci-dessous.

Plant	Longueur totale des pousses (en cm)	Masse de la plante sèche (en mg)	Masse totale d'azote (en mg)
Sans nodules	68.5	0.42	0.0034
Avec nodules	225.5	9.51	0.1012

Comparaison de la croissance après un an de culture d'un plant de soja japonais

D'après Nathan TS AVRIL 2012

Dans les nodosités, la bactérie produit une protéine (la nitrogénase) qui est capable de transformer l'azote atmosphérique en une forme utilisable par la plante. La nitrogénase n'est pas produite lorsque la bactérie vit seule dans le sol. Sans cette protéine, la plante ne prélève que l'azote présent dans le sol sous forme de nitrates.

Premier temps du TP :

Proposer une démarche d'investigation permettant d'identifier la présence de bactéries dans les nodosités au niveau d'une racine de légumineuse et de **mettre en évidence que la légumineuse en tire des bénéfices.**

Deuxième temps du TP :

1/ **Mettre en œuvre le protocole** d'observation macroscopique et microscopique fourni afin de repérer la présence de nodosités contenant des bactéries sur les racines d'une légumineuse.

2/ **Utilisez vos observations et les différents documents pour montrer que cette association correspond bien à une symbiose. Vous répondrez sous la forme d'un schéma de synthèse commenté.**

Document 3 : des bactéries fixatrices d'azote

Les bactéries fixatrices d'azote associent des bactéries capables de réduire l'azote de l'air en azote assimilable par la plante. Cette propriété extrêmement importante pour les écosystèmes est propre à un nombre limité d'espèces bactériennes et n'existe chez aucun autre groupe d'êtres vivants.

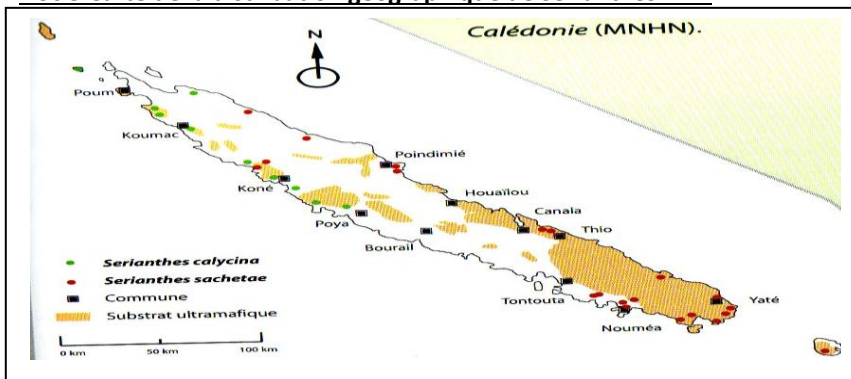
Les bactéries symbiotiques se développent dans le cytoplasme des cellules de nodules racinaires qui les nourrissent. Même si ce type de symbiose concerne un nombre limité de taxons végétaux, il revêt localement dans certains maquis miniers de Nouvelle-Calédonie, une importance particulière en permettant une croissance des végétaux sur des sols « toxiques » et pauvres.

En effet, le manque de phosphore et d'azote disponibles pour les plantes des sols dégradés et dans les matériaux terreux déplacés lors de l'exploitation du minerai de Nickel constituent des facteurs limitants majeurs pour l'installation d'une couverture végétale. Dans les sols miniers, l'activité microbienne est soumise à un seuil imposé par la libération de métaux potentiellement toxiques (Ni, Co, Mn, Mg).

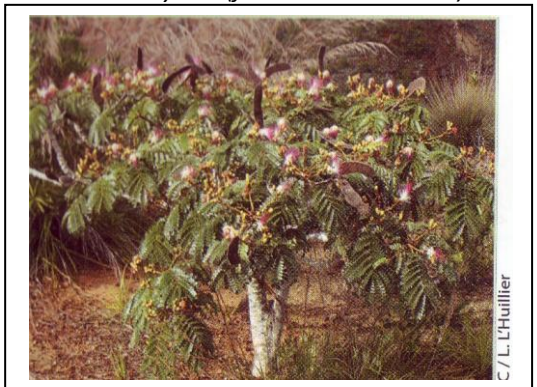
Document 4 : Importance de l'action des bactéries

La fixation biologique de l'azote peut être réalisée soit par les bactéries libres du sol soit par les bactéries en symbiose avec certains groupes de plantes au sein d'un organe spécialisé : le nodule fixateur d'azote. Ce processus peut induire une véritable augmentation de la teneur en azote d'un sol tout comme la photosynthèse enrichit celui-ci en matière organique. Ces bactéries, et en particulier le genre *Bardyrhizobium* tolèrent jusqu'à 15 mM de NiCl_2

Doc 5 Carte de la distribution géographique de *Serianthes*



Serianthes calycina (famille des Fabacées)



	Capacités évaluées	Barème	note
C1 A3	Proposition d'une démarche et mise en œuvre d'un protocole	5	
A1 B4	Utilisation du microscope (réglage, choix des objectifs) et Présentation d'une image numérique (qualité, légendes, titre)	6	
B5 C3	Traduire les données par un schéma et Appliquer une démarche explicative	9	

Protocole d'OBSERVATION D'UNE NODOSITÉ DE LÉGUMINEUSE

Matériel biologique :

- racines de légumineuse cultivée en pleine terre
- racines de la même espèce de légumineuse cultivée dans un sol stérilisé (témoin)

Matériel pour l'observation :

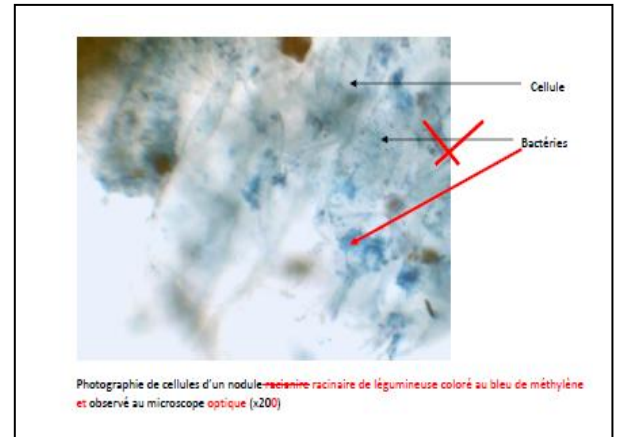
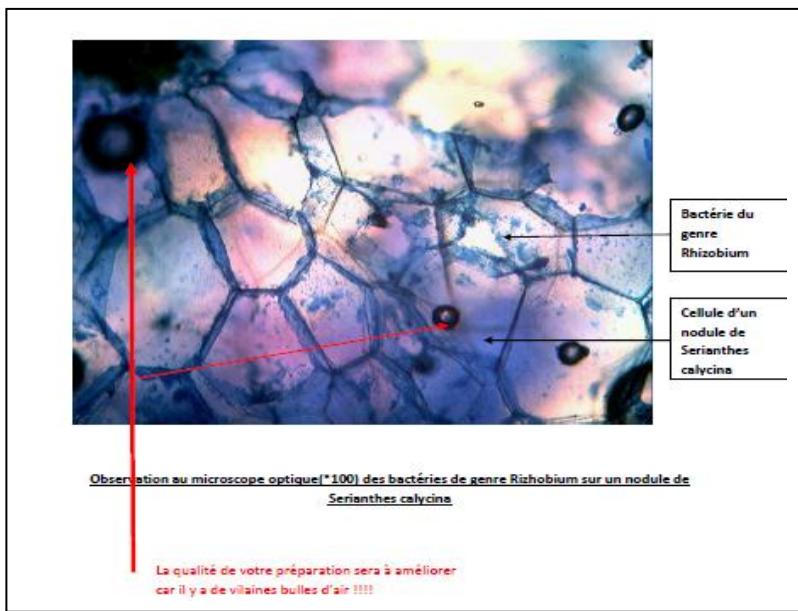
- 1 microscope optique+ 2 lames de verre+ 2 lamelles couvre objet +aiguille lancéolée+ pince
- colorant mettant en évidence la présence de bactéries (bleu de méthylène)
- du matériel d'acquisition et de numérisation d'images macroscopiques et microscopiques/ ordinateur et logiciel dédié

Protocole

- **Couper** un fragment très fin de racine à un niveau portant un renflement appelé **nodosité** et **couper** un fragment de la racine témoin.
- **Colorer** ces prélèvements (1 minute) en mettant les prélèvements dans un verre de montre contenant une goutte de bleu de méthylène.
- **Prélever** les échantillons, les poser sur deux lames et avec le plat d'une aiguille lancéolée, **faire** un écrasement (rincer l'aiguille lancéolée entre le premier et le deuxième écrasement !)
- **Ajouter** une goutte d'eau et recouvrir chaque lame d'une lamelle puis **observer chaque lame au microscope**.
- Si nécessaire, **procéder** à un nouvel écrasement en appuyant délicatement sur la lamelle.

Remarque :

Au fort grossissement, il est possible de distinguer de grosses cellules déformées, contenant une quantité importante de bactéries du genre *Rhizobium* avec le bleu de méthylène.



Partie 1 du TP : quelques possibilités de réponses des élèves

Les nodules fixateurs d'azote : exemple : Les plantes du maquis minier. Symbiose fréquente entre les racines d'une plante et un champignon ou une bactérie.

Comparaison macroscopique et microscopique de deux racines avec et sans nodosité (témoin) Présence de nombreuses bactéries dans la racine de la plante symbionte **et** absence de bactéries dans la racine sans nodosités (témoin)

Meilleur rendement pour la plante avec nodosités/bactéries, meilleure utilisation de l'azote.

Partie 2 du TP : si commentaire écrit

En comparant avec le témoin on voit que les nodosités sont responsables du meilleur rendement (bénéfice pour la légumineuse)

On en déduit que c'est la présence des bactéries du genre *Rhizobium* qui est à l'origine des nodosités (critique possible : on n'identifie pas réellement le genre de bactéries) et qui permet la modification du phénotype de la légumineuse.

Cette association entraîne donc des différences morphologiques et surtout physiologiques des deux partenaires : donc modifie leur phénotype. Les plantes sont capables d'exploiter l'azote de l'air et améliorent leur synthèse des protéines : elles ont une meilleure croissance ; alors que les bactéries (du genre *Rhizobium*) disposent d'un meilleur apport en sucre qui facilite leur prolifération et sont même parfois capables de synthétiser des protéines qu'elles ne fabriquent pas habituellement.

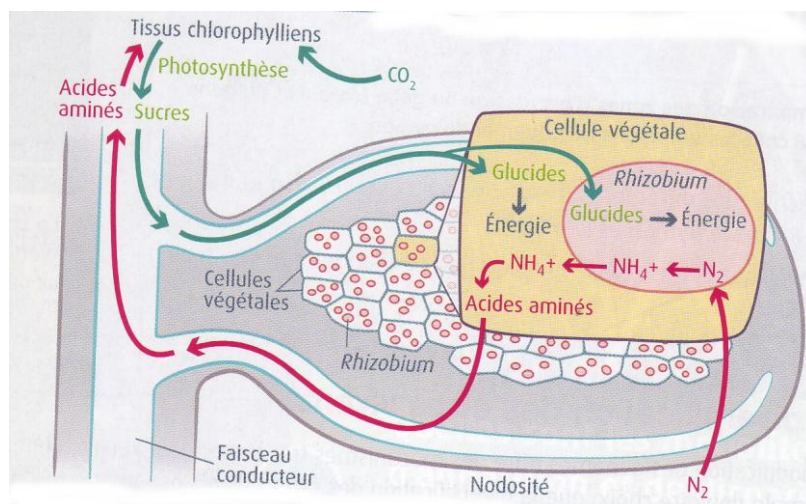


Schéma de la symbiose dans une nodosité

