

SESSION 2009

**CONCOURS EXTERNE
DE RECRUTEMENT DE PROFESSEURS CERTIFIÉS
ET CONCOURS D'ACCÈS À LA LISTE D'APTITUDE**

Section : SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

COMPOSITION SUR UN SUJET DE BIOLOGIE

Durée : 6 heures

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout dictionnaire et de tout matériel électronique est rigoureusement interdit.

Dans le cas où un(e) candidat(e) repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il (elle) le signale très lisiblement sur sa copie, propose la correction et poursuit l'épreuve en conséquence.

De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, il vous est demandé de la (ou les) mentionner explicitement.

NB : Hormis l'en-tête détachable, la copie que vous rendrez ne devra, conformément au principe d'anonymat, comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé comporte notamment la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de signer ou de l'identifier.

Remarques importantes

1. Le sujet comporte 4 parties, 8 documents et un tableau à rendre avec votre copie. Les différentes parties sont indépendantes, mais certaines hypothèses formulées en réponse à la question 6 pourront être reprises dans la question 10.
2. Certaines figures pourront être jointes à la copie si le candidat considère que des annotations en surcharge constituent des éléments appréciables de réponse aux questions ; il devra alors les coller sur la copie.
3. Une durée conseillée est indiquée pour chaque partie.
4. La qualité de la rédaction, de l'orthographe et des schémas qui accompagnent les réponses sera prise en compte dans la notation.
5. Il n'est pas demandé d'introduction ni de conclusion générales mais seulement de répondre aux questions posées dans l'énoncé.
6. Précisions de vocabulaire : le terme « Plantae » correspond à la lignée verte (selon Lecointre & Le Guyader, 2003) et comprend les Glaucocystophyta, les Rhodophyta et les Chlorobionta - cf. document 5).

Structure, fonctions et évolution des plastes chez les Eucaryotes

Partie I - Étude structurale de la cellule Eucaryote photosynthétique.

Durée conseillée 45 minutes

Question 1 :

- Légendez le document 1 sur le tableau I à rendre impérativement avec la copie.

Question 2 :

- En vous référant au document 1 et à vos connaissances, décrivez sous forme d'un tableau, les organites présents dans toutes les cellules eucaryotes photosynthétiques et précisez leurs fonctions dans la cellule.

Partie II - Fonctions du chloroplaste

Durée conseillée 1 heure 30

Question 3 :

Chez *Chlamydomonas sp.* (Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota), comme chez tous les Eucaryotes autotrophes pour le carbone, la nutrition est assurée en partie par la photosynthèse.

- Proposez de manière synthétique deux protocoles expérimentaux réalisables dans une salle de travaux pratiques permettant de mettre en évidence le rôle des chloroplastes dans la photosynthèse, d'une part dans les processus photochimiques, d'autre part dans les processus biochimiques d'assimilation du carbone.

Question 4 :

Les expériences de Calvin (1952), non décrites ici, ont permis de suivre le devenir du carbone fixé lors de la photosynthèse (document 2). Un dispositif permet de contrôler le temps de mise en contact d'une suspension de chlorelles avec du CO₂ radioactif (= ¹⁴CO₂). Les chlorelles (Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae) sont des algues unicellulaires proches de *Chlamydomonas*.

- Après avoir dégagé les informations pouvant être déduites des documents 2A à 2D, proposez un schéma de synthèse du fonctionnement d'un chloroplaste prenant en compte ces informations et vos connaissances.

Partie III - Diversité et origine des chloroplastes

Durée conseillée 1 heure

Question 5 :

La comparaison d'organismes photosynthétiques permet de formuler des hypothèses sur l'origine des plastes des cellules eucaryotes.

A - Légendez les documents 3A à 3D (directement sur le tableau I à rendre avec la copie)

B - En vous appuyant sur les documents 3 et 4 comparez les structures présentées.

Question 6 :

- En vous fondant uniquement sur les informations précédentes (ultrastructure des plastes et distribution des principaux pigments photosynthétiques) et en vous appuyant sur la phylogénie des Eucaryotes (document 5), quelles premières hypothèses pouvez-vous formuler sur l'origine des plastes dans les différentes lignées eucaryotes photosynthétiques?

Partie IV – Évolution de la cellule photosynthétique.

Durée conseillée 2 heures 30

La division des plastes est un mécanisme fondamental du développement et de la croissance des Eucaryotes photosynthétiques.

Les peptidoglycanes sont des macromolécules structurales que l'on trouve dans la paroi de toutes les Eubactéries. Ces molécules sont impliquées dans la division cellulaire : elles participent à la formation de la cloison cellulaire médiane qui isole les cellules filles au cours des divisions successives. Chez les bactéries, l'ampicilline est un antibiotique qui bloque la voie de synthèse des peptidoglycanes et empêche l'aboutissement de leur division.

Cyanophora paradoxa est un Glaucocystophyta (cf. document 5), algue eucaryote unicellulaire photoautotrophe obligatoire, dont le plaste est entouré d'une structure contenant des peptidoglycanes. Des cellules de *Cyanophora paradoxa* ont été mises en culture en présence d'ampicilline et on a observé la croissance de la colonie (document 6A).

Question 7 :

A - Analysez les expériences proposées sur le document 6A.

B - Quelles hypothèses pouvez-vous émettre pour expliquer l'action de l'ampicilline sur la croissance des Glaucocystophytes en culture? Quelle(s) expérience(s) complémentaire(s) serai(en)t nécessaire(s) pour tester ces hypothèses.

Le document 6B compare la taille des génomes et le nombre de gènes plastidiaux présents chez différents organismes.

C - Quelles informations peut-on tirer de ces données?

La protéine FtsZ et sa fonction chez les Eucaryotes.

La protéine FtsZ (pour '*Filamentous temperature sensitive*') découverte en analysant des mutants d'*Escherichia coli* (Eubacteria) est l'une des molécules impliquées dans la division cellulaire de cet organisme. Les monomères de la protéine FtsZ (40 kDa) peuvent s'auto-assembler en protofilaments (activité GTPase) puis former un anneau contractile (l'anneau Z) à l'origine de la constriction membranaire qui s'opère au niveau du septum séparant, lors de chaque division, les cellules filles d'*E. coli*.

Chez *Arabidopsis thaliana* (Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota), deux séquences de transcrits (*FtsZ1* et *FtsZ2*) ont été identifiées à partir d'une banque d'ADNc nucléaire.

Les protéines correspondantes, *FtsZ1* et *FtsZ2*, présentent une séquence dont la région centrale est très conservée mais elles diffèrent par la longueur de leurs extrémités N-terminales : *FtsZ1* possède une séquence N-terminale beaucoup plus longue que celle de *FtsZ2*. A titre d'information, on notera également la présence d'un site de fixation au GTP dans les deux séquences.

Afin d'analyser les fonctionnalités biologiques de ces séquences, une série d'expériences a été réalisée (documents 7A, 7B et 7C) :

Question 8 :

A- Interprétez indépendamment les expériences 7A, 7B et 7C.

B- Quelles conclusions concernant le rôle des protéines FtsZ peut-on formuler à partir des résultats obtenus?

Évolution des protéines FtsZ chez les Eucaryotes :

Les recherches menées chez les Eucaryotes ont conduit à la mise en évidence de FtsZ chez différents taxons de plantes terrestres et d'algues. Tout comme chez *Arabidopsis thaliana*, certains d'entre eux (*Cucumis sativus*, *Physcomitrella patens*) présentent deux gènes qui ont pu être identifiés et également annotés *FtsZ1* et *FtsZ2*.

On notera que ce gène est absent de différents génomes Eucaryotes totalement séquencés : *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, des génomes de vertébrés, ainsi que des génomes mitochondriaux.

Une analyse phylogénétique réalisée selon une méthode dite de maximum de vraisemblance a été effectuée à partir d'un alignement de séquences des protéines FtsZ d'Eubactéria, d'Archaea et d'Eucaryota (cf. liste des taxons sur le document 8B). L'une des hypothèses phylogénétiques qui en résulte est présentée sous la forme d'un arbre des relations de parenté entre les différentes protéines FtsZ échantillonnées (document 8A).

Question 9 :

- En vous fondant sur l'analyse de la phylogénie proposée sur le document 8A, formulez des hypothèses sur l'évolution de ces gènes.

Question 10 :

- En vous appuyant sur les informations dégagées dans les parties III et IV, ainsi que sur vos connaissances, vous établirez une liste structurée d'arguments soutenant l'origine symbiotique des plastes eucaryotes.

Afin de compléter l'histoire évolutive du gène *FtsZ* (qui code pour la protéine FtsZ), des recherches exhaustives (Nogales et al., 1998; Gilson et al., 2001) ont été menées sur des bases de données de gènes (GeneBank). Ces auteurs ont pu montrer que la plupart des protéines FtsZ présentaient de faibles similarités de séquences avec différents gènes de la famille des tubulines, présents uniquement chez les Eucaryotes (quelques acides aminés sont conservés). En revanche, des similarités structurales très importantes ont pu être identifiées.

Question 11 :

- Après avoir présenté de façon concise les molécules de la famille des tubulines (vous pourrez vous appuyer sur des représentations schématiques) et précisé leurs principales fonctions biologiques, discutez, en quelques phrases, de l'importance que peuvent présenter ces travaux dans la compréhension de l'évolution de la cellule eucaryote.

Bibliographie :

- Berenguer & al., 1987, FEBS Letters, 224(2) : 401-405.
Bouck, 1965, The Journal Of Cell Biology, 26 : 523-537.
Calvin, 1962, Science, 135 (3507) : 879-889.
De Reviers, 2002, Biologie et Phylogénie des algues, Tome 1, Belin, 351 pp.
Erikson, 1995, Cell, 80: 367-370.
Erikson, 1997, Trends in Cell Biology, 7: 362-367.
Erikson, 2007, BioEssays, 29: 668-677.
Gilson & Beech, 2001, Research in Microbiology, 152: 3-10.
Keeling, 2004, American journal of botany, 91(10): 1481-1493.
Nogales & al., 1998, Nature Structural Biology, 5 (6) : 451-458.
Ohad, Siekevitz & Palade, 1967, The Journal Of Cell Biology, 35 : 521-552.
Osteryoung & al., 1995, Nature, 10: 1991-2004.
Osteryoung & al., 1998, The plant cell, 10: 1991-2004.
Robert & Roland, 1989, Organisation cellulaire (Biologie végétale), Tome 1, 265 pp.
Lecointre & Le Guyader, 2003, Classification phylogénétique du vivant, 559 pp.

NE RIEN ÉCRIRE DANS CE CADRE

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE

Académie : _____ Session : _____

Concours : _____

Spécialité/option : _____ Repère de l'épreuve : _____

Intitulé de l'épreuve : _____

NOM : _____

(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms : _____ N° du candidat

(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

EBE SVT 1

Tableau I à rendre avec la copie - Légendes des documents 1 et 3.

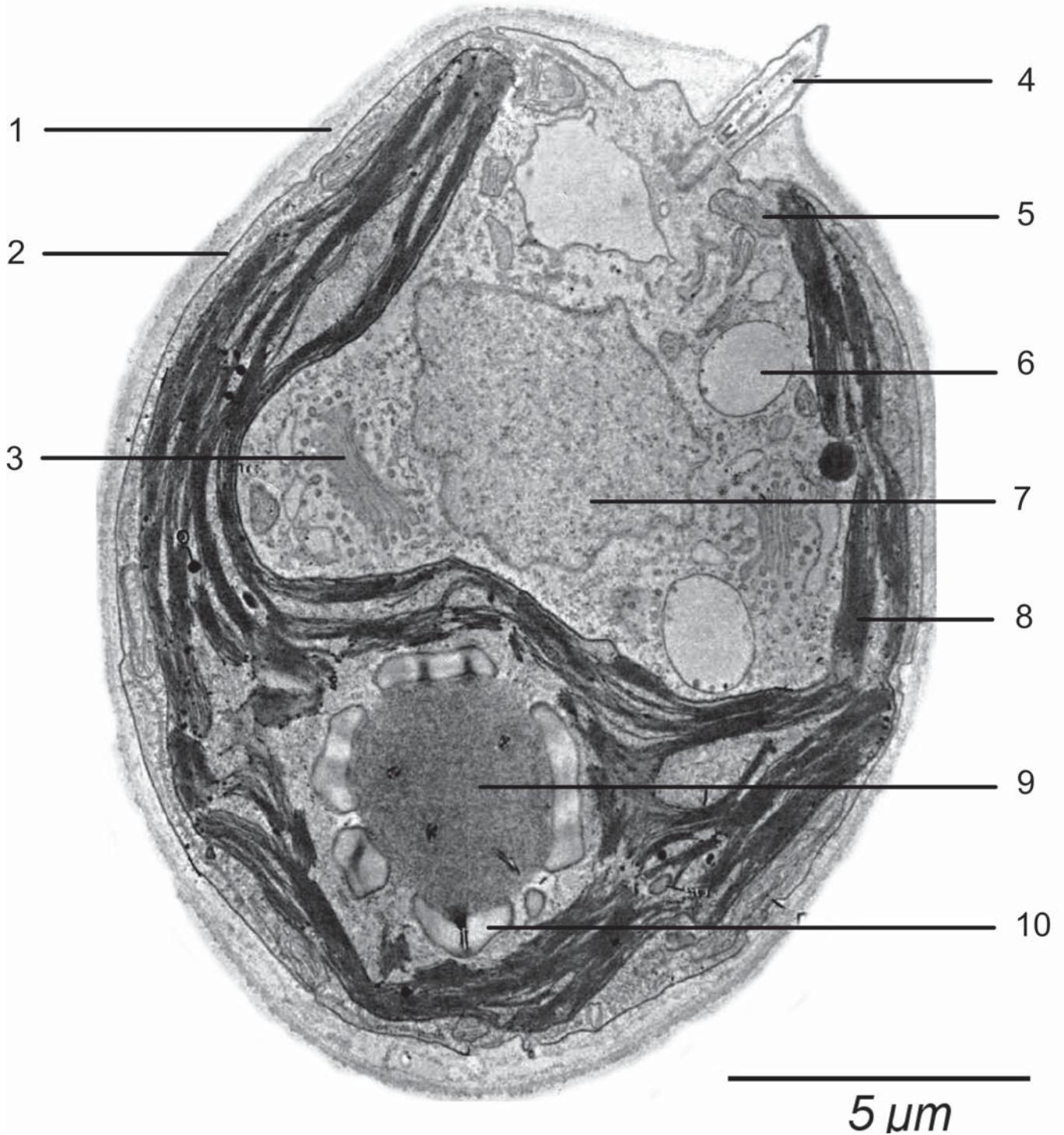
N° Doc.	N° légende	Texte de la légende
1	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
	8	
	9	
	10	
3A	11	
	12	
	13	
	14	
	15	
3B	16	
	17	
	18	
	19	
	20	
	21	
3C	22	
	23	
	24	
	25	
	26	
3D	27	
	28	



DOCUMENT 1

Coupe de Chlamydomonas sp. (Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota)
 observée en microscopie électronique à transmission.

D'après Ohad, 1967

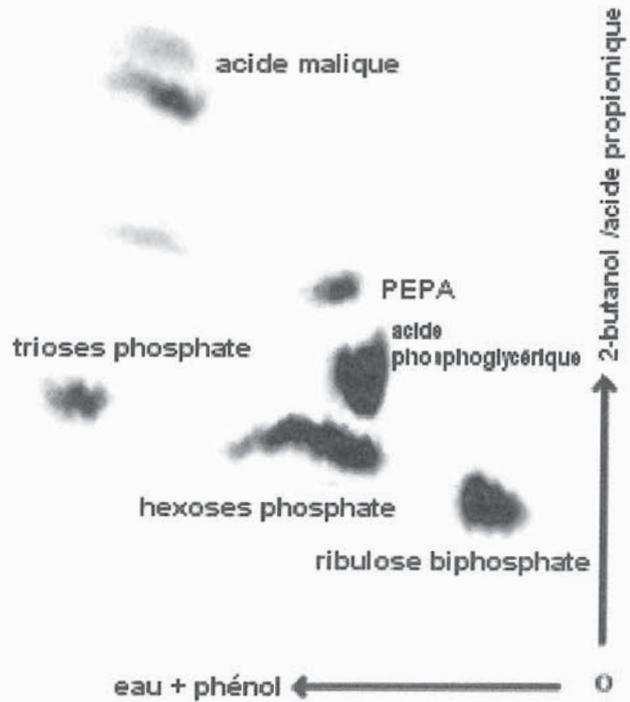


DOCUMENT 2
(d'après Calvin, 1962)

Une suspension de chlorelles éclairée est exposée à une atmosphère enrichie en $^{14}\text{CO}_2$ pendant 5s (document 2A) ou 30s (document 2B). Les chlorelles sont immédiatement fixées par immersion dans une solution alcoolisée ce qui stoppe toute réaction enzymatique et permet l'extraction de leur contenu cellulaire. Des chromatographies bidirectionnelles de ce contenu ont été réalisées et les résultats analysés par autoradiographie. Pour chaque chromatogramme, l'origine 0 est située en bas à droite et le sens de migration est précisé. La nature des composés a été analysée ultérieurement par diverses méthodes biochimiques. On s'est également assuré que ces composés étaient bien présents *in vivo* et n'étaient pas le résultat d'une dégradation par les solvants. PEPA = phosphoenolpyruvate ; UDPG = uridinediphosphoglucose.

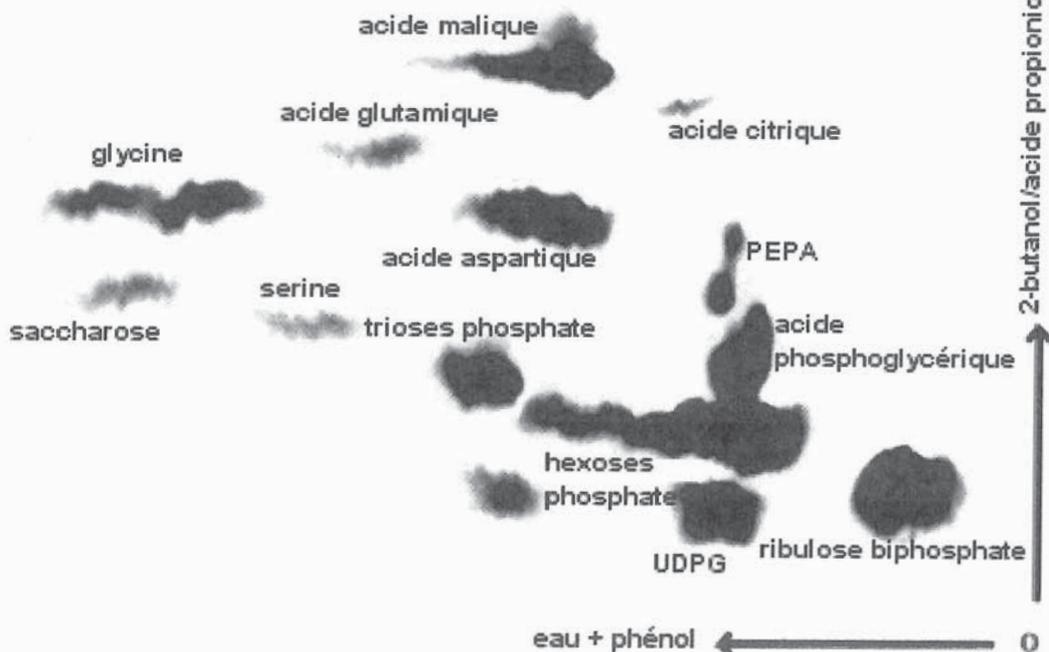
2A

2A : exposition de la suspension de chlorelles au $^{14}\text{CO}_2$ pendant 5s. Si le temps est encore réduit (à 2s par exemple) l'acide phosphoglycérique devient le seul composé révélé.

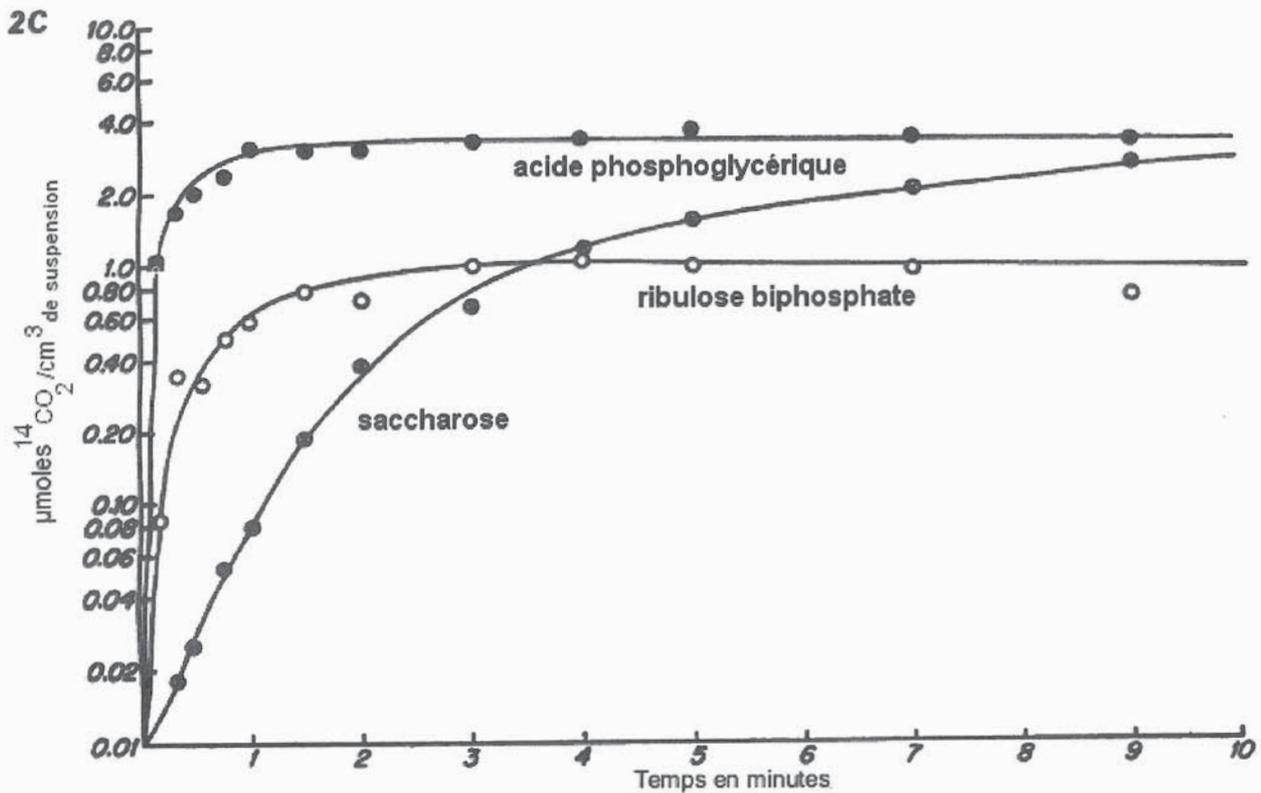


2B

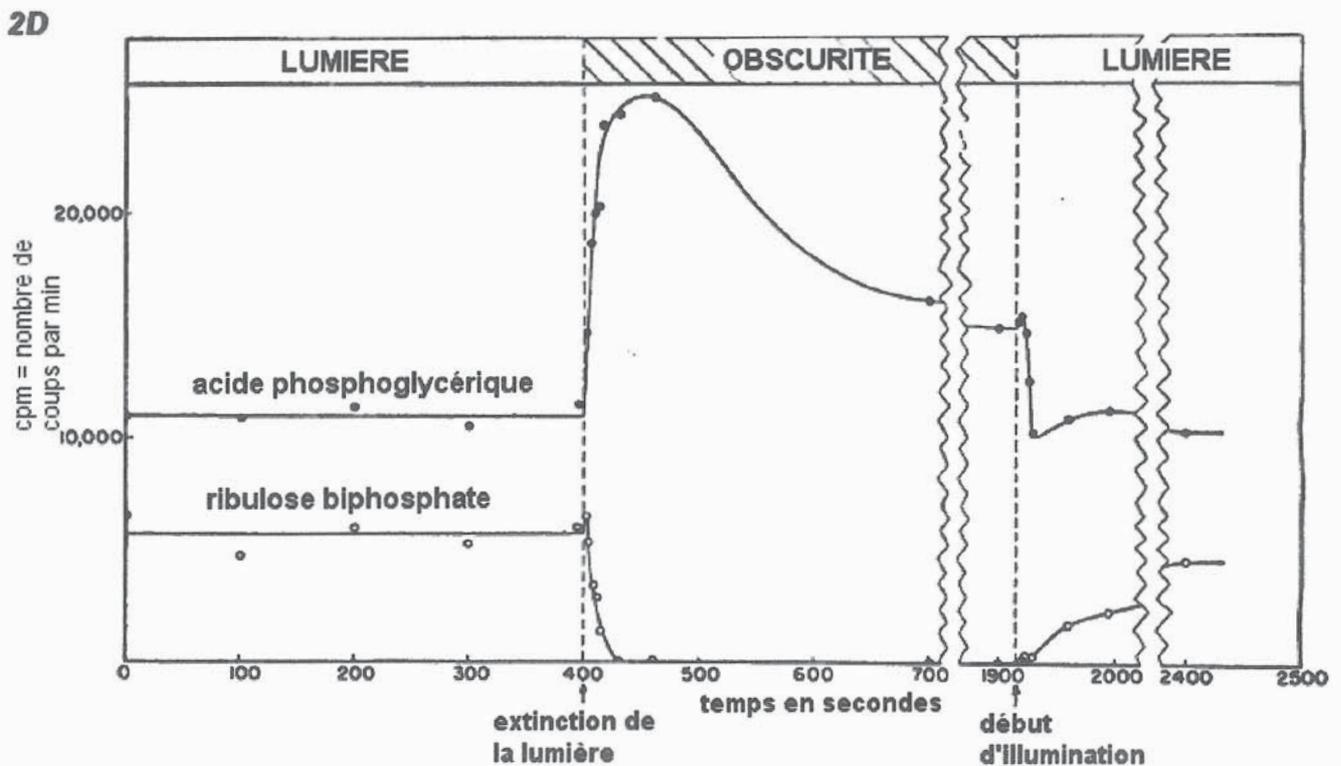
alanine



2B : exposition de la suspension de chlorelles au $^{14}\text{CO}_2$ pendant 30s.



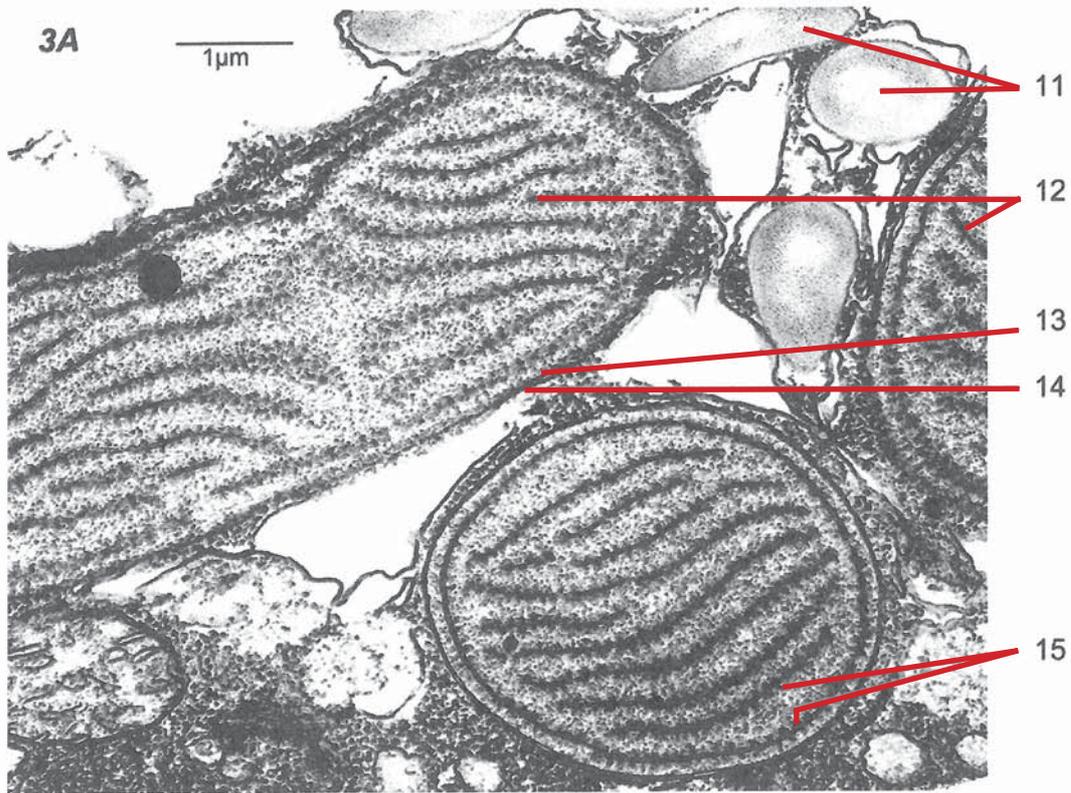
2C : mesure de la radioactivité incorporée dans l'acide phosphoglycérique, le ribulose biphosphate et le saccharose en fonction du temps à partir d'une suspension de chlorelles exposée à la lumière et soumise à une atmosphère enrichie en $^{14}\text{CO}_2$. L'atmosphère est renouvelée avec un débit suffisant pour que la concentration en $^{14}\text{CO}_2$ soit constante. Le temps 0 correspond au début de l'exposition au $^{14}\text{CO}_2$.



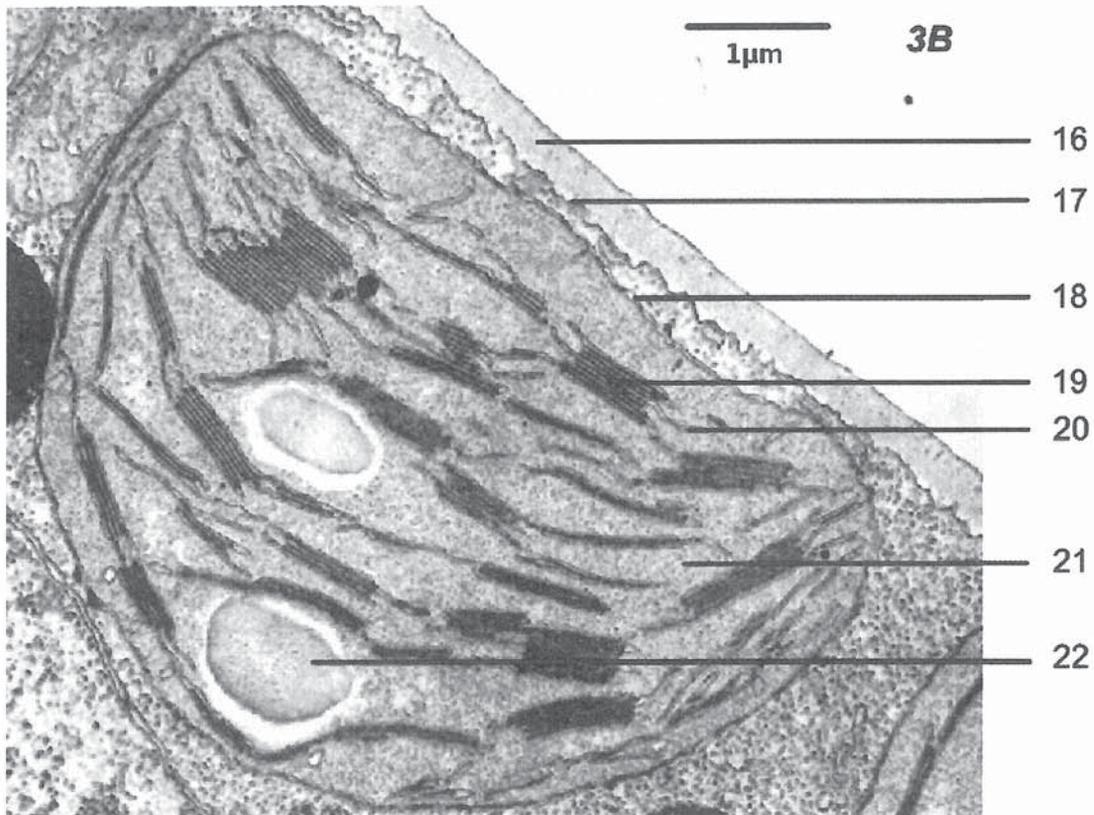
2D : mesure de la radioactivité (cpm) du ribulose biphosphate et de l'acide phosphoglycérique à partir d'une suspension de chlorelles soumise à un flux de $^{14}\text{CO}_2$ et à une alternance lumière/obscurité/lumière.

Le temps 0 correspond au démarrage des mesures sur une suspension de chlorelles déjà exposée à la lumière et au $^{14}\text{CO}_2$ depuis au moins 5 minutes.

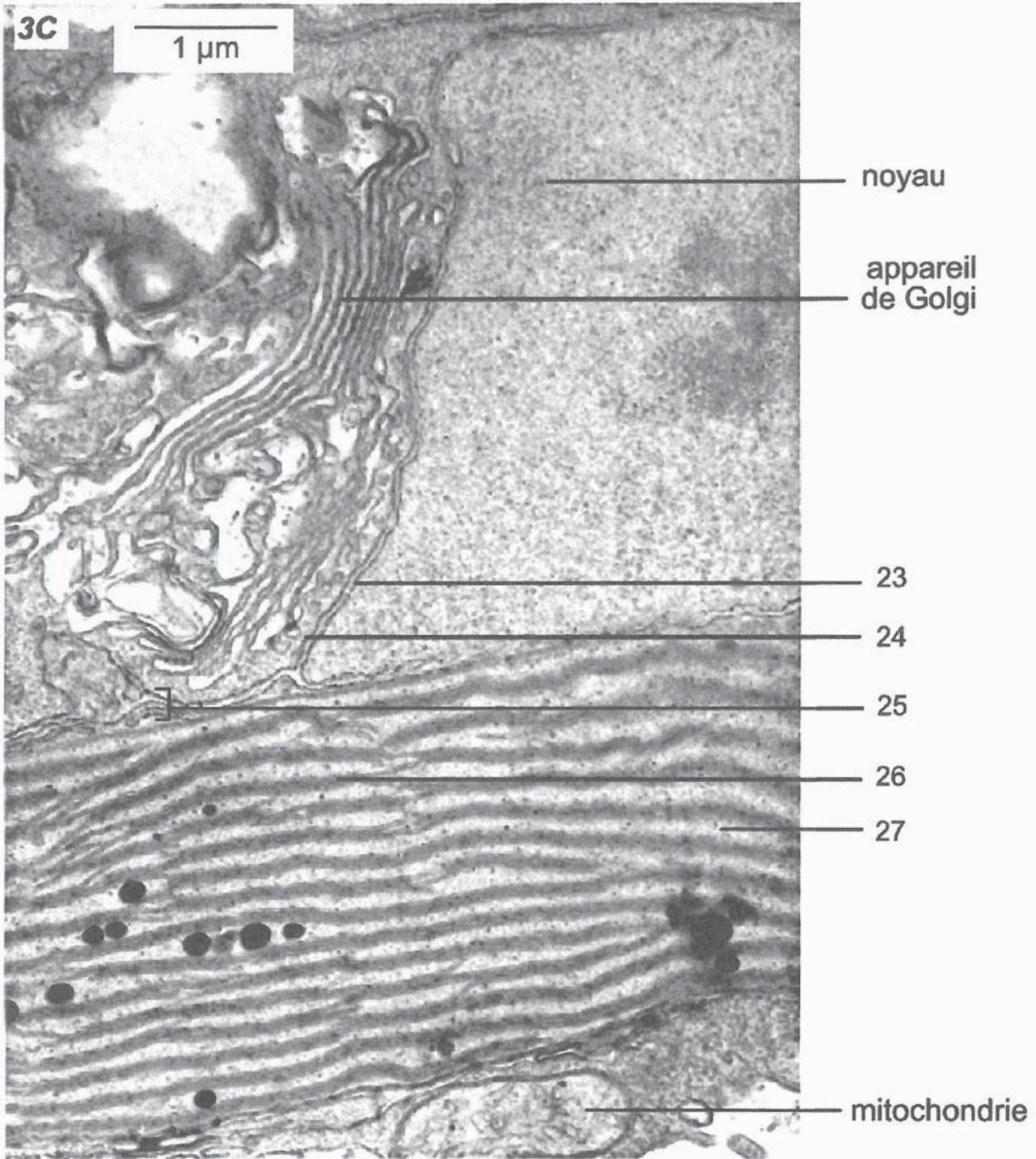
DOCUMENT 3



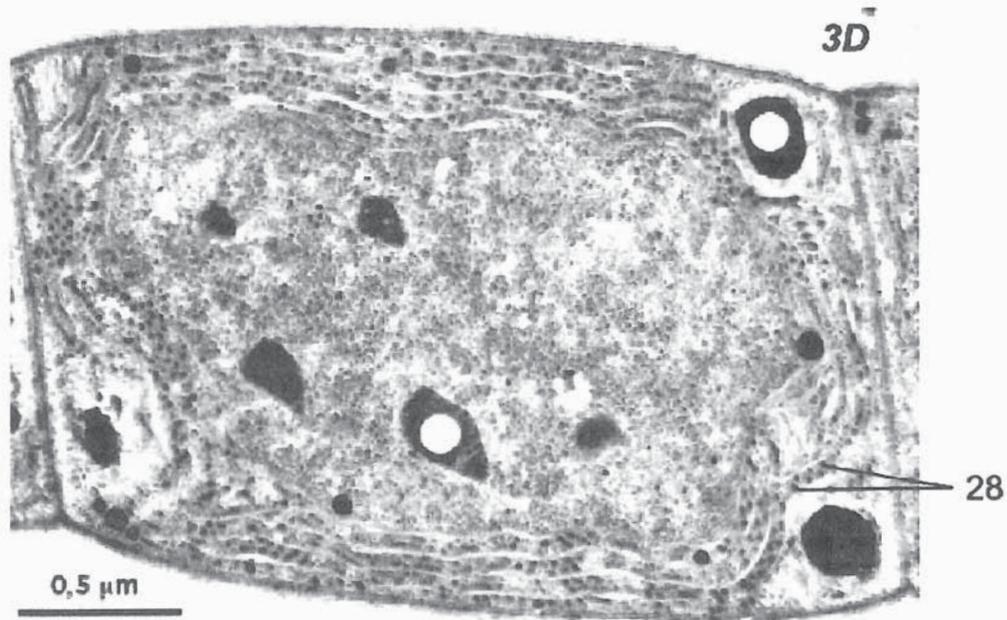
3A : chloroplastes de *Griffithsia* sp. (Rhodophyta, Plantae, Eucaryota) en microscopie électronique. D'après Curt Pueschel, Department of Biology, SUNY Binghamton, USA.



3B : chloroplastes d'épinard, *Spinacia oleacea* (Angiosperma, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota), en microscopie électronique. D'après Mike Clayton, Université du Wisconsin, USA.



3C : chloroplaste de *Chorda filum* (Phaeophyceae, Ochrophyta, Heteroconta, Eucaryota)
D'après Bouck, 1965.



3D : une cellule d'*Oscillatoria splendida* (Cyanobactéria, Eubacteria) en microscopie électronique.
D'après J.C. Thomas, laboratoire « Organismes Photosynthétiques et Environnement », ENS, modifié.

DOCUMENT 4

Équipement pigmentaire photosynthétique de quelques Eucaryotes et Eubactéries photosynthétiques.

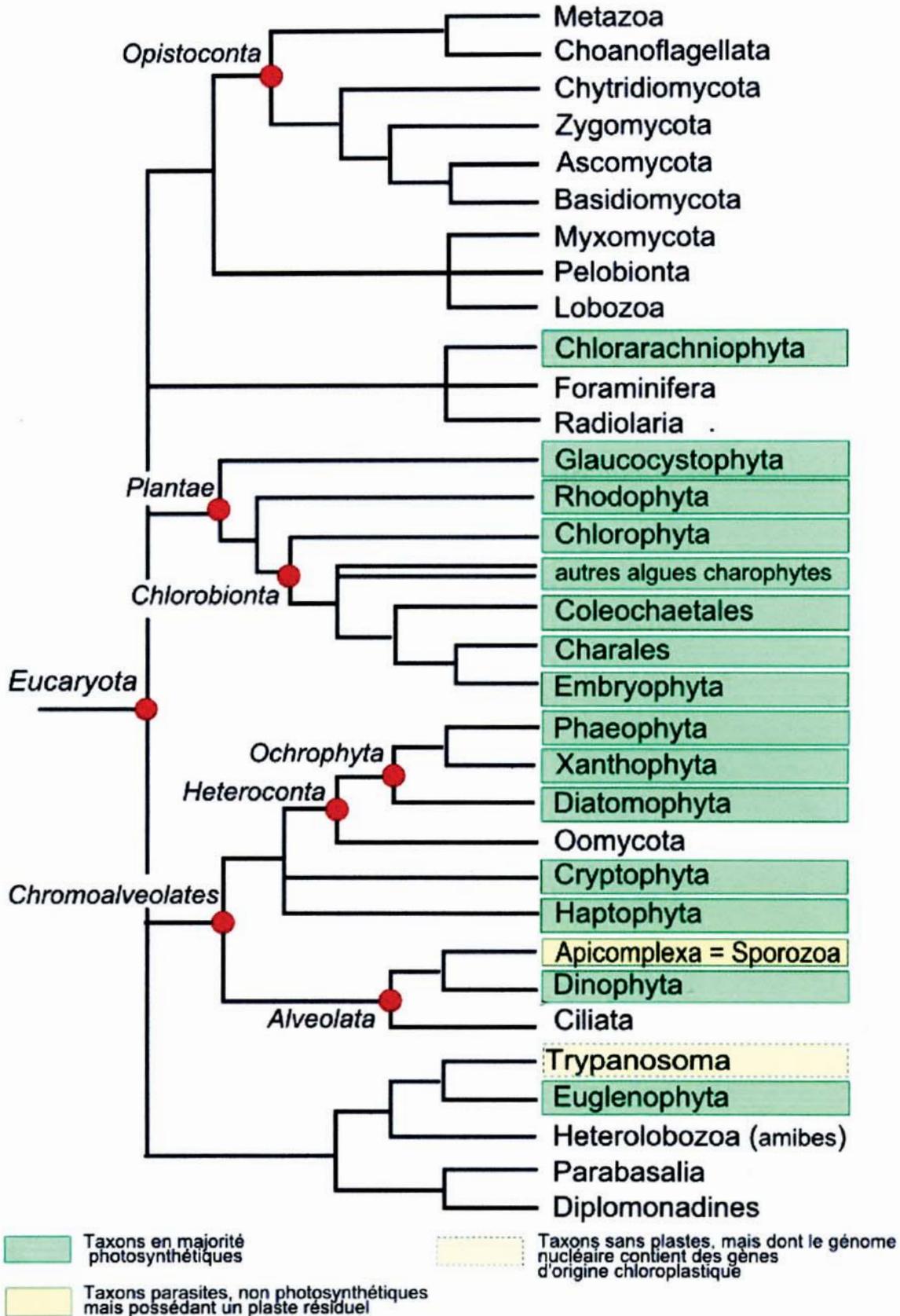
Taxons	Pigments impliqués dans la photosynthèse
Cyanobacteria	chlorophylle a (un groupe contient en plus de la chlorophylle b) phycocyanine allophycocyanine phycoérythrine caroténoïdes
Chlorobionta	chlorophylle a chlorophylle b caroténoïdes
Rhodophyta	chlorophylle a phycocyanine allophycocyanine phycoérythrine caroténoïdes
Fucophyceae	chlorophylle a chlorophylle c caroténoïdes (fucoxanthine)

Remarque : les Fucophyceae appartiennent au taxon des Phaeophyta, Ochrophyta (cf. document 5)

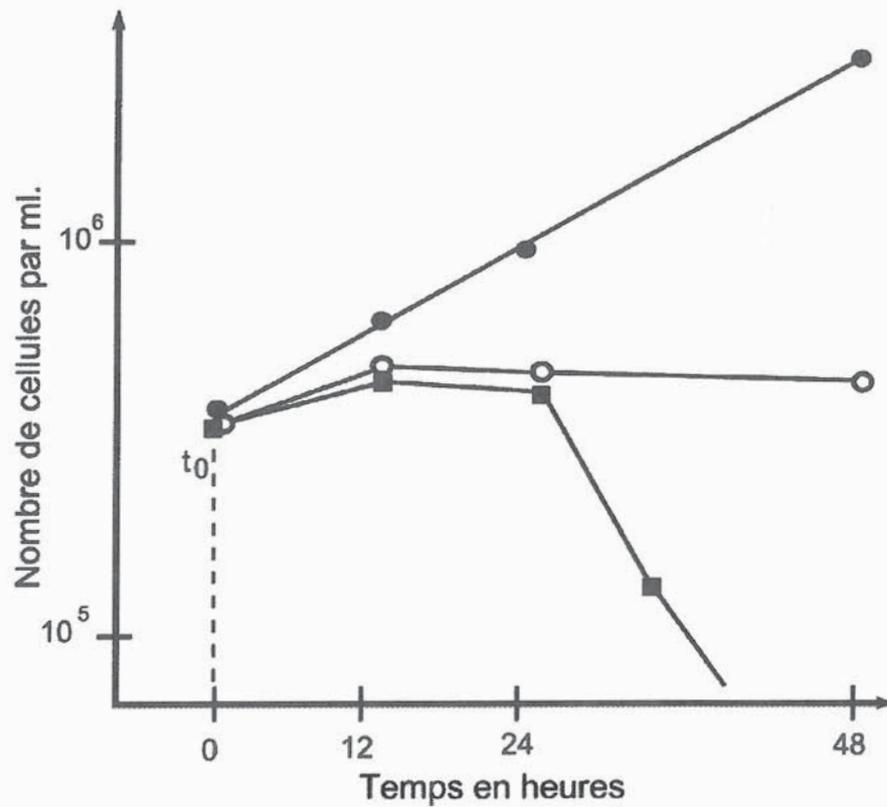
DOCUMENT 5

Phylogénie des Eucaryotes

D'après Lecointre et Le Guyader, 2003, et Keelin, 2004, modifiés



DOCUMENT 6



6A : une culture de *Cyanophora paradoxa* en phase logarithmique de croissance (cultivée à 26°C, avec une photopériode de 20 h de jour/4 h de nuit) est divisée en 3 sous-cultures. Au temps t_0 un traitement différent est appliqué à chaque sous-culture :

- culture témoin non traitée à l'ampicilline
- culture maintenue à l'obscurité et en absence d'ampicilline
- culture mise en présence d'ampicilline (50 µg/ml) à t_0 et maintenue à la lumière

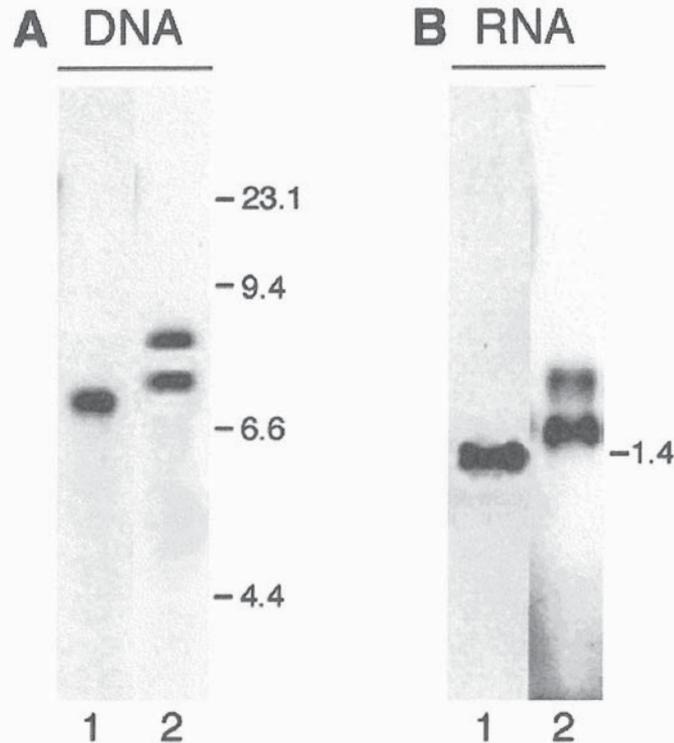
D'après Berenguer J. & al., 1987, modifié.

Taxons	Taille du génome (kb)	Nombre total de gènes
<i>Synechocystis</i> sp. (Cyanobacteria)	3573	3168
<i>Anabaena</i> sp. (Cyanobacteria)	6400	Non connu
<i>Cyanophora paradoxa</i> (Glaucocystophyta)	136	170
<i>Porphyra purpurea</i> (Rhodophyta)	191	220
<i>Chlorella vulgaris</i> (Chlorophyta)	151	111
<i>Zea mays</i> (Embryophyta)	140	132

6B : quelques caractéristiques des génomes cyanobactériens et plastidiaux eucaryotes.

DOCUMENT 7

7A : expériences d'hybridation (Southern et Northern blots) effectuées avec les ADNc de *FtsZ1* et *FtsZ2* d'*Arabidopsis thaliana* (d'après Osteryoung & al., 1998, modifié).



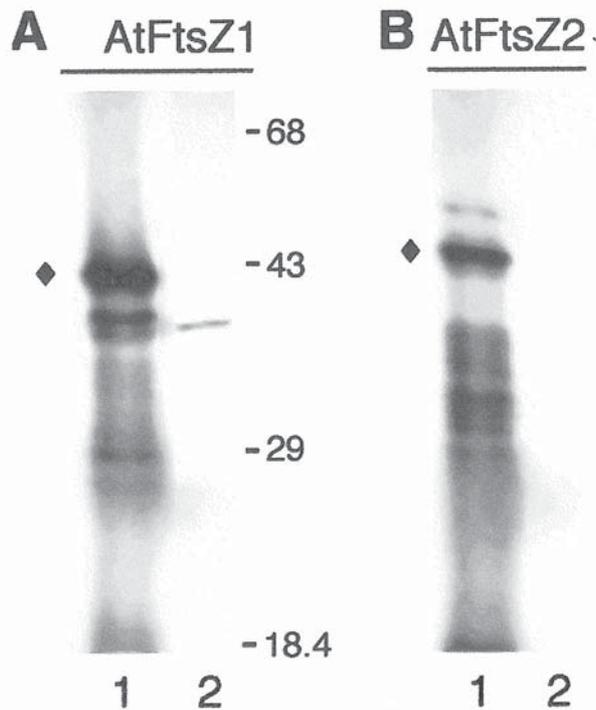
- **A** séparation par électrophorèse sur gel d'agarose (0.7 %) de l'ADN nucléaire d'*Arabidopsis thaliana* préalablement digéré avec l'enzyme *BamH1*.
- **B** séparation par électrophorèse de l'ARN poly-(A)+ d'*Arabidopsis thaliana* sur gel d'agarose (1.5 %) contenant un agent dénaturant, le formaldéhyde.

Après avoir effectué un marquage radioactif des deux séquences d'ADNc, celles-ci sont hybridées sur des membranes de nylon sur lesquelles on a préalablement transféré les acides nucléiques des gels. La radioactivité est révélée par autoradiographie.

Les pistes 1 (en A et B) correspondent à une hybridation avec l'ADNc de *FtsZ1* ; les pistes 2 (en A et B) à une hybridation avec l'ADNc de *FtsZ2*.

Les valeurs portées sur la droite correspondent à la taille des marqueurs (en kilobases) utilisés dans l'expérience.

7B : expériences de traduction *in vitro* effectuées à partir des séquences transcrites de *FtsZ1* et *FtsZ2* d'*Arabidopsis thaliana* (d'après Osteryoung & al., 1998, modifié).



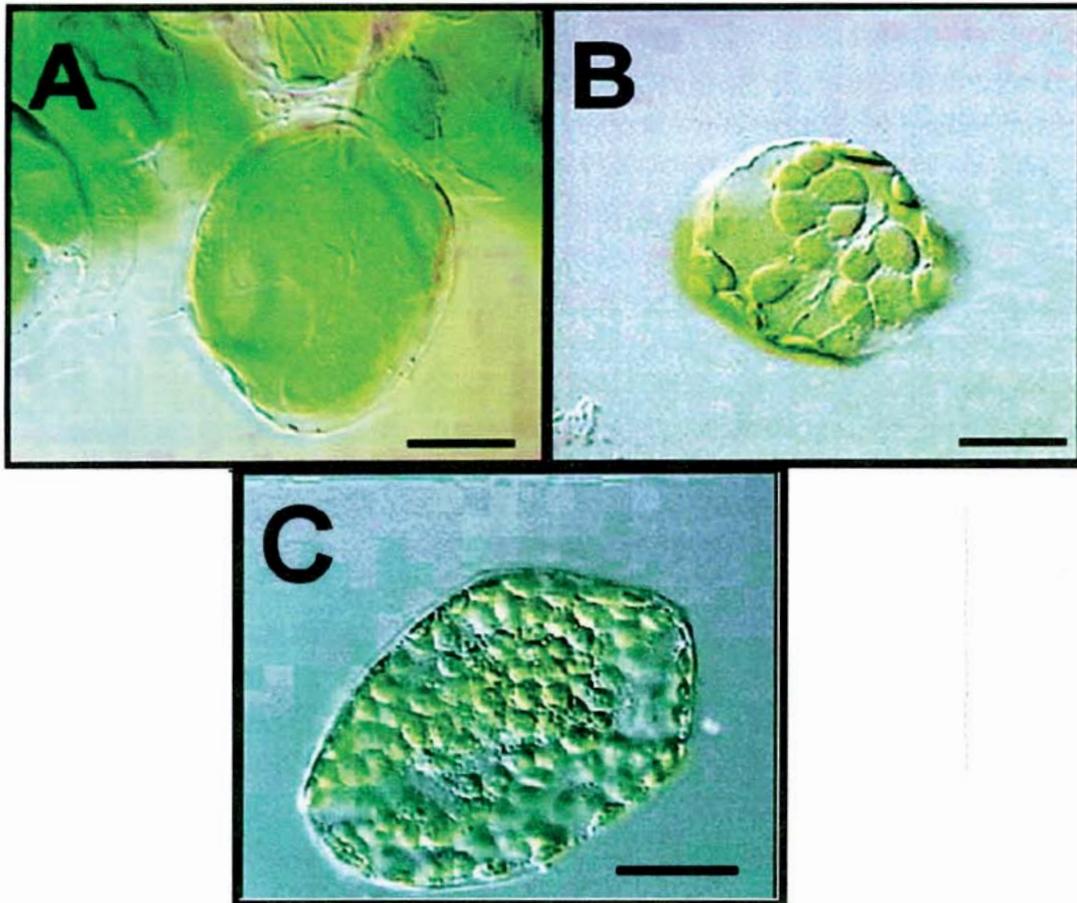
Les ADNc de *FtsZ1* et *FtsZ2* sont transcrits *in vitro* avec une T7 ARN polymérase, puis traduits *in vitro* en présence de [³⁵S]-méthionine. Les produits radiomarqués sont : soit directement déposés sur gel (pistes 1 en A et B), soit mis en présence pendant 30 minutes de chloroplastes de pois (*Pisum sp.*) isolés (pistes 2 en A et B). Dans le cas des pistes 2, après isolement par centrifugation les chloroplastes sont lysés en tampon SDS. La quantité de chloroplastes déposée est calibrée et identique pour chaque manipulation.

Les protéines sont analysées en électrophorèse sur gel de polyacrylamide en condition dénaturante (SDS-PAGE). Les résultats sont révélés par autoradiographie.

En (A), expérience réalisée avec les transcrits *FtsZ1* ;
 En (B), expérience réalisée avec le transcrit *FtsZ2* ;

NB : Une manipulation 'témoin' (non figurée ici) réalisée en présence de chloroplastes mais sans addition de transcrits, donne un résultat identique à la piste B2 après 30 minutes ;
 La traduction *in vitro* (pistes 1) conduit à l'obtention de nombreux produits artéfactuels : les protéines correspondant aux ADNc *FtsZ1* et *FtsZ2* sont identifiés par des losanges.
 Les valeurs indiquées à droite correspondent à la position des marqueurs de masse moléculaire (en kDa), utilisés dans l'expérience.

7C : analyse phénotypique de lignées transgéniques d'*Arabidopsis thaliana* exprimant des ARN antisens spécifiques de *FtsZ1* (d'après Osteryoung & al., 1998, modifié).



On construit des lignées transgéniques d'*Arabidopsis thaliana* en utilisant un vecteur comportant :

- un « gène antisens » de *FtsZ1* dont la transcription produit un ARN complémentaire au transcrit du gène normal;

- un promoteur qui permet l'expression du transgène ;

- un marqueur qui confère à la plante une résistance à la kanamycine.

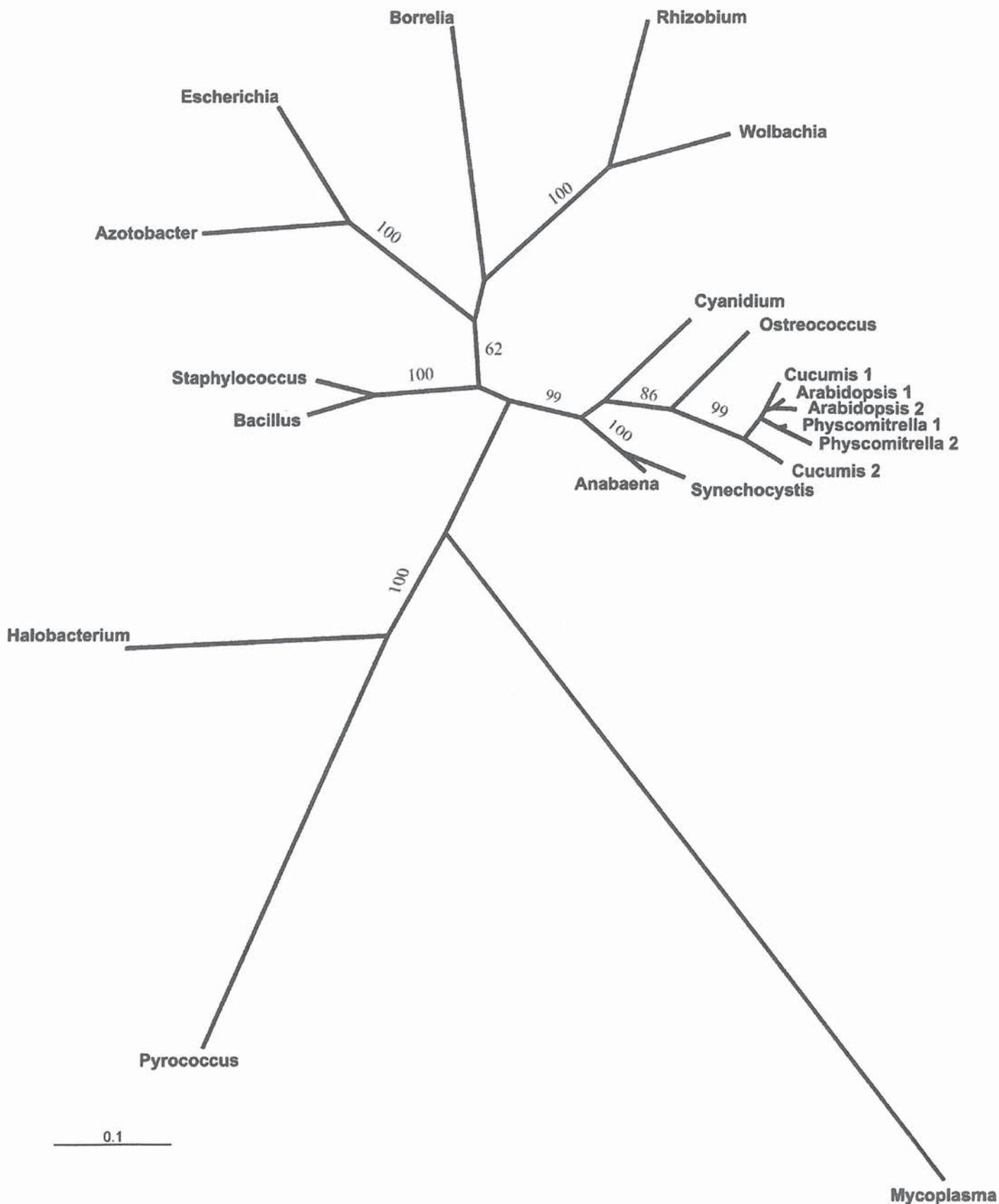
Les plants transformants sont sélectionnés par culture sur milieu contenant de la kanamycine. Les cellules de mésophylle de plants transgéniques de 23 jours sont observées (document 7C, figs A-B) et comparées au témoin (fig C) en microscopie optique à contraste de phase (qui donne une impression de relief).

A, B – Cellules du mésophylle de plants d'*Arabidopsis thaliana* transgéniques ayant incorporé le « gène antisens » *FtsZ1* ;

C – Cellule du mésophylle d'un plant d'*Arabidopsis thaliana*, non transgénique ;

Barre d'échelle : 25 μm

DOCUMENT 8



8A - arbre phylogénétique des séquences protéiques FtsZ construit selon une analyse en Maximum de Vraisemblance. Les valeurs notées sur les branches sont des valeurs de 'Bootstrap' qui correspondent à une évaluation statistique (normée de 0 à 100%) du degré de confiance que l'on peut avoir en une branche, compte tenues des données. Ainsi, une valeur de bootstrap de 100% indique que les branches sont très fortement soutenues. Seuls les noms de genre des taxons sont portés sur l'extrémité des branches ; ils correspondent aux espèces dont les positions taxonomiques sont listées sur le document 8B. *Nb: Mycoplasma genitalium* est une bactérie parasite qui présente l'un des plus petits génomes connus des trois domaines du vivant (470 gènes).

8B – Position taxonomique classiquement admise des espèces étudiées dans le document 8A.

Halobacterium salinarum, Archaea

Pyrococcus woesei, Archaea

Borrelia burgdorferi, Spirochaetes, Eubacteria

Azotobacter vinelandii, Proteobacteria, Eubacteria

Escherichia coli, Proteobacteria, Eubacteria

Rhizobium leguminosarum, Proteobacteria, Eubacteria

Wolbachia sp., Proteobacteria, Eubacteria

Mycoplasma genitalium, Firmicutes, Eubacteria

Staphylococcus aureus, Firmicutes, Eubacteria

Anabaena variabilis, Cyanobacteria, Eubacteria

Bacillus amyloliquefaciens, Cyanobacteria, Eubacteria

Synechocystis sp., Cyanobacteria, Eubacteria

Arabidopsis thaliana, Angiosperma, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Physcomitrella patens, Bryophyta, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Cucumis sativus, Angiosperma, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Ostreococcus tauri, Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Cyanidium caldarium, Rhodophyta, Plantae, Eucaryota

Composition sur un sujet de biologie

Corrigé et commentaires

Présentation du sujet

Les objectifs de ce sujet étaient d'évaluer tant la maîtrise de méthodes, démarches et concepts en biologie, que les capacités d'analyse de documents et de mobilisation des connaissances fondamentales.

Le sujet était constitué de 4 parties indépendantes conduisant progressivement de la restitution de notions de base, classiques en biologie cellulaire et physiologie végétale, à l'exploitation de travaux plus récents de biologie comparée. Le sujet menait les candidats à argumenter de manière rigoureuse et non spéculative sur l'origine et l'évolution des organismes eucaryotes photosynthétiques.

Le sujet s'appuyait sur une grande diversité de supports expérimentaux : micrographies à légènder, analyse d'expériences historiques, analyse de méthodologies classiques en biologie moléculaire, et demandait d'adopter différentes démarches synthétiques : formalisation d'expériences, élaboration de schéma, synthèse de connaissances. L'ensemble du sujet était guidé par des consignes précises que les candidats se devaient naturellement de respecter.

La partie 1 proposait une étude structurale de la cellule eucaryote, à partir d'annotations de micrographies classiques (*Chlamydomonas*) et de la construction d'un tableau présentant la structure et les fonctions des organites.

La partie 2 aboutissait à l'élaboration d'un schéma fonctionnel du chloroplaste. Elle s'appuyait, entre autre, sur l'analyse des expériences historiques de Calvin et de son équipe. Des propositions d'activités réalisables en séance de travaux pratiques et permettant d'établir le rôle des chloroplastes, étaient également demandées.

La partie 3 envisageait la diversité structurale des plastes eucaryotes et proposait d'émettre des hypothèses sur leur origine, hypothèses que les documents de la partie 4 permettaient de discuter.

La partie 4 proposait l'analyse de résultats expérimentaux récents portant sur l'étude de gènes impliqués dans la division des plastes. Elle était complétée par une analyse phylogénétique de la protéine **Ftz** qui permettait d'argumenter sur différents scénarii évolutifs concernant l'évolution des plastes, et enfin, par une courte synthèse de connaissances sur la famille des tubulines.

Pour l'essentiel ce sujet était donc conçu pour :

- vérifier la maîtrise de notions fondamentales enseignées au collège ou lycée (structure de la cellule, mécanismes de la photosynthèse),
- tester les capacités à raisonner scientifiquement sur des documents expérimentaux et à argumenter avec rigueur sur l'histoire évolutive de structures particulières ou sur des groupes d'organismes.

On notera de plus que le sujet recouvre les thèmes d'un grand nombre de leçons proposées à l'oral.

Remarques générales

Forme

Le jury a noté que les copies étaient dans l'ensemble bien présentées. Il est certain qu'une présentation trop dense, resserrée, raturée ou négligée ne favorise pas une lecture sereine du contenu.

Il apparaît un effort sur la qualité de l'orthographe sur de nombreuses copies. Les futurs candidats sont encouragés fortement à poursuivre en ce sens. Cependant quelques rares copies présentent encore une orthographe déplorable.

Démarche

Insistons à nouveau sur un ensemble de remarques qui concerne la démarche utilisée par les candidats. Bien que déjà soulignées dans les rapports des années précédentes, elles semblent ne pas porter leurs fruits. La démarche doit être guidée par une lecture attentive de l'énoncé et le souci de répondre aux consignes données. Trop de candidats ne prennent pas le temps de lire le sujet ce qui aboutit à de regrettables erreurs (taille du génome des plastes fréquemment confondue avec la taille du génome complet de la cellule). Le jury a également noté une mauvaise lecture des consignes : par exemple, il était clairement demandé de décrire les organites communs aux cellules eucaryotes sous forme d'un tableau. De nombreux candidats se sont contentés d'en faire une liste, fréquemment approximative, et d'en énumérer trop vaguement les fonctions.

De plus, les notions sont trop souvent plaquées de manière dogmatique et à l'encontre de toute démarche scientifique. Les conclusions sont fréquemment données avant l'analyse des documents, les expériences justifiées *a priori*...par les conclusions qu'elles permettent justement de tirer. Beaucoup trop de copies souffrent encore de l'absence de démarche analytique rigoureuse et de construction progressive des notions. Ce manque de rigueur dans la démarche expérimentale (absence de témoins, non maîtrise des paramètres, de la quantification) apparaissait fréquemment dans les activités proposées pour l'étude de la

photosynthèse (question 3).

Quelques exemples récurrents de cette absence de démarche :

- **Les conclusions sont données avant l'analyse des documents.**

Documents 2A-D concernant le cycle de Calvin : alors qu'il est précisé dans l'énoncé que seule est présentée une partie des expériences historiques de Calvin (les modalités d'incorporation du CO₂ étant, à cette époque, méconnues de Calvin lui-même), un nombre trop important de candidats fonde leur raisonnement sur l'existence d'un cycle postulé *a priori* (fixation du CO₂ sur le Ribulose-biphosphate, etc.)... pour finir par affirmer que l'expérience proposée est conforme à ce cycle !

- **Beaucoup de documents sont paraphrasés, sans aucune démarche analytique, ni aucune conclusion.**

Autant il est important d'effectuer une lecture précise des résultats, proposant éventuellement au lecteur des valeurs numériques significatives, autant se limiter à une description chiffrée du document n'a strictement aucun sens. Recopier les documents n'est également d'aucun intérêt.

- **Des affirmations sans fondement sont assénées.**

Pour la question 6, l'énoncé précisait de formuler des hypothèses et non de retracer une histoire ou un scénario sans arguments sérieux. A ce stade, il n'était donc pas concevable de présenter la théorie endosymbiotique (y compris les endosymbioses secondaires) comme acquises. Il s'agit là encore d'une mauvaise appropriation des consignes associée à une démarche scientifique peu rigoureuse.

Concepts

Si certains concepts et mécanismes évolutifs semblent de mieux en mieux compris, trop de copies font encore état d'organismes "évolués", "primitifs", "simples", "complexes", "ancestraux", en position "basale". Rappelons que ces notions n'ont aucun sens lorsqu'elles se réfèrent aux taxons : chaque organisme étant constitué d'une mosaïque de caractères dérivés et de caractères primitifs.

En revanche, il est correct de raisonner sur l'acquisition ou la perte de tel ou tel caractère, d'en comparer les différents états, de les polariser et, en se fondant sur une phylogénie relativement résolue, de décrire ces caractères comme des simplésiomorphies ou des synapomorphies. De cette démarche découle, *a posteriori*, les notions d'homologie *sensu stricto*, de convergence et de réversion.

La notion de complexité (dont la définition rigoureuse nécessiterait une explication précise), quant à elle, ne peut pas être formellement associée aux derniers phylums apparus au cours de l'évolution (les organismes parasites aux structures parfois « régressées », mais toujours très modifiées, en sont un des exemples classiques).

Méthodes

Les outils phylogénétiques, et en particulier la démarche permettant d'analyser les arbres proposés dans deux documents (documents 5 et 8) ne sont absolument pas maîtrisés par les candidats. Ces lacunes, importantes en ce qui concernent le document 8, sont très probablement à mettre sur le compte d'un déficit de formation. Nous encourageons les candidats à mieux appréhender les différences entre démarches phénétique et phylogénétique (cladistique), à travailler la lecture d'un arbre phylogénétique, à maîtriser tant les phylogénies de gènes que de taxons, et enfin, à savoir reconstruire l'évolution des caractères sur un arbre. Rappelons que l'analyse phylogénétique, que ce soit de gènes ou de taxons, est l'une des seules méthodes permettant d'étudier l'évolution de caractères moléculaires ou morphologiques : c'est l'un des fondements de la biologie comparée. Appréhender cette démarche est donc un pré-requis indispensable pour comprendre et discuter des scénarii évolutifs. Beaucoup de candidats se sont contentés d'un discours théorique et stéréotypé sur l'endocytobiose des plastes, qui ne s'appuyait ni sur les données expérimentales, ni sur les données phylogénétiques proposées dans les documents. Rappelons que la théorie de l'endosymbiose plastidiale, tout comme celle des mitochondries, est fondée sur un faisceau d'arguments solides qui s'appuient sur des phylogénies et qu'elle n'est pas purement spéculative, comme beaucoup de candidats tendent à la présenter.

Les attentes du jury

Le jury rappelle que la grille de correction couvre l'ensemble du sujet. Les questions de la dernière partie, relativement accessibles, voire simples, pouvaient encore permettre aux candidats d'obtenir des points. Il est donc conseillé de ne pas négliger ces dernières questions et de ne pas perdre de temps en amont à "paraphraser" certains documents.

Rappelons que les schémas sont toujours les bienvenues, permettent souvent de gagner un temps précieux et valorisent l'esprit synthétique des candidats.

Ainsi, le jury a particulièrement apprécié les candidats qui ont :

- fait preuve d'initiatives permettant d'exposer rapidement, clairement et de façon synthétique les notions attendues. Ainsi, ont été valorisés les tableaux comparatifs (sur les différents types de plastes), les tableaux synthétiques (arguments pour l'endosymbiose) et les schémas avec légendes structurales et fonctionnelles.
- perçu la logique des questions et ont construit leur raisonnement autour de cette logique.
- mené une réelle réflexion personnelle autour du sujet.

PARTIE I – Etude structurale de la cellule Eucaryote

Question 1 : légendez le document 1 sur le tableau 1.

Attentes du jury :

Micrographie de *Chlamydomonas*, organisme explicitement cité dans le programme du Capes.

Liste des légendes

1 : paroi ; 2 = membrane plasmique; 3 appareil de Golgi; 4= départ du flagelle; 5= mitochondrie; 6 = vacuole; 7 = noyau; 8 = grana du chloroplaste (chloroplaste admis) ; 9 = pyrénôïde; 10 = amidon.

Prestation des candidats

Si les premières légendes n'ont guère posé de problèmes, certains ont confondu le noyau (7) avec une vacuole; le contenu dense et hétérogène aux électrons, comparé aux vacuoles (6), l'enveloppe épaisse (deux membranes) étaient autant d'indices ne permettant pas la confusion! La seule difficulté résidait dans la légende 9, qui ciblait le pyrénôïde, région concentrant la RUBISCO dans les plastes qui en sont munis; certains y ont vu le noyau. La légende 10, elle, ciblait l'amidon réfringent et intraplastidial bien sûr chez les algues vertes; certains y ont vu des vacuoles ou d'autres organites plus exotiques.

Question 2 : description des organites communs aux cellules eucaryotes, et présentation de leurs fonctions

Attentes du jury

La présentation demandée étant un tableau, il n'était pas possible de s'étendre en une longue rédaction. En revanche, il était nécessaire de citer les structures essentielles permettant de différencier chaque organite : aspect général, nombre de membranes, contenu, présence de génome...les fonctions étaient attendues de manière concise certes, mais assez précise pour qu'on en saisisse le rôle dans la cellule. Des mots clés étaient attendus pour chaque organite.

Ci dessous un exemple de tableau qui était attendu :

Organite	Description et fonctions
Noyau	Entouré par une double membrane interrompue par des pores nucléaires (export ARNm, import protéines cytosoliques). Contient le matériel génétique ADN associé à protéines, ARN. Hétérochromatine , condensée inactive. Euchromatine à structure lâche -> transcription, réplication. Nucléoles -> transcription ARNr. Maturation des ARN. Réparation de l'ADN.
Mitochondrie(s)	Entouré(es) par une double membrane ; système de membranes internes invaginées au sein d'une matrice. Semi-autonome : contient ADN circulaire.

	Lieu de la respiration aérobie : chaîne de transport d'électrons sur membrane interne jusqu'à un accepteur final (O ₂), établissement d'un gradient de protons utilisé pour formation d'ATP. Cycle Krebs, hélice de Lynen dans matrice.
Chloroplaste(s)	Entourés de 2 à 4 membranes selon taxons. Membranes internes thylacoidiennes , empilées (ou non) en grana . Lumen, stroma. Semi-autonome : contient ADN circulaire. Lieu de la photosynthèse : réactions photochimiques sur les membranes thylacoidiennes, réactions biochimiques de fixation du carbone dans le stroma.
Réticulum endoplasmique	Simple membranes internes formant réseau de citernes et tubules REL et REG (ribosomes attachés sur membrane). REL : intervient dans synthèse des lipides et de tous les composés membranaires. REG : maturation des protéines, glycosylation.
Appareil de Golgi	Systèmes de citernes en continuité avec le REG. Classiquement, trois régions cis-median-trans + deux régions frontières avec RE et post-Golgien. Rôle dans trafic cellulaire : reçoit matériel du RE, le modifie, l'exporte. Modifications : activations, glycosylations, sulfatations etc. Tri des protéines et adressage .
Peroxisomes	Vésicules entourés d'une simple membrane . Matrice riche en enzymes oxydantes, dont les oxydases permettant la détoxification des espèces activées de l'oxygène (H ₂ O ₂ , O ₂). Rôle dans la photorespiration (ox glycolate).
Vacuole	Entourée par une simple membrane (tonoplaste), riche en pompes ioniques. Fonction dans la turgescence cellulaire. Lieu de stockage (pigments : anthocyanes, flavonoïdes; métabolites secondaires : alcaloïdes, tannins), rôle détoxification et défense (lié à stockage).

Prestation des candidats

Comme dit précédemment, les consignes n'ont pas été respectées par de nombreux candidats et les descriptions ont été oubliées ou incomplètes.

Pour les fonctions, elles ont été trop souvent effleurées : par exemple, il était juste dit pour le noyau « rôle dans le maintien de l'information génétique ». Ni ADN, ARN, transcription, réplication, chromatine, nucléole n'étaient cités.

PARTIE II – Fonctions du chloroplaste

Question 3 : protocoles expérimentaux à réaliser **en salle de classe**.

Les attentes du jury

La question posée portait sur le rôle des chloroplastes et non de la plante chlorophyllienne entière : il était nécessaire que les expériences ne se contentent pas d'être une illustration des différentes phases de la photosynthèse. Il suffisait pour cela de mettre en évidence le lien entre présence de chloroplastes (parfois très simplement, par une observation microscopique

ou par une extraction préalable des plastes) et réalisation de certaines réactions impliquées dans la photosynthèse pour que la démarche soit acceptable. Naturellement, l'importance des témoins était capitale.

On pouvait envisager plusieurs protocoles expérimentaux, citons par exemple

Rôle des chloroplastes dans les réactions photochimiques - Mise en évidence de dégagement d'oxygène en présence de chloroplastes -		
Mesure dégagement d'O₂ par EXAO , capteur O₂ à sec	Alternance lumière/obscurité/lumière, sur feuille blé verte : O ₂ ; sur feuille blé étiolée : pas d'O ₂ Témoin supplémentaire possible : racine, pomme de terre	Vérification : pas de chloroplastes dans feuille étiolée ni racine, perte coloration verte. Conclusion : il y a dégagement d'oxygène à la lumière en présence de chloroplastes.

Rôle des chloroplastes dans les processus biochimiques - Mise en évidence de la synthèse d'amidon uniquement dans les parties contenant des chloroplastes

Localisation amidon sur feuille panachée après exposition à la lumière + CO₂ au lugol sur des feuilles panachées	Feuilles panachées éclairées (<i>Pelargonium, Coleus</i> etc.) ; vérification présence de chloroplastes. Protocole (décoloration dans éthanol, réhydratation et test au lugol)	Résultat et conclusion seules les parties vertes, contenant des chloroplastes, sont capables de synthétiser de l'amidon.
--	---	---

La prestation des candidats

D'une part de nombreux candidats ont proposé des expériences non réalisables en salle de classe : utilisation de substances radioactives par exemple! Si aucune précision n'était donnée sur le niveau des élèves ou sur l'équipement, le bon sens élémentaire devait amener les candidats à ne proposer que des expériences réalisables sans risques ni précautions particulières par des élèves.

D'autre part, certains protocoles étaient tout à fait fantaisistes et montraient à nouveau un manque de bon sens : il a été proposé à plusieurs reprises de "prendre comme témoin des cellules dont on a extrait les chloroplastes "...le moyen d'extraire ces chloroplastes en salle de classe n'étant pas précisé ! Il est évident que ce type de manipulation est inenvisageable dans le contexte proposé.

Question 4 : analyse des documents 2

Les attentes du jury :

Documents 2A et 2B

Principe : il s'agit de chromatographies bidirectionnelles :

- Deux solvants aux propriétés différentes = deux séparations différentes.
- Autoradiographie pour révéler l'emplacement des composés ayant migré.

-Ne permet pas l'identification des composés donc méthodes biochimiques pour les caractériser.

Analyse du document: un ensemble de taches est révélé par autoradiographie.

-A 5s, les composés suivants sont identifiés : APG, RuBP, hexoses biP, trioses phosphates, PEPA et acide malique.

-A 30s, ces composés sont en quantité encore plus importante et d'autres apparaissent, comme : acides aminés (glycine, sérine), diosides (saccharose), acides organiques (acide aspartique...).

Interprétation : après exposition à un milieu saturé en $^{14}\text{CO}_2$ et à la lumière de nombreux produits deviennent radioactifs. Le ^{14}C est donc incorporé au sein d'un ensemble de molécules, acides organiques et oses. Il est précisé qu'au bout de 2s, seul l'APG apparaît (ce qui sera confirmé par le doc 2C); c'est sans doute le premier composé formé à partir du dioxyde de carbone. A 5s, d'autres composés apparaissent, le RuBP (pentose) et des hexoses phosphates principalement. Ils sont accompagnés de trioses phosphate. Ils sont probablement impliqués « dans » la formation de l'APG ou dérivent de l'APG.

Conclusion

-A ce stade, on peut juste dire que la suspension de chlorelles fixe le CO_2 et que de nombreux composés dérivent de l'APG, première molécule formée. L'APG n'est pas un sucre, il doit être transformé en ose. On voit rapidement apparaître des trioses phosphate qui sont sans doute des dérivés directs de l'APG.

-Quelle molécule intervient dans la fixation de CO_2 pour donner l'APG ? Par ses expériences, Calvin a cherché à répondre à cette question. L'hypothèse la plus simple pour expliquer sa formation est, *a priori*, la fixation de $^{14}\text{CO}_2$ sur un composé en C_2 , donnant l'APG (C_3). Cependant on voit apparaître dès 5s un sucre en C_5 , le RuBP.

Document 2C

L'expérience permet de quantifier la radioactivité incorporée au cours du temps dans les premiers composés formés.

Analyse du document:

-Très vite (en moins d'une minute) un plateau est atteint pour l'APG et le RuBP.

-On confirme que l'APG est bien le premier composé formé.

Conclusions

-Dans les documents 2A et 2B, le plateau n'était sans doute pas encore atteint, ce qui explique l'augmentation des taches pour l'APG et le RuBP notamment.

-L'existence d'un plateau signifie que d'autres dérivés sont formés à partir de l'APG, ce qui confirme les conclusions précédentes. L'hypothèse d'un cycle avec régénération des composés peut être introduite

Le saccharose ne présente pas la même cinétique; ce produit s'accumule lentement alors que

les autres atteignent très rapidement un plateau. On peut donc en conclure que le saccharose représente un produit final qui s'accumule (malgré l'export, que rien ici ne permet de supposer, sauf à faire des calculs de flux...), alors que les autres sont engagés dans un processus dynamique cyclique qui maintient leur concentration constante.

-Document 2D

-L'expérience permet d'observer l'évolution de la radioactivité incorporée dans l'APG et dans le RuBP à la lumière puis à l'obscurité.

-Analyse du document:

-Dès que la lumière est éteinte on observe une augmentation drastique (mais transitoire) de la radioactivité incorporée dans l'APG, corrélée à une chute brutale de celle incorporée au RuBP;

-Lors du retour à la lumière, l'incorporation de la radioactivité reprend dans le RUBP jusqu'à atteindre les valeurs de la phase de stabilisation (plateau atteint au bout de 8 mn environ). Celle incorporée dans l'APG reprend également les valeurs observées précédemment la lumière, jusqu'au plateau.

-Conclusions

-Les deux composés semblent fortement liés, ce qui suggère que le RuBP est le fixateur du CO_2 à la lumière et le précurseur de l'APG. Sa brusque élévation à l'obscurité corrélée à la chute de RuBP signe l'arrêt d'un cycle de fixation-régénération de l'accepteur (le RuBP). Historiquement, cela a été confirmé par des expériences de variations de la pression du CO_2 , à la lumière; lors d'une diminution importante de la disponibilité en CO_2 , il y a brusque augmentation du RUBP, et diminution de l'APG – cette dernière conclusion n'était pas demandée aux candidats)

La prestation des candidats : comme indiqué dans la partie générale, beaucoup de candidats ont seulement paraphrasé les documents et ont eu des difficultés à raisonner (cf ci-dessus).

Schéma de synthèse du fonctionnement du chloroplaste

Les attentes du jury

Le jury attendait un schéma correct du plaste (2 membranes, thylacoïdes intergranaires et grana, stroma) de taille suffisante (sur une page) et qui en montre le fonctionnement. Des zooms éventuels sur telle ou telle partie étaient possibles. Étaient au minimum exigés, pour la phase photochimique : photolyse de l'eau, passage des électrons à travers deux PS et PC/cytb6F/PC, établissement du gradient de H^+ , renforcement du gradient grâce au transfert cyclique des e^- , formation du NADPH, retour des H^+ dans le stroma et formation d'ATP. Pour la phase biochimique de fixation du carbone : localisée dans le stroma, origine chloroplastique de l'ATP et du NADPH, fixation du CO_2 sur le RuBP grâce à la RUBISCO, utilisation de l'ATP dans

les phases de formation des trioses phosphates et de régénération du RuBP. Les trois étapes, carboxylation, réduction et régénération de l'accepteur de CO₂ devaient apparaître.

Toutes les réactions ou les formules chimiques de chaque molécule n'étaient pas exigibles dans leur détail, mais elles devaient être au moins correctement localisées. Un bonus était accordé en fonction de l'approfondissement des réactions.

Les prestations des candidats

La maîtrise des notions représentées sur ce schéma est à la base de la compréhension du fonctionnement autotrophe de la cellule végétale. C'est une exigence évidente pour un futur professeur de biologie et il n'est pas admissible de lire des énormités sur ce point, comme la confusion cycle de Calvin-cycle de Krebs, ou la fixation du CO₂ sur une molécule exotique, ou encore d'oublier la formation d'ATP et la lyse de l'eau.

La moitié des copies ont proposé un schéma correct, souvent pas assez approfondi cependant.

PARTIE III – Diversité et origine du chloroplaste

Question 5A : tableau 1 à légender.

Les attentes du jury

Micrographies de différents organismes photosynthétiques. Liste des légendes :

11 : grain d'amidon extraplastidial ; 12 = thylacoïdes; 13 = membrane interne du plaste; 14= membrane externe du plaste; 15= phycobilisomes; 16 = paroi; 17 = membrane plasmique; 18 = double membrane plastidiale ; 19 = thylacoïde granaire; 20 = thylacoïde intergranaire ; 21 = stroma ; 22 = grain d'amidon intraplastidial ; 23 = membrane nucléaire interne ; 24 = membrane nucléaire externe ; 25 = quatre membranes chloroplastiques ; 26 = thylacoïdes ; 27 = stroma ; 28 = phycobilisomes.

La prestation des candidats

Les phycobilisomes, la position extraplastidiale des grains d'amidon chez les algues rouges et les quatre membranes des plastes d'algue brune n'ont pas été reconnus.

Question 5B : comparaison des structures présentées

Les documents présentaient l'ultrastructure des chloroplastes de trois organismes photosynthétiques (algue rouge, angiosperme et algue brune) ainsi que celle d'une cellule « entière », une cyanobactérie.

Les attentes du jury

La question imposait que les candidats dégagent les éléments permettant de comparer ces structures ! Ceux-ci (nombre de membranes autour du plaste, aspect des thylacoïdes, emplacement de l'amidon, présence de phycobilisomes, taille...) pouvaient être présentés sous forme d'un tableau, ou la comparaison pouvait être rédigée de manière claire.

La comparaison de l'équipement pigmentaire montre que tous ces organites photosynthétiques ainsi que la cellule cyanobactérienne possèdent de la chlorophylle a et des caroténoïdes. Ces

derniers sont variés : *Chorda phyllum*, algue brune, possède un caroténoïde particulier, la fucoxanthine, que l'on ne retrouve pas ailleurs. Les chlorophylles, en dehors de la chl a, sont également diverses : seuls les Chlorobiontes possèdent de la chl. b ; les algues brunes de la chl. c.

Une ressemblance morphologique frappante est notée entre le plaste des algues rouges et la cellule cyanobactérienne. Toutes deux possèdent le même arrangement des thylacoïdes portant des phycobillisomes, associés aux mêmes pigments.

On concluait à une diversité structurale et biochimique des plastes eucaryotes, malgré le partage de caractères (dont on ne pouvait préciser l'héritage à ce stade) comme la présence de chlorophylle a, de thylacoïdes.

L'hypothèse d'un lien entre ces plastes et les Cyanobactéries pouvait être envisagée, sans aller plus loin.

La prestation des candidats

Beaucoup de candidats n'ont pas mené de réelle comparaison mais se sont contentés d'une énumération non ordonnée des caractères déjà légendés à la question précédente.

Question 6 : hypothèses sur l'origine des plastes dans les grandes lignées photosynthétiques fondées sur l'ultrastructure des plastes et sur la phylogénie des eucaryotes.

Les attentes du jury

Il fallait s'appuyer sur l'arbre des Eucaryotes, qui est une donnée, un résultat proposé par l'énoncé. La démarche attendue consistait à replacer les taxons dans la phylogénie : les Eucaryotes photosynthétiques sont répartis au sein de nombreuses lignées ; ils ne forment pas un groupe monophylétique (cependant on pouvait noter que l'arbre des Eucaryotes n'est pas encore résolu à la racine).

Comme nous l'avons vu dans les questions précédentes, la photosynthèse est intimement liée à la possession de chloroplastes fonctionnels, contenant de la chlorophylle et des pigments accessoires. En dehors des Plantae dont la monophylie est avérée, la photosynthèse (donc l'acquisition des plastes) apparaît dans plusieurs groupes, au sein d'organismes hétérotrophes. On peut donc émettre l'hypothèse de la diversité de l'origine de la photosynthèse, avec pertes possibles (certains taxons ont du perdre leur capacité à effectuer la photosynthèse, en perdant leurs chloroplastes –Trypanosomes- ou la capacité à effectuer la photosynthèse, bien que conservant un plaste résiduel –Apicomplexés-).

La prestation des candidats

Comme indiqué dans la partie générale, beaucoup de candidats se sont contentés de réciter avec plus ou moins de pertinence une partie de cours sur les endocytobioses, sans s'appuyer sur l'arbre des Eucaryotes ni sur un raisonnement.

PARTIE IV – Evolution de la cellule photosynthétique

Question 7A, B : culture de *Cyanophora paradoxa*

Les attentes du jury

Analyse du document :

Dans le laps de temps étudié (et à condition que l'observation se situe dans la phase précoce de croissance) :

- 1) Croissance régulière du contrôle non traité : les divisions de *Cyanophora* s'opèrent normalement.
- 2) A l'obscurité (ronds blancs), la population reste stable (ne croît plus) divisions et mort cellulaire s'équilibrent. On peut supposer que l'obscurité n'augmente pas la mortalité mais empêche les divisions cellulaires.
- 3) En présence d'ampicilline et de lumière la diminution du nombre de cellule indique une mortalité cellulaire liée à la conjonction des divisions cellulaires et de l'ampicilline.

Interprétation :

- Les plastes de *Cyanophora* présentent des peptidoglycanes qui sont affectés par la présence de l'antibiotique.
- La division des plastes est probablement altérée ce qui, pour différentes raisons (*i.e.* absence de division des plastes ou division incomplète), conduit à la mort de l'algue.

Contrôles supplémentaires (Q.7A) : Deux contrôles possibles : 1) ampicilline + nuit, et 2) variation de la concentration en ampicilline ;

Conclusions/hypothèses : Une enzyme bactérienne impliquée dans la voie de biosynthèse des peptidoglycanes pourrait avoir été 'héritée' par *Cyanophora* soit en raison d'un héritage vertical lié à un même ancêtre commun, soit par transfert horizontal de gène(s). Les plastes des Glaucocystophytes ont une structure membranaire proche de celle des parois d'Eubactéries : plastes des Glaucocystophytes et de certaines Eubactéries pourraient dériver d'un même ancêtre commun (ou, autre hypothèse, être convergents).

La prestation des candidats

L'analyse du document a été assez correctement menée, mais un certain nombre de candidats ont confondu membrane du plaste et membrane plasmique, empêchant tout raisonnement logique pour l'interprétation.

Question 7C : comparaison (taille et nombre de gènes) de génomes cyanobactériens et de génomes plastidiaux eucaryotes.

Les attentes du jury

Interprétation : Les eucaryotes étudiés appartiennent tous au taxon des Plantae. Les deux composantes de génomes plastidiaux analysées (taille et nombre de gènes) sont caractérisées par une grande 'pauvreté' génétique en comparaison des deux génomes de cyanobactéries libres actuelles.

Synthèse/Connaissances : Si l'on postule une origine commune entre plastes, cyanelles et cyanobactéries, ces différences traduisent (*a priori*) une forte érosion génétique chez les plastes de Plantae (les plastes ont perdu plus de 95 % des gènes présents chez les cyanobactéries). Si l'on fait référence à l'endosymbiose : la perte de structures pariétales (et des enzymes qui les mettent en place) s'est accompagnée chez l'endocytobionte de pertes conséquentes de matériel génétique.

La prestation des candidats

Cette question ne présentait pas de difficultés et un grand nombre de candidats ont proposé une interprétation correcte.

Question 8A : la protéine FtsZ et sa fonction chez les eucaryotes

- Southern et northern blot d'ADNc de FtsZ1 et FtsZ2

Les attentes du jury

Il n'était pas demandé d'explicitier les techniques, cependant le candidat pouvait en donner le principe en une phrase : le Southern blot permet de repérer des fragments d'ADN grâce à une sonde spécifique de la séquence recherchée, et le Northern blot s'applique sur de l'ARN à partir du même principe.

Interprétation : L'analyse des blots permet de conclure :

- FtsZ1 hybride avec **une** seule séquence génomique (d'environ 7.0 kb)
- FtsZ1 hybride avec **une** seule séquence transcrite (d'environ 1.4 kb)
- FtsZ2 hybride avec **deux** séquences génomiques (d'environ 8 et 7.5 kb)
- FtsZ2 hybride avec **deux** séquences transcrites (d'environ > 1.4 kb)
- Les séquences révélées par Z2 sont différentes de celle de Z1.

Conclusions/hypothèses : Il existe *a priori* 2 (si FtsZ2 comporte un site de restriction *Bam*H1) ou 3 gènes codant pour des protéines FtsZ : il existe deux transcrits FtsZ2 très proches (en taille) l'un de l'autre (résultant d'un épissage si un seul gène) et un seul transcrit FtsZ1.

La prestation des candidats

Sur cette partie, qui nécessitait une bonne lecture de l'énoncé et la connaissance théorique du

principe de ces techniques, la moitié des candidats ont su exposer simplement le résultat de l'expérience. Le jury a lu un certain nombre de copies « exotiques », totalement en dehors du raisonnement attendu.

- Traduction *in vitro* d'ADNC de FtsZ1 et FtsZ2

Les attentes du jury

Interprétation : L'expérience de traduction *in vitro* (lignes 1) constitue le témoin : les transcrits peuvent être "traduits" : les deux transcrits conduisent à la formation de protéines d'environ 43 kDa *in vitro*.

En présence de chloroplastes (lignes 2) :

- pas de détection de FtsZ2 !
- présence d'une protéine dans le cas de FtsZ1 d'environ 34-40 kDa.

Conclusions/hypothèses :

- Seule FtsZ1 est incorporé dans le chloroplaste. Sa taille initiale plus importante et, au contraire, sa taille réduite après incorporation dans le chloroplaste peuvent être attribuées à l'existence d'un peptide signal qui est clivé lors de l'incorporation dans le chloroplaste. On peut faire l'hypothèse que FtsZ1 est un gène nucléaire qui code pour des fonctions plastidiales (i.e : il n'y a pas de résultat quand on incube des chloroplastes seuls : leur origine nucléaire était d'ailleurs indiquée dans l'énoncé.
- La Protéine FtsZ2 n'est pas incorporée dans le chloroplaste : on peut faire l'hypothèse que FtsZ2 est dépourvue de peptide-signal lui permettant d'être incorporée, ou que les conditions expérimentales utilisées sont insuffisantes pour permettre son incorporation.

La prestation des candidats

La encore, quelques bonnes copies ont su rester succinctes. Mais trop de candidats délayent des considérations approximatives ou n'ont pas compris l'expérimentation proposée (test d'import chloroplastique).

- Analyse phénotypique de lignées transgéniques d'*A. thaliana*

Les attentes du jury

Cette question nécessite de connaître le principe d'action des ARN antisens (blocage de la traduction).

Interprétation :

Dans les deux cas analysés : il existe deux grands types de phénotypes qui diffèrent par rapport au témoin (C)

1 – fig. A – le mésophylle contient 1 à 2-3 grands chloroplastes, ce qui souligne que la division du chloroplaste est fortement altérée par rapport au témoin (C) chez qui on en compte une centaine.

2 – fig. B – le mésophylle contient une trentaine de chloroplastes de taille intermédiaire. La conclusion est la même.

Conclusions/hypothèses :

Le trans-gène intervient dans (inhibe) la division du chloroplaste. La réduction du nombre de chloroplastes (l'absence de division de ceux-ci) semble compensée par une augmentation de leur taille.

La prestation des candidats

Question assez réussie : à partir du moment où le candidat a reconnu les modifications de taille du chloroplaste et de leur nombre, il a en général conclu à une perturbation de la division.

Question 8B : conclusions sur le rôle des protéines FtsZ

Les attentes du jury Le gène *FtsZ1* est donc bien impliqué dans le mécanisme de division.

Question 9: analyse phylogénétique des gènes FtsZ

Les attentes du jury

Cette question permettait de dégager de nombreuses idées qui sont fournies ici exhaustivement afin d'indiquer aux candidats comment on peut argumenter avant de confirmer une hypothèse évolutive (l'endosymbiose). Toutes n'étaient pas attendues dans chaque copie et le raisonnement a été valorisé.

Pré-requis : cette question nécessitait une connaissance minimale sur la diversité du vivant. La phylogénie est censée, au moins pour les Eucaryotes (donnée en doc. 5), être connue dans les grandes lignes.

Interprétations :

1. L'absence de groupe externe aux trois domaines du vivant ne permet pas d'enraciner l'arbre ; celui-ci est donc figuré sans racine. Une erreur s'est glissée dans la liste des taxons proposés : *Bacillus amyloliquefaciens* n'est pas une Cyanobactérie, mais une Firmicute. Avec l'énoncé proposé, les Cyanobactéries ne sont pas monophylétiques, il n'a donc pas été tenu compte de cet item dans la correction. Le raisonnement restait identique cependant, avec pour restriction ou pour interrogation (ce qu'ont fait quelques candidats) la curieuse répartition des Cyanobactéries.
2. La topologie de l'arbre de *FtsZ* reflète assez fidèlement la phylogénie des espèces. On retrouve les trois grands clades du vivant : Eubactéries, Archées et Eucaryotes. La dichotomie eubactérienne Gram + / Gram – (beaucoup discutée dans la littérature) est retrouvée. La bactérie parasite *Mycoplasma* montre une importante "branche longue" (ici sous-estimée). Sa position, peu "fiable", est sans doute due à une vitesse

d'évolution rapide du gène *FtsZ*, à mettre en relation avec une évolution vers un mode de vie parasite.

Les grands ensembles d'Eucaryotes sont retrouvés : Embryophytes, Chlorophytes; la position des Rhodophytes est moins "fiable", la monophylie de la "lignée verte" n'est donc pas soutenue ici. Les Cyanobactéries (monophylétiques en excluant *Bacillus amyloliquefaciens* tel que donné dans l'énoncé, cf ci-dessus) ont une position totalement inattendue (elles devraient se "brancher" au sein des Eubactéries).

3. Analyse de la relation "inattendue" entre Cyanobactéries et Eucaryotes : la topologie de l'arbre souligne également, avec un fort soutien, le regroupement des protéines FtsZ des Cyanobactéries avec celles des Plantae (monophylie des gènes de cet ensemble), à l'exclusion de tout autre protéine d'Eubactéries. Sur l'arbre, ces deux ensembles sont groupes-frères. Ce regroupement est donc paradoxal du point de vue de la phylogénie des espèces. L'une des hypothèses permettant d'expliquer la monophylie des protéines de cet ensemble (c'est à dire l'existence d'une protéine ancestrale commune) serait le transfert (horizontal) du gène *FtsZ* de l'un des taxons vers l'autre. La présence de ce gène chez l'ensemble des Eubactéries et des Archées, le fait que les Cyanobactéries soient des Eubactéries, le fait que ce gène soit absent chez beaucoup d'Eucaryotes, laissent supposer que ce transfert (de l'ancêtre de FtsZ) a eu lieu de l'ancêtre d'une Cyanobactérie vers un ancêtre des *Plantae* (ce dernier point est conforté par le fait que le gène est présent chez les grands taxons Eucaryotes (Rhodophyta, Chlorophyta et Embryophyta) et pourrait donc être présent dès la racine du groupe (mais nous manquons de beaucoup de taxons Eucaryotes pour l'affirmer, par exemple d'algues Straménopiles).
4. Evènements de duplication du gène *ftsZ* chez les Embryophytes. Au sein des Eucaryotes, on note la présence de plusieurs duplications du gène qui concernent trois taxons : la mousse *Physcomitrella*, les angiospermes *Arabidopsis* et *Cucumis* (concombre). L'histoire de ces duplications est difficile à reconstituer.

Conclusions/hypothèses :

1. L'identification d'un homologue (?) bactérien (et/ou archéen) de la protéine FtsZ dans le génome nucléaire d'Embryophytes (*Arabidopsis* ou *Physcomitrella*), de Chlorophytes (*Ostreococcus*) ainsi que de Rhodophytes (*Cyanidium*) conduit à l'idée que la division du chloroplaste utilise un gène homologue (FtsZ) à celui utilisé lors de la division bactérienne. L'hypothèse de l'endocytobiose peut être formulée !

Si des résultats similaires étaient obtenus pour les autres gènes identifiés chez les plantes et homologues des gènes bactériens, nous pourrions faire l'hypothèse que les mécanismes de division (fission binaire) de la cellule bactérienne sont conservés et « homologues » des mécanismes de division des chloroplastes. Ainsi, la plupart des gènes impliqués dans la division des plastes des Chlorobiontes et Rhodophytes (en fait des plastes Eucaryotes) sont probablement homologues à ceux ayant un rôle dans la fission de la cellule 'procaryote'

(Eubactéries + Archaea).

2. Les séquençages de génomes Eucaryotes démontrent que le gène *FtsZ* est absent du génome de la levure *Saccharomyces* et des génomes d'Eucaryotes non photosynthétiques. Ce défaut de *FtsZ* dans ces groupes peut-être dû (i) soit à une absence primitive, (ii) soit à une perte totale, (iii) soit à une modification de la séquence qui rend ce gène non identifiable (divergence).

Conclusions générales sur l'origine du transfert horizontal du gène *FtsZ* : l'endocytobiose

Si l'on suppose que les mécanismes de division sont les mêmes entre cellules procaryotes et les chloroplastes (impliquant les mêmes gènes dans des processus similaires), on peut supposer que chloroplastes et certaines cellules procaryotes ont une origine commune. Ainsi, il y a sans doute eu, non seulement **transfert de gènes** mais très probablement **transfert de toute la machinerie** responsable de la division cellulaire, c'est à dire **transfert de la cellule elle-même**. Ce phénomène peut s'expliquer par l'**endocytosymbiose** d'une cellule procaryote (probablement une 'cyanobactérie') par une cellule 'ancestrale' de type 'eucaryote'. C'est l'**endosymbiose primaire plastidiale**.

La prestation des candidats

Souvent occultée ou au contraire sujette à un traitement très confus, cette question, difficile, n'a pas été réussie par les candidats mal à l'aise avec ce type de raisonnement. Quelques bonnes copies, montrant des efforts de raisonnement rigoureux, ont été valorisées par le jury.

Question 10: liste structurée d'arguments soutenant l'origine endosymbiotique des plastes eucaryotes

Les attentes du jury

Cette question était destinée à valoriser l'esprit de synthèse des candidats et à mobiliser leurs connaissances sur le sujet, ou évoquées jusqu'à ce point du devoir. Le jury avait décidé de donner le maximum de points sur la question pour cinq arguments parmi la liste ci-dessous. Les arguments supplémentaires étaient bonifiés.

1. L'analyse des séquences génétiques supporte Plantae et Cyanobactéries comme groupe-frère
2. Arguments structuraux issus des docs 3A-D (2 membranes chez Plantae, taille, similitude plastes algues rouges-cyanobactéries, action des antibiotiques antibactériens sur plastes, etc.)
3. Présence de membranes internes généralement indépendantes de la membrane plasmique chez les Cyanobactéries et les plastes (= thylacoïdes).
4. Les phycobilisomes (antennes collectrices disposées à la surface des thylacoïdes ne sont

- présents que chez les Cyanobactéries, les rhodophytes et les glaucophytes. *NB* : ils s'opposent à l'empilement des thylacoïdes observés chez les chlorobiontes.
5. Origine cyanobactérienne des gènes plastidiaux et monophylétique des gènes plastidiaux des Plantae (sauf la grande sous unité de la Rubisco) ; soutien de l'origine unique de l'endosymbiose primaire.
 6. Le génome plastidial est circulaire comme celui des Eubactéries.
 7. La synthèse protéique dans les plastes est initiée par de la f-Met comme chez les Eubactéries.
 8. L'ADN est lié à la membrane plasmique comme celui des Eubactéries (et dépourvu d'histones).
 9. De nombreuses Eubactéries sont des parasites eucaryotes intracellulaires.
 10. Les Cyanobactéries effectuent fréquemment des associations symbiotiques (Anabaena-Azolla ; Nostoc-Cycas,...).
 11. La composition des lipides membranaires des Cyanobactéries est identique à celle des chloroplastes ; présence aussi d'acides gras polyinsaturés chez les Cyanobactéries et les plastes eucaryotes.
 12. La chlorophylle-a, présente chez les Cyanobactéries et chez tous les plastes, fait défaut chez les Eubactéries photosynthétiques (c'est-à-dire origine Cyanobactérienne de la chlorophylle-a).
 13. Seuls plastes et Cyanobactéries possèdent deux photosystèmes (un seul chez les autres bactéries phototrophes).
 14. La chaîne de transport d'électrons des plastes est homologue à celle des Eubactéries (idem pour les mitochondries) - *cf.* cytochrome.
 15. La taille des ARN ribosomiques plastidiaux est la même que celle des ARNr des Eubactéries (et différentes de celles des ARNr cytoplasmiques Eucaryotes).
 16. Présence d'un nucléomorphe chez les Chlorarachniophytes et Cryptophytes, contenant des (trois) chromosomes linéaires à génome très réduit, mais permettant de 'signer' l'endosymbiose secondaire (Chlorarachniophytes = algue verte, Cryptophytes = algue rouge).

La prestation des candidats

Cette question a été décevante au vu de sa simplicité apparente. Les candidats n'ont pas toujours repris les arguments dégagés aux questions précédentes et certaines notions classiques, comme la présence du génome circulaire dans le plaste n'ont souvent pas été évoquées.

Question 11: structure et fonctions des tubulines.

Les attentes du jury

Cette question située en toute fin de devoir mobilisait uniquement les connaissances des candidats... mais le sujet est vaste ; la réponse devait être synthétique !

Ce sont des protéines de 50 kDa qui se lient au GTP qu'elles ont la faculté d'hydrolyser. Il en

existe trois classes majeures α, β, γ qui diffèrent de quelques a. aminés (en fait de 7 à 9 classes selon les auteurs). La polymérisation d'hétérodimères $\alpha\beta$ dans le cytoplasme permet la construction des microtubules, structures labiles et orientées. Un microtubule (\varnothing 25 nm) est un élément du cytosquelette (comme les filaments d'actine, \varnothing 5-8 nm, et les filaments intermédiaires \varnothing 10 nm). Il est stabilisé au niveau de son extrémité (—) grâce à un complexe protéique construit autour d'un anneau de tubulines γ , participant éventuellement à un centre organisateur de microtubule (COMT). La dynamique de l'extrémité libre (extrémité (+)) est régulée par la concentration en hétérodimères chargés en GTP, et par des protéines associées aux microtubules. La colchicine inhibe la polymérisation des microtubules en se liant aux dimères $\alpha\beta$ (établissement des caryotypes).

Ces molécules sont impliquées dans :

- Les transports de molécules : la répartition hétérogène de certains ARNm implique les microtubules (exemples classiques au cours du développement) ; l'orientation des celluloses synthétases membranaires des cellules végétales est assurée par les microtubules corticaux.

- Les transports intracellulaires d'organites : la plupart des organites interagissent avec les microtubules ce qui permet leur localisation et leur déplacement. Ces transports sont rendus possibles par des moteurs moléculaires associés aux microtubules (Dynéines, Kinésines).

NB : les microfilaments d'actine participent aussi au déplacement de certains organites.

-- La division cellulaire : les microtubules forment un ensemble de structures nécessaire au déplacement et à la répartition des chromosomes au cours de la division. Cette répartition est rendue possible par des moteurs moléculaires et par la dynamique des microtubules.

-- La mobilité cellulaire : les microtubules sont le composant essentiel de l'axonème des cellules eucaryotes mobiles, tels les spermatozoïdes. Ces microtubules sont stabilisés et maintenus par de nombreuses protéines associées ; un moteur moléculaire permet leur mise en mouvement.

On fait apparaître le rôle essentiel des structures de tubulines, mais aussi des protéines associées à ces structures.

La prestation des candidats

Il était relativement facile d'obtenir des points sur cette question de cours ; mais sa position en fin de sujet a manifestement empêché un certain nombre de candidats de rédiger ou de dessiner correctement, même de manière synthétique. Nous renouvelons les conseils suivants : lire ou parcourir au moins l'énoncé jusqu'au bout et rédiger ce type de question à l'avance si les connaissances sont facilement mobilisables par le candidat. Enfin, trouver le juste milieu entre permettant de répondre à la consigne "*de façon concise*" et "*en quelques phrases*". Il est évident qu'il ne s'agissait pas de rédiger plus d'une copie double, mais ni de répondre en deux lignes ! Au candidat d'évaluer, en fonction de l'énoncé, de la densité du sujet le volume raisonnable à consacrer à sa réponse. La rédaction confuse, pour ne pas dire

alambiquée est à proscrire : dans ce type de question, les informations précises sont à privilégier, sans effets de style.