

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

**AGRÉGATION DE SCIENCES DE LA VIE -
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

CONCOURS EXTERNE – ÉPREUVES D'ADMISSION – session 2009

**TRAVAUX PRATIQUES DE CONTRE-OPTION DU SECTEUR A
CANDIDATS DES SECTEURS B ET C
Durée totale : 2 heures**

Les mouvements d'eau entre les cellules et le milieu

Ce document contient 15 pages de texte et de figures. Une feuille de papier millimétré vous sera fournie pendant la séance.

Partie I : Mise en évidence de mouvements d'eau au niveau cellulaire	page 2
<i>durée conseillée : 15 minutes – barème : 20 /100</i>	
Partie II : Détermination expérimentale du potentiel hydrique d'un organe	page 5
<i>durée conseillée : 70 minutes – barème : 40 /100</i>	
Partie III : Détermination expérimentale du potentiel osmotique d'une solution	page 8
<i>durée conseillée : 15 minutes – barème : 20 /100</i>	
Partie IV : Les aquaporines	page 10
<i>durée conseillée : 20 minutes – barème : 20 /100</i>	

Attention ! Il est vivement conseillé de commencer par l'expérience concernant la détermination du potentiel hydrique (partie II) qui nécessite une immersion de 60 minutes dans différentes solutions.

Les réponses aux questions figureront dans les cadres réservés à cet effet. N'oubliez pas d'appeler les correcteurs pour vérifier préparations et dessins lorsque cela est demandé.

**AVANT DE RENDRE VOTRE DOSSIER, VÉRIFIEZ QUE VOUS AVEZ BIEN
INDIQUÉ VOS NOM, PRÉNOM ET NUMÉRO DE SALLE EN TÊTE DE
CHACUNE DES FEUILLES.**

Nom :

Prénom :

salle n° :

Partie I : Mise en évidence de mouvements d'eau au niveau cellulaire

durée conseillée : 15 minutes – barème : 20 /100

Vous disposez d'un bulbe d'oignon rouge, d'eau distillée et d'une solution de saccharose à 20 %. Prélevez un lambeau d'épiderme sur la face externe d'une écaille moyenne, montez-le entre lame et lamelle dans une goutte d'eau distillée et observez-le.

I - A : Sans dessiner, décrivez votre observation et proposez une explication.

Réponse à la question I-A

I - B - 1 : Ajoutez ensuite une goutte de solution de saccharose contre le bord de la lamelle et placez un papier-filtre du côté opposé afin d'établir un mouvement de solution. Observez une cellule à l'objectif x 100 à l'immersion et dessinez-la dans le cadre de la page 3.

Vous devez appeler un correcteur dès que votre dessin est réalisé et laisser votre préparation en place sur la platine du microscope.

Nom :

Prénom :

salle n° :

Réponse à la question I-B-1

Nom :

Prénom :

salle n° :

I - B - 2 Nommez le phénomène observé et proposez une explication.

Réponse à la question I-B-2

I - C Calculez la concentration molaire de la solution de saccharose utilisée à l'aide des masses molaires atomiques suivantes : C = 12 g.mol⁻¹ ; H = 1 g.mol⁻¹ ; O = 16 g.mol⁻¹

Réponse à la question I-C

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

Partie II : Détermination expérimentale du potentiel hydrique d'un organe

durée conseillée : 70 minutes – barème : 40 /100

Vous disposez d'un tubercule caulinaire de pomme de terre et d'une série de 10 tubes contenant chacun une solution de saccharose différente, de 0,1 mol . L-1 pour la plus faible à 1 mol . L-1 pour la plus élevée. Réalisez, dans ce tubercule, 10 parallélépipèdes d'environ 5 cm de longueur, aussi semblables que possible. Repérez sur chacun d'entre eux une arête, faites une petite incision sur cette arête, et mesurez la longueur de cette arête. Soit L_i la valeur mesurée.

Placez alors un parallélépipède par tube, attendez une heure puis retirez-les et mesurez, pour chacun d'eux, la longueur de l'arête présentant l'incision. Soit L_f la nouvelle valeur. Déterminez alors la variation relative de longueur, notée ΔL , exprimée sous forme d'un pourcentage.

II - A : Donnez la formule qui permet de déterminer ΔL en fonction de L_i et L_f .

<i>Réponse à la question II-A</i>

II - B : Consignez vos valeurs dans le tableau-ci dessous.

	Concentration des solutions de saccharose en mol . L-1									
Longueurs	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
L_i										
L_f										
ΔL										

Nom :

Prénom :

salle n° :

II - C - 1 : Tracez alors le graphe exprimant la variation relative de longueur ΔL en fonction de la concentration de la solution de saccharose, sur la feuille de papier millimétré jointe à votre dossier.

II - C - 2 : Faites une analyse critique argumentée de la méthode utilisée. Pouvez-vous proposer une autre façon de procéder ?

Réponse à la question II-C -2

II - C - 3 : Donnez la formule complète du potentiel hydrique en précisant la signification de chaque terme.

Réponse à la question II-C -3

Nom :

Prénom :

salle n° :

II - C - 4 : Déterminez graphiquement la valeur de la concentration qui correspond au potentiel hydrique du tubercule de pomme de terre. Justifiez votre choix dans le cadre ci-dessous.

Réponse à la question II-C-4

II - D - 1 : Donnez la définition de la plasmolyse limite.

Réponse à la question II-D-1

II - D - 2 : Pouvez-vous déterminer graphiquement la valeur de concentration en saccharose pour laquelle les cellules parenchymateuses du tubercule de pomme de terre sont en plasmolyse limite ? Si oui, expliquez très succinctement comment, en justifiant votre réponse (vous pouvez utiliser votre graphe de la question II-C-1).

Réponse à la question II-D-2

II - D - 3 : Les réponses aux questions II-C-4 et II-D-2, vous permettent-elles de calculer la pression de turgescence de l'échantillon ?

Réponse à la question II-D-3

Nom :

Prénom :

salle n° :

Partie III : Détermination expérimentale du potentiel osmotique d'une solution

Durée conseillée : 15 minutes – barème : 20 /100

Cet exercice vous propose de déterminer le potentiel osmotique d'un jus de fruit que les élèves peuvent se procurer dans le commerce. Vous disposez pour cela d'un jus de fruit, de bleu de méthylène, de tubes à essais contenant chacun une solution de saccharose de concentration différente de 0,1 mol . L-1 à 1 mol . L-1. Le principe de cette détermination est basé sur la méthode de Chardakov.

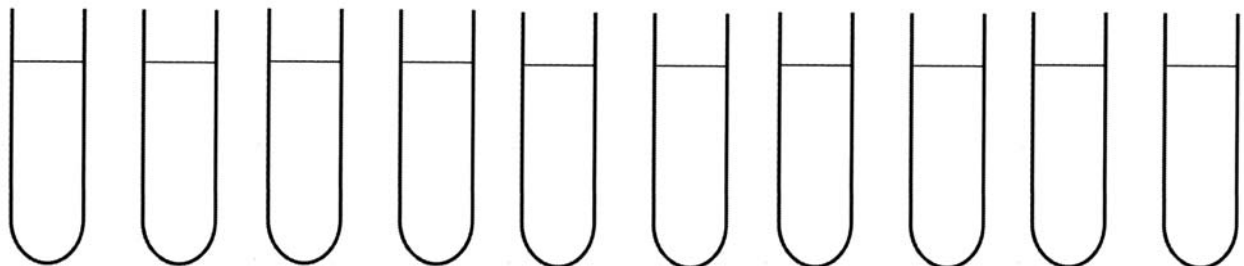
III - A : Rappelez en quelques lignes le principe de cette méthode.

Réponse à la question III-A

Ajoutez avec la pointe d'un scalpel du bleu de méthylène dans le jus de fruit à tester de façon à obtenir une coloration homogène bleue. À l'aide d'une pipette Pasteur, prélevez par capillarité, sans aspirer, un peu de jus de fruit de fruit ainsi coloré. Libérez ensuite une goutte de ce mélange immédiatement sous la surface de la solution de saccharose du tube à 0,1 mol . L-1. Faites de même avec chacun des 9 autres tubes correspondant aux différentes dilutions, en ayant pris soin d'essuyer avec du papier-filtre l'extrémité de la pipette Pasteur entre chaque prélèvement.

III - B : Représentez vos observations en complétant le schéma ci-dessous selon le code suivant : une flèche orientée vers le bas si la goutte descend, une flèche orientée vers le haut si la goutte monte et une double flèche de part et d'autre de la goutte si elle ne bouge pas.

Réponse à la question III-B



Nom :

Prénom :

salle n° :

III - C - 1 : Expliquez de façon argumentée les différents comportements observés.

Réponse à la question III-C-1

III - C - 2 : Déterminez alors la valeur du potentiel osmotique du jus de fruit étudié. Vous considérez que la température est égale à 25°C. La constante des gaz parfaits $R = 8,31 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$. Vous exprimerez le résultat en MPa (rappel : 1 bar = 1 atm = 0,1 MPa).

Réponse à la question III-C-2

Nom :

Prénom :

salle n° :

Partie IV : Les aquaporines

durée conseillée : 20 minutes – barème : 20 /100

Chez les plantes, les vacuoles sont des organites essentiels qui subissent des changements de volume dynamiques pendant la croissance des cellules suite au flux rapide et élevé de l'eau par les aquaporines.

IV - A : Étude de l'aquaporine BobTIP26-1 du tonoplaste de chou-fleur

Pour mieux comprendre la fonction physiologique de l'aquaporine BobTIP26-1 dans le tonoplaste, des ARNc chimères *BobTIP26-1::GFP* sont injectés dans des ovocytes de Xénope (TIP : protéine intrinsèque du tonoplaste). La synthèse de BobTIP26-1 et de BobTIP26-1::GFP est contrôlée par immunoblotting (**figure 1 A-D ci-dessous**). Trois jours après injection, les ovocytes sont transférés dans un milieu hypo-osmotique et les échanges d'eau sont étudiés (**figure 1 E ci-dessous**).

MW : masse moléculaire

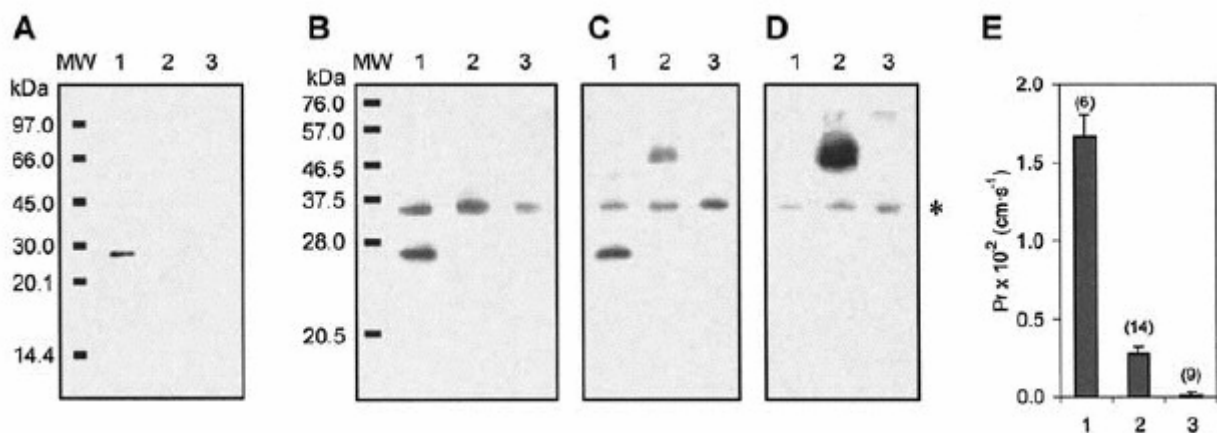


Figure 1

Les ovocytes sont injectés avec des ARNc de BobTIP26-1 (pistes 1), des ARNc de BobTIP26-1::GFP (pistes 2) ou avec de l'eau (pistes 3).

Chaque piste contient des membranes préparées à partir de l'équivalent d'un ovocyte.

Les protéines sont détectées par des anticorps anti-BobTIP26-1 (A), des anticorps anti-Cter de BobTIP26-1 (B), des anticorps anti-Nter de BobTIP26-1 (C), ou des anticorps anti-GFP (D). L'astérisque correspond à une bande non spécifique dans les taches B à D. Cter et Nter signifient respectivement extrémité C-terminale et extrémité N-terminale de la protéine.

E : Valeurs de la perméabilité osmotique à l'eau (Pf) des ovocytes de *Xenopus*. Des ovocytes exprimant l'ARNc de BobTIP26-1 (1), l'ARNc de BobTIP26-1::GFP (2) ou non modifiés (3) sont soumis à un choc hypo-osmotique et les changements du volume des cellules sont enregistrés. Le graphe exprime les valeurs moyennes de Pf des ovocytes. Les nombres entre parenthèses représentent le nombre d'ovocytes utilisés pour chaque expérience.

Nom :

Prénom :

salle n° :

IV - A - 1 : Exploitez de façon comparative les résultats des expériences A, B, C et D et concluez.

Réponse à la question IV-A-1

IV - A - 2 : Proposez une hypothèse explicative aux résultats de l'expérience E.

Réponse à la question IV-A-2

IV - B : Étude de l'aquaporine BobTIP26-1 dans des protoplastes de cellules de tabac

De l'ADNc de *BobTIP26-1::GFP* a été transitoirement exprimé dans des protoplastes obtenus à partir des cellules de tabac en suspension. L'analyse des protoplastes fluorescents est effectuée 20 h après l'électroporation et l'emplacement de la protéine de fusion GFP est suivi en microscopie confocale (**figure 2 page suivante**) en présence du plasmide pAVA393 codant la GFP cytosolique (A), du plasmide pDR303 codant *BobTIP26-1::GFP* (B-F).

Nom :

Prénom :

salle n° :

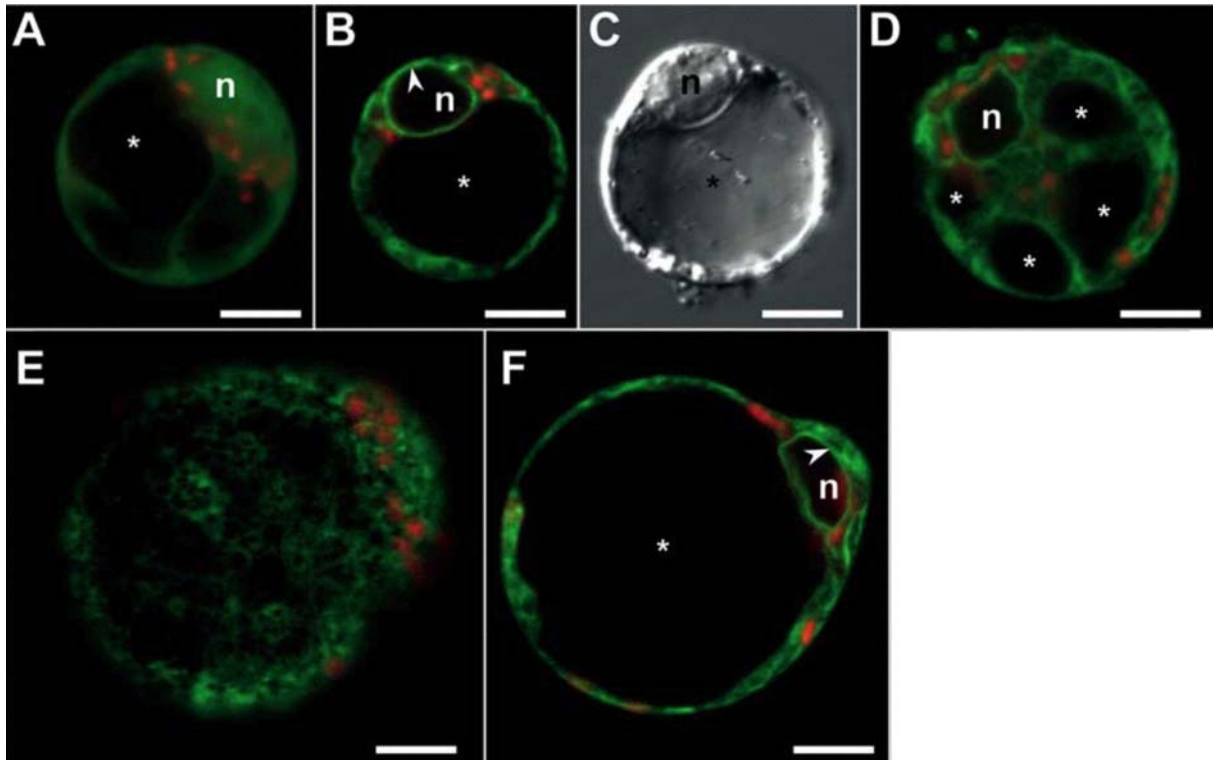


Figure 2

A-D : L'expression transitoire de la GFP a été analysée après 20 h. L'autofluorescence rouge (chlorophylle) et la fluorescence verte (GFP) sont affichées.

B et C : même cellule ; C : image de contraste d'interférence de Nomarski.

E : mise au point sur un plan tangentiel ; F : mise au point sur un plan transversal.

Astérisque = vacuole ; n = noyau ; pointes de flèches = enveloppe nucléaire ; barres = 10 μ m.

IV - B - 1 : Exploitez les images et proposez deux hypothèses explicatives quant à vos observations.

Réponse à la question IV-B-1

Nom :

Prénom :

salle n° :

Des cellules de Tabac sont cultivées et modifiées via le plasmide d'*Agrobacterium tumefaciens* pour exprimer l'ADNc de *BobTIP26-1::GFP*. Une analyse en microscopie confocale révèle l'expression du gène inséré (figure 3 ci-dessous).

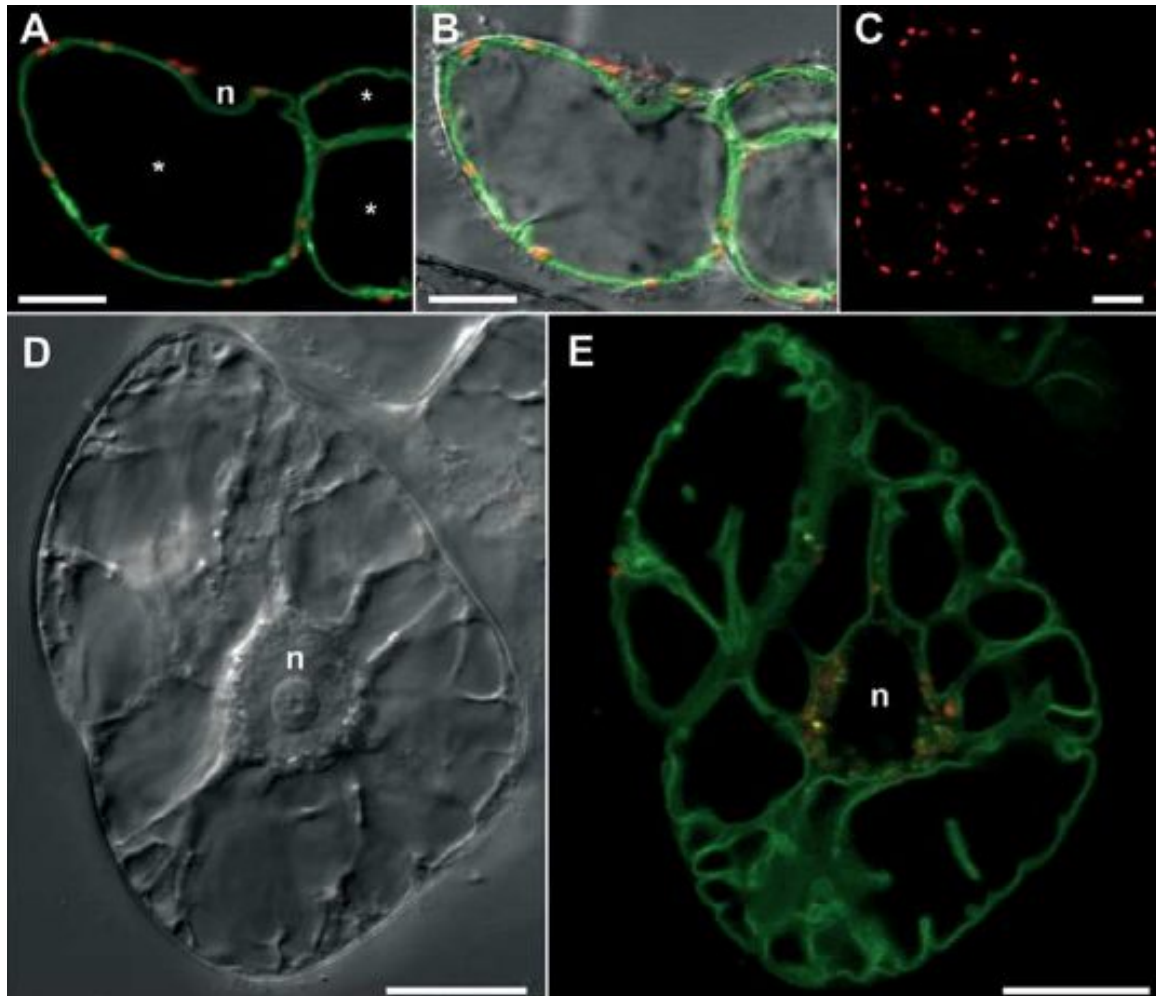


Figure 3

A : cellules de cal exprimant *BobTIP26-1::GFP* en microscopie confocale. La fluorescence verte est celle de la GFP, la fluorescence rouge est celle de la chlorophylle.

B : image de A superposée à la vue en contraste de phase (Nomarski)

C : cellules de cal non transformées (WT)

D : jeune cellule (3 jours) de tabac cultivée en suspension vue en contraste de phase (Nomarsky)

E : cellule D visualisée en microscopie confocale

Barres : 25 μ m.

Nom :

Prénom :

salle n° :

IV - B - 2 : Quelle différence principale avec la figure 2 observez-vous quant à la localisation de la protéine de fusion ? Émettez une hypothèse qui pourrait expliquer ces différences.

Réponse à la question IV-B-2

Pour évaluer l'impact physiologique de l'expression de *BobTIP26-1::GFP* sur les cellules transgéniques de tabac, on compare la taille de protoplastes (A) préparés à partir de cellules de tabac non transformées (barres noires) et transformées par *BobTIP26-1::GFP* (barres grises). D'autre part, les protoplastes non transformés (B) et les protoplastes transformés par *BobTIP26-1::GFP* (C) ont aussi été montés dans une chambre de comptage pour les mesurer (figure 4). Les diamètres sont exprimés en μm .

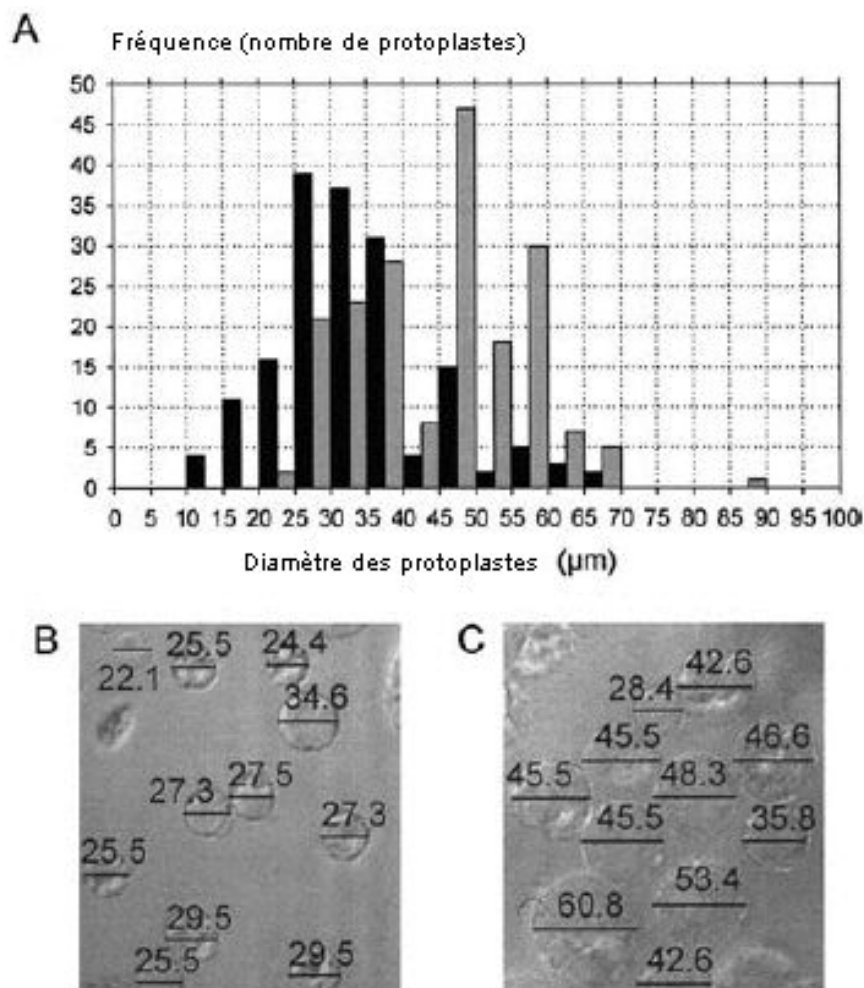


Figure 4

Nom :

Prénom :

salle n° :

IV - B - 3 : Exploitez les documents proposés figure 4.

Réponse à la question IV-B-3

IV - C : Concluez en faisant un bilan de l'ensemble de vos réponses aux parties A et B.

Réponse à la question IV-C