

Nom :

Prénom :

salle n° :

**AGRÉGATION DES SCIENCES DE LA VIE –  
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

*CONCOURS EXTERNE – ÉPREUVES D'ADMISSION – Session 2010*

**TRAVAUX PRATIQUES DE CONTRE-OPTION DU SECTEUR B**

**CANDIDATS DES SECTEURS A ET C**

**Durée totale : 2 heures**

***Quelques aspects de la limitation des pertes en eau  
chez les êtres vivants***

Les différentes parties du sujet sont indépendantes.

Certaines d'entre elles comprennent des manipulations et il vous faudra donc organiser votre temps de travail en conséquence. La dernière partie IV de reconnaissance d'échantillons ou de documents photographiques se fera selon une rotation coordonnée par les membres du jury.

**Partie I - Adaptations foliaires vis-à-vis de la limitation des pertes en eau**

page 2

*durée conseillée : 40 minutes*

*barème : 7 / 20*

**Partie II - Approche physiologique et génétique de la régulation de l'ouverture stomatique chez l'arabette des dames, *Arabidopsis thaliana***

page 6

*durée conseillée : 40 minutes*

*barème : 6 / 20*

**Partie III - Concilier économie d'eau et respiration aérienne : quelques réponses adaptatives chez les insectes**

page 15

*durée conseillée : 30 minutes*

*barème : 5 / 20*

**Partie IV - Quelques autres espèces capables de limiter leurs pertes en eau : reconnaissance raisonnée d'échantillons ou de documents photographiques**

page 18

***durée imposée : 10 minutes***

*barème : 2 / 20*

**Répondre directement sur les feuilles du sujet, dans les espaces prévus à cet effet.**

**AVANT DE RENDRE VOTRE DOSSIER, VÉRIFIEZ QUE VOUS AVEZ BIEN INDIQUÉ VOS NOM, PRÉNOM ET NUMÉRO DE SALLE EN TÊTE DE TOUS LES DOCUMENTS. VOUS DEVEZ RENDRE LA TOTALITÉ DES FEUILLES DU DOSSIER.**

Nom :

Prénom :

salle n° :

**Partie I - Adaptations foliaires vis-à-vis de la limitation des pertes en eau**

*durée conseillée : 40 minutes*

*barème : 7 / 20*

Dans cette première partie, on se propose d'étudier quelques caractéristiques foliaires, à l'échelle histologique et anatomique, qui permettent de comprendre que certaines espèces végétales puissent limiter leur évapotranspiration. L'olivier d'Europe, *Olea europaea* (échantillon n° 1) et le pin sylvestre, *Pinus sylvestris* (échantillon n° 2) seront les supports biologiques de cette étude.

**I - A Étude de la feuille de l'olivier, *Olea europaea***

**I - A - 1 Effectuez un montage entre lame et lamelle de chacun des deux épidermes de cette feuille. Réalisez et légendez un dessin d'observation des structures visibles pour le montage de l'épiderme inférieur.**

**Faites appel à un examinateur pour l'évaluation de vos deux montages lorsque votre dessin sera terminé.**

*Réponse à la question I - A - 1*

Nom :

Prénom :

salle n° :

**I - A -2 À partir de vos observations des deux épidermes, dégagez une conclusion faisant ressortir les caractéristiques des feuilles de l'olivier qui permettent de comprendre partiellement la tendance xérophile de cette espèce.**

Réponse à la question I - A - 2

### **I – B Étude de la feuille du pin sylvestre, *Pinus sylvestris***

Le pin sylvestre est une espèce à spectre écologique très large, capable de résister à des conditions thermiques et même hydriques très variées. Mais, en particulier, il peut se développer ou résister dans des conditions de sécheresse plus ou moins prononcées, ce qui fera l'objet de cette étude à l'échelle foliaire.

**À partir de l'échantillon n° 2 fourni, vous réaliserez une coupe anatomique, préparée et colorée selon la technique classique de la double coloration au carmin - vert d'iode (rappelée ci-dessous).**

- coupes dans un microplaine (petit panier grillagé), lui-même dans un verre de montre avec de l'eau de Javel : 10 à 15 minutes ;

- rinçage à l'eau distillée ;

- transfert dans de l'eau acétique à 1/100 pendant 3 minutes ;

- double coloration au carmin - vert d'iode pendant 5 minutes ;

- rinçage à l'eau distillée ;

- montage entre lame et lamelle.

Nom :

Prénom :

salle n° :

I - B - 1 D'après l'observation de cette coupe au microscope, vous représenterez la structure étudiée sous forme d'un schéma anatomique titré et légendé, en utilisant les figurés conventionnels d'histo-anatomie végétale.

Appelez un examinateur qui contrôlera votre montage et votre représentation graphique.

*Réponse à la question I - B - 1*

Nom :	Prénom :	salle n° :
-------	----------	------------

Nom :	Prénom :	salle n° :
-------	----------	------------

**I - B - 2** En relation avec l'économie d'eau chez cette espèce, dégagez à partir de votre observation précédente une conclusion faisant ressortir les caractères adaptatifs de ces feuilles de pin sylvestre, en indiquant précisément les conséquences sur l'évapotranspiration foliaire.

*Réponse à la question I - B - 2*

Nom :

Prénom :

salle n° :

**Partie II - Approche physiologique et génétique de la régulation  
de l'ouverture stomatique chez l'arabette des dames, *Arabidopsis thaliana***

*durée conseillée : 40 minutes*

*barème : 6 / 20*

La régulation de l'ouverture stomatique est un des processus fondamentaux qui permettent aux plantes de contrôler et, par là-même, de limiter leurs pertes en eau par transpiration en cas de déficit hydrique dans leur milieu. Cette deuxième partie est organisée sous forme d'un exercice portant sur quelques aspects physiologiques et génétiques intervenant dans le degré d'ouverture des stomates chez l'arabette des dames, *Arabidopsis thaliana*. La protéine OST1 des cellules de garde de l'ostiole est reconnue comme un agent majeur intervenant dans cette régulation de l'ouverture stomatique et cette étude vise à préciser le rôle de cette protéine, en corrélation avec l'effet d'une phytohormone, l'acide abscissique ou ABA.

*D'après la thèse de doctorat de M. Ch. Belin, intitulée « Structure et fonctions de la protéine kinase OST1 dans la cellule de garde d'Arabidopsis thaliana », 2006, Université de Paris XI Orsay.*

**II - A Comparaison des pertes en eau et du fonctionnement stomatique de deux mutants avec le type sauvage, selon différents procédés expérimentaux**

Différentes méthodes et techniques ont été utilisées pour cette étude :

- comparaison de mutants *ost1-1* et *ost 1-2* par rapport au génotype sauvage Ler d'*Arabidopsis thaliana* ;
- thermographie infrarouge et quantification de la transpiration foliaire à partir des images numériques ainsi obtenues ;
- mesure du degré d'ouverture de l'ostiole stomatique par porométrie ;
- différents traitements des jeunes plantes par de l'acide abscissique (ABA) ou non, à la lumière ou à l'obscurité, dans une atmosphère normale ou appauvrie en CO<sub>2</sub>.

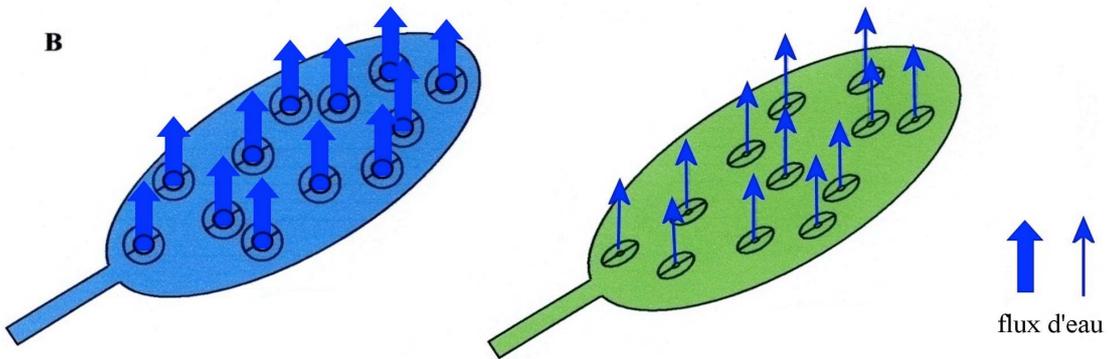
La figure 1 de la page suivante est un document multiple qui vous résume en A le principe physique général de la thermographie infrarouge en fonction de la température des objets analysés, température qui dépend fortement de la vaporisation ou non de l'eau à la surface de cet objet. L'application plus spécifique de ce principe général aux surfaces foliaires est explicitée dans les parties B et C de cette figure 1, avec notamment, le repérage des phénotypes végétaux selon l'ouverture ou non des stomates.

La figure 2, également sous forme d'un document multiple, rassemble les principaux résultats expérimentaux de cette étude, qui feront l'objet des questions suivantes.

A

- ✓ La transformation de l'eau liquide en vapeur consomme de l'énergie  
⇒ La transpiration abaisse la température foliaire
- ✓ L'émission maximale d'un corps noir est fonction de la température :  
$$\lambda_{\max(\text{nm})} = 3,6 \cdot 10^6 / (T_{(^\circ\text{C})} + 273)$$
  
⇒ à 25°C :  $\lambda_{\max} = 12 \mu\text{m}$  (rayonnement IR)
- ✓ L'intensité du rayonnement IR est fonction de la température (E) :  
$$E = 2\varepsilon\sigma (T_{(^\circ\text{C})} + 273)^4$$

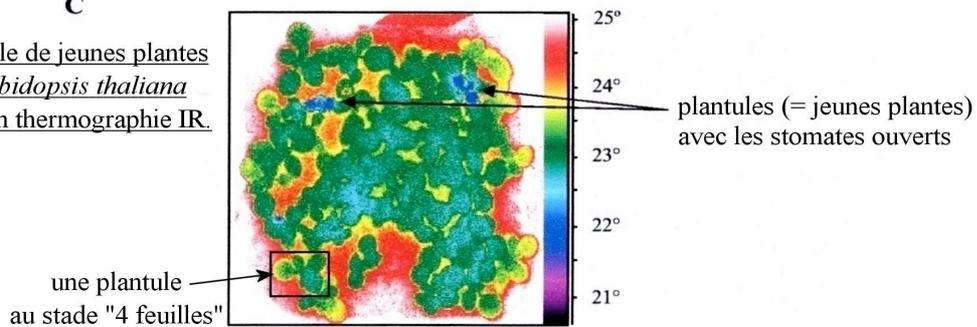
B



températures foliaires en fausses couleurs (se reporter à l'échelle du document C)

C

ensemble de jeunes plantes  
d'*Arabidopsis thaliana*  
prises en thermographie IR.



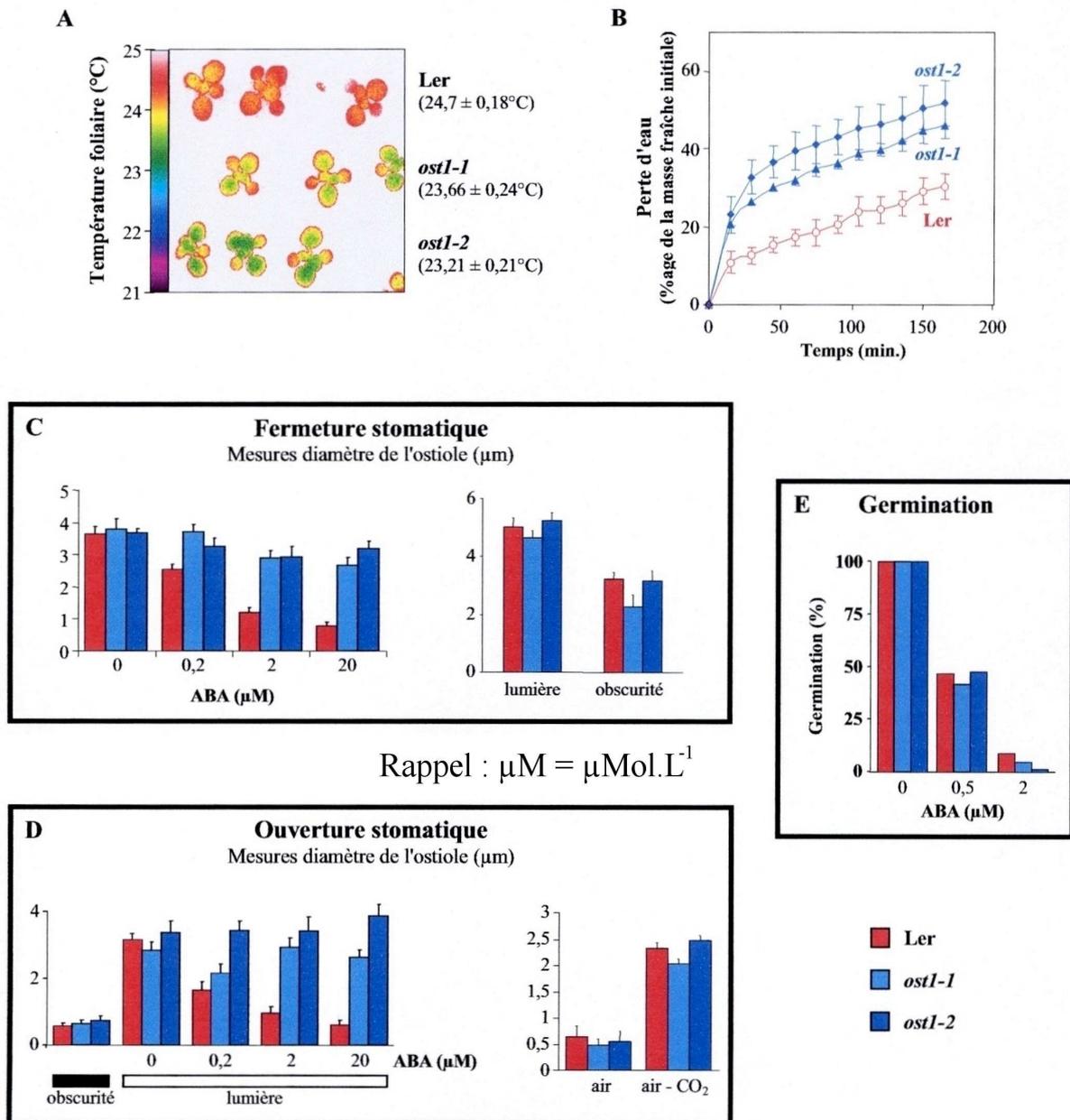
### **Figure 1 : Principe de la thermographie infrarouge et application aux feuilles**

A. Les 3 principes qui régissent la thermographie infrarouge (IR).  $T_{(^\circ\text{C})}$  : température en °C;  $\lambda_{\max}$  : longueur d'onde d'émission maximale;  $\varepsilon$  : émissivité;  $\sigma$  : constante de Stephan-Boltzmann.

B. Principe du crible de phénotypes selon que les stomates soient ouverts ou fermés et conséquences sur la température foliaire.

C. Exemple de photo IR de plantules d'*Arabidopsis* ayant subi 4 jours de sécheresse (fausses couleurs avec échelle en °C).

(NB le terme *plantule* est à prendre ici au sens de très jeune plante)



**Figure 2 : Phénotypes des mutants *ost1-1* et *ost1-2*, comparés au sauvage Ler**

- A. Photo de thermographie infrarouge du sauvage (Ler) et des deux allèles mutants *ost1-1* et *ost1-2*. Echelle en fausses couleurs.
- B. Phénotype de perte d'eau au cours du temps de feuilles détachées du sauvage (Ler) et des deux mutants.
- C. Phénotype de fermeture stomatique en réponse à l'ABA (gauche) et à l'obscurité (droite).
- D. Phénotype d'ouverture stomatique en réponse à la lumière en absence ou en présence d'ABA (gauche) et à l'appauvrissement de l'air en  $\text{CO}_2$  (droite).
- E. Phénotype de germination en réponse à l'ABA.

Nom :

Prénom :

salle n° :

### II - A - 1 Analyse des pertes en eau par thermographie infrarouge

Une première expérience consiste à comparer les pertes d'eau à la surface foliaire pour le type sauvage Ler et pour les deux mutants *ost1-1* et *ost1-2* par thermographie infrarouge, à un instant donné (figure 2 A) et aussi au cours du temps (figure 2 B).

**Analysez ces deux documents. Que concluez-vous sur les pertes d'eau chez *Arabidopsis thaliana* ?  
Qu'apporte l'étude des deux mutants ?**

*Réponse à la question II - A - 1*

### II - A - 2 Acide abscissique et fermeture des stomates

Sur la figure 2 C, la concentration en acide abscissique ou ABA est exprimée en  $\mu\text{M}$  c'est-à-dire en  $\mu\text{Mol.L}^{-1}$ . Les résultats obtenus avec l'acide abscissique sont comparés avec ceux de l'effet de la lumière ou de l'obscurité sur les stomates.

**Que déduisez-vous de l'analyse de ce document ?**

*Réponse à la question II - A - 2*

Nom :

Prénom :

salle n° :

**II - A - 3 Ouverture stomatique en réponse à l'éclairement, en fonction de la concentration en acide abscissique et selon que l'air est appauvri ou non en CO<sub>2</sub>**

Cette expérimentation a conduit aux résultats résumés dans la figure 2 D.

**Analysez puis interprétez ces données. Quelles hypothèses peut-on émettre en ce qui concerne la protéine OST1 ?**

*Réponse à la question II - A - 3*

Nom :

Prénom :

salle n° :

#### **II - A - 4 Acide abscissique et germination des graines d'*Arabidopsis thaliana***

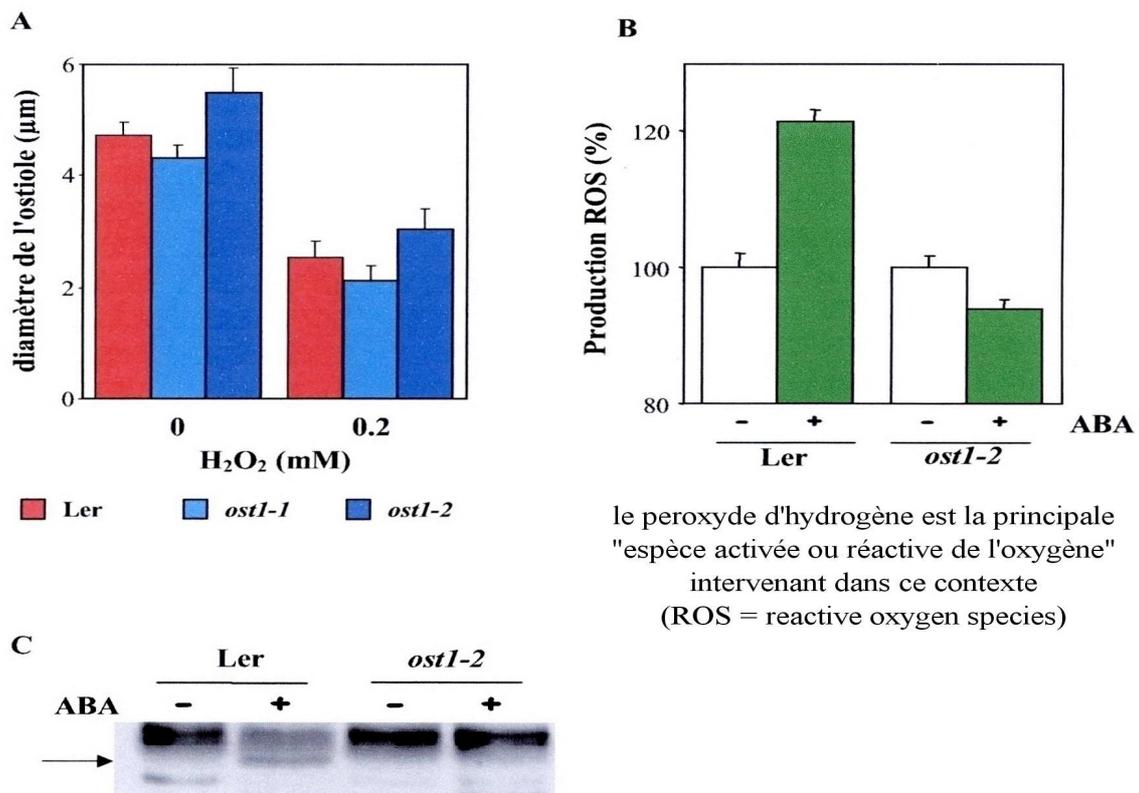
On essaye maintenant de comprendre la place de la protéine OST dans la chaîne d'événements liés à la réception de l'acide abscissique par ses cellules-cibles. Pour cela, et bien qu'il n'y ait pas de corrélation directe avec les pertes en eau stomatiques, on étudie l'influence de l'ABA sur la germination des graines d'*Arabidopsis thaliana* pour les 3 génotypes testés.

**Après analyse de la figure 2 E, quelle remarque faites-vous sur la protéine OST à partir de la comparaison des résultats obtenus pour les trois génotypes ? Cela vous permet-il de valider une des hypothèses émises à la question précédente ?**

*Réponse à la question II - A - 4*

## II - B Place de la protéine OST1 dans la voie de signalisation de l'ABA

On sait que la fermeture des stomates fait intervenir dans la chaîne de transduction des « espèces réactives de l'oxygène » (en anglais *ROS reactive oxygen species*), qui correspondent à différentes molécules dont la principale dans le contexte étudié est le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . Une des questions qui se pose est la place de cette action de  $H_2O_2$  par rapport à celles de l'acide abscissique et de la protéine OST1. Les résultats de cette étude sont rassemblés dans la figure 3.



**Figure 3 : Place de la protéine OST1 dans la voie de signalisation de l'ABA**

- A.** Diamètre de l'ostiole stomatique en réponse à  $H_2O_2$  chez le sauvage (Ler) et les deux mutants *ost1-1* et *ost1-2*
- B.** Production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) en réponse à l'ABA chez le sauvage (Ler) et le mutant *ost1-2*
- C.** Activité de OST1 en réponse à l'ABA chez le sauvage (Ler) et le mutant *ost1-2* (activité kinase en gel sur histone - la flèche indique la bande de 42 kDa correspondant à OST1)

Nom :

Prénom :

salle n° :

### II - B - 1 Influence de $H_2O_2$ sur le fonctionnement stomatique

On veut mesurer l'influence de  $H_2O_2$  en fonction des concentrations indiquées ( $mM = mMol.L^{-1}$ ).

**Que déduisez-vous de l'analyse de la figure 3 A quant à l'effet du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  sur le fonctionnement stomatique ?**

*Réponse à la question II - B - 1*

### II - B - 2 Acide abscissique, production d'espèces réactives de l'oxygène et conséquences

On étudie le niveau de production des « espèces réactives de l'oxygène », dont  $H_2O_2$  forme la molécule principale, en fonction de l'utilisation ou non d'acide abscissique. Les résultats correspondent à la figure 3 B.

**Que déduisez-vous quant à l'intervention de la protéine OST1 normale dans la voie de signalisation conduisant à la fermeture stomatique ? Comment caractériser de ce point de vue la mutation *ost1-2* ?**

*Réponse à la question II - B - 2*

Nom :

Prénom :

salle n° :

**II - B - 3 En guise de conclusion...**

**Analysez et interprétez la figure 3 C (page 12). À partir de l'ensemble des données fournies, de vos analyses et de vos déductions, proposez un modèle explicitant le rôle de cette protéine OST1 dans la chaîne de transduction de l'acide abscissique ABA vis-à-vis du fonctionnement des stomates chez *Arabidopsis thaliana*.**

**Donnez votre interprétation de la figure 3 C et le modèle fonctionnel, sous forme d'un schéma-bilan commenté.**

*Réponse à la question II - B - 3*

<b>Nom :</b>	<b>Prénom :</b>	<b>salle n° :</b>
--------------	-----------------	-------------------

**Partie III - Concilier économie d'eau et respiration aérienne :  
quelques réponses adaptatives chez les insectes**

*durée conseillée : 30 minutes                      barème : 5 / 20*

Les insectes possèdent un tégument dont la cuticule permet de limiter efficacement les pertes en eau. Cependant les échanges gazeux respiratoires sont évidemment indispensables. On se propose de prendre en compte dans cette troisième partie quelques paramètres biologiques adaptatifs des insectes qui leur permettent de concilier ces deux aspects physiologiques.

**III - A Etude des structures permettant la ventilation respiratoire chez le criquet**

Vous disposez d'un criquet dans une boîte de Pétri.

**III - A - 1 Afin d'étudier l'appareil respiratoire du criquet, vous mettrez en évidence par une dissection les différents éléments constitutifs de cet appareil, en utilisant des étiquettes numérotées dont vous indiquerez la signification dans la grille ci-dessous.**

**Vous ferez appel à un examinateur pour l'évaluation de cette étude.**

<i>Réponse à la question III - A - 1</i>	
<u>numéro de l'étiquette</u>	<u>structure légendée</u>

Nom :

Prénom :

salle n° :

III - A - 2 Réalisez un montage microscopique d'un fragment de cet appareil respiratoire.

Faites appel à un examinateur pour évaluer votre montage.

III - A - 3 Observez de façon détaillée un des orifices respiratoires thoraciques et repérez *in situ* les structures qui sont en relation avec l'économie d'eau.

Appelez un examinateur pour évaluer votre présentation.

Dégagez, en conclusion, les caractéristiques qui contribuent à une meilleure économie d'eau chez le criquet.

Réponse à la question III - A - 3

### III - B Périodicité des phénomènes de flux gazeux

La figure 4 de la page suivante représente des mesures de flux hydrique et de flux de dioxyde de carbone CO<sub>2</sub> au cours du temps chez une future reine ailée de fourmi moissonneuse, *Messor sp.*

**Analysez ce document. Qu'en déduisez-vous sur les adaptations physiologiques chez cet insecte et quelles corrélations pouvez-vous faire concernant les adaptations respiratoires et l'équilibre hydrique de cette espèce ?**

Nom :

Prénom :

salle n° :

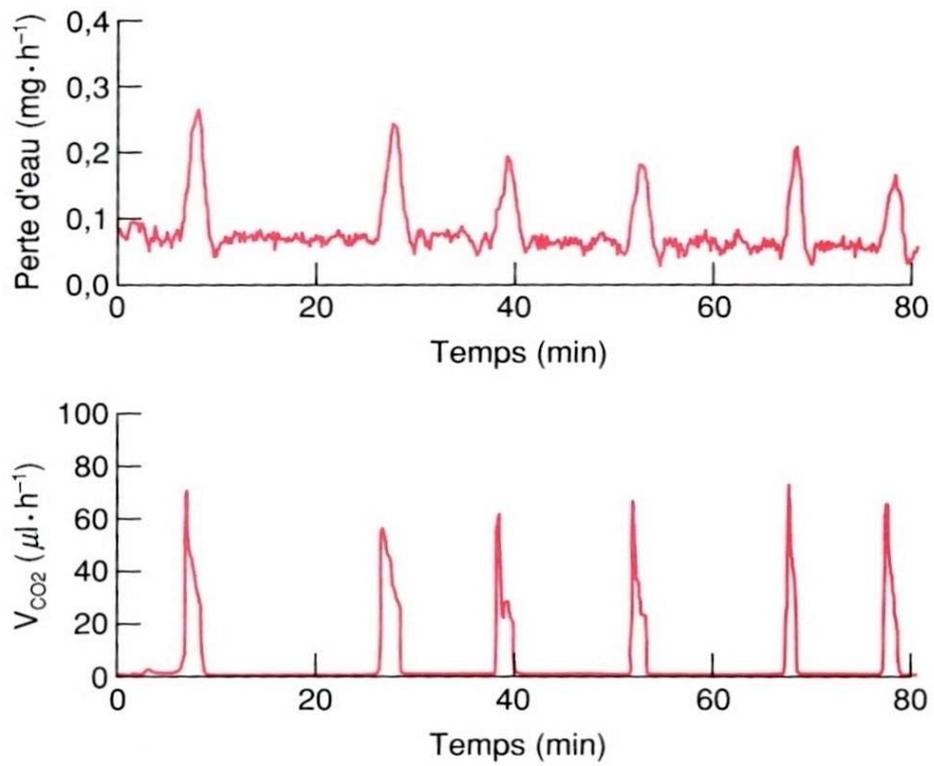


Figure 4 : Perte en eau et volume de CO<sub>2</sub> rejeté  
chez la fourmi moissonneuse (forme ailée - future reine)

*in Eckert et al. – Physiologie animale – mécanismes et adaptations – éditions De Boeck, 1999, page 550*

Réponse à la question III - B

<b>Nom :</b>	<b>Prénom :</b>	<b>salle n° :</b>
--------------	-----------------	-------------------

**Partie IV - Quelques autres espèces capables de limiter leurs pertes en eau : reconnaissance  
raisonnée d'échantillons ou de documents photographiques**

**durée imposée : 10 minutes**

*barème : 2 / 20*

Complétez le tableau ci-dessous :

<b>Numéro</b>	<b>Identification</b>	<b>Caractéristiques physiologiques en rapport avec l'économie d'eau</b>
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		