

## **BIOLOGIE**

Durée 3 heures

**L'usage de la calculatrice, d'abaques et de tables est interdit pour cette épreuve.**

*Si, au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il le signale sur sa copie et poursuit sa composition en expliquant les raisons des initiatives qu'il a été amené à prendre.*

*Chaque candidat est responsable de la vérification de son sujet d'épreuve : pagination et impression de chaque page. Ce contrôle doit être fait en début d'épreuve. En cas de doute, il doit alerter au plus tôt le chef de centre qui vérifiera et éventuellement remplacera son sujet.*

L'épreuve comprend deux parties indépendantes comptant chacune pour la moitié de la note.

Première partie : question de synthèse

**La photosynthèse : un métabolisme autotrophe chez les végétaux chlorophylliens.**

## Deuxième partie : étude de documents

### - Les nodosités racinaires des Fabacées : une interaction particulière –

Les racines des Fabacées (trèfle, lupin, soja, luzerne, pois, haricot, genêt, ajonc, cytise, etc.) portent des nodosités dans lesquelles sont installées des bactéries du genre *Rhizobium*. Cette observation laisse suggérer une interaction particulière entre plante et bactérie.

On cherche à mettre en évidence les mécanismes aboutissant à cette interaction et à démontrer sa nature précise.

#### LA RECONNAISSANCE INTERSPECIFIQUE

1-A partir du document 1, démontrez le rôle essentiel des facteurs Nod dans l'élaboration de cette interaction.

2- A partir du document 2, quelle semble être la condition nécessaire à l'induction d'une surexpression de ces facteurs par les bactéries ?

3-A partir des documents 1 et 2, peut-on dire que les facteurs Nod exprimés par les bactéries sont spécifiques de l'espèce végétale avec laquelle elles réalisent une interaction ?

DOCUMENT 1 : Réponses de deux hôtes végétaux à différents génotypes bactériens pour les facteurs Nod.

Génotype Bactérien	Réponse des Hôtes		Nature des facteurs Nod produits
	Luzerne	Vesce	
sauvage	+	-	Facteur Nod de type 1
Nod C-	-	-	Aucun facteur Nod produit
Nod H-	-	+	Facteur Nod de type 2

**Facteurs Nod** : protéines synthétisées par les bactéries de type *Rhizobium*

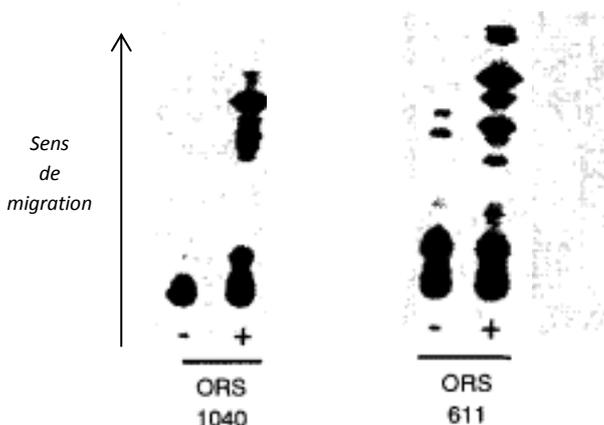
**Luzerne et Vesce** : deux plantes de la famille des Fabacées

**+** : Formation de nodosité sur les racines

**-** : Absence de nodosité sur les racines

D'après Duhoux

DOCUMENT 2 : Séparation en chromatographie sur couche mince des facteurs Nod de souches bactériennes spécifiques de l'Acacia et de *Sesbania*, 2 plantes de la famille des Fabacées



ORS 1040 : souches de *Rhizobium* spécifiques de l'Acacia.

ORS 611 : souches de *Rhizobium* spécifiques de *Sesbania*.

(+) : bactéries incubées en présence d'un flavonoïde

(-) : bactéries incubées en absence de flavonoïde

La radioactivité est visualisée après 3 à 8 jours d'exposition avec un film Kodak X-OMAT K.

**Flavonoïdes** : composés synthétisés par les racines des fabacées

D'après BOIVIN, et 01. - Utilisation des facteurs Nod pour la caractérisation des *Rhizobium*

## LA PREMIERE REPONSE DU VEGETAL

4- A partir du document 3, décrivez ce que semblent provoquer les facteurs Nod sur les poils absorbants du végétal. Réalisez à partir de ce document des mesures judicieuses permettant de quantifier ces changements à l'échelle cellulaire.

Dès lors deux hypothèses peuvent être suggérées :

**Hypothèse A** : une mise en contact continue de facteur Nod est nécessaire à la déformation du poil absorbant, les bactéries doivent donc se trouver à proximité de celui-ci.

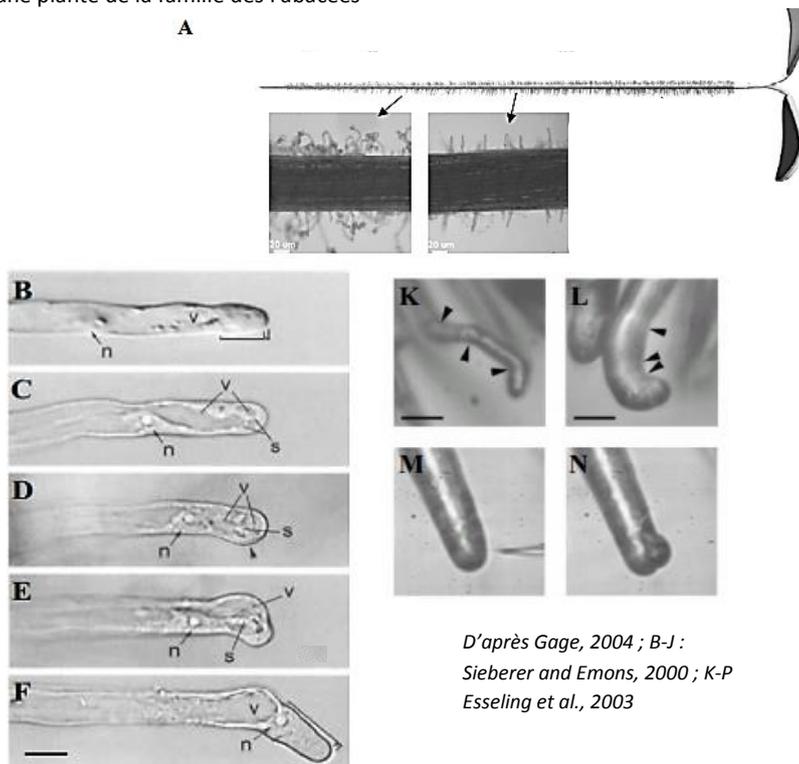
**Hypothèse B** : une mise en contact unique de facteur Nod suffit à induire la déformation du poil absorbant, les bactéries peuvent donc se trouver à distance de celui-ci.

5- A partir du document 3, invalidez une de ces deux hypothèses.

6- A partir du document 4, décrivez les réorganisations cellulaires responsables de la modification racinaire observée dans la question 4.

7- En quoi le document 4 permet-il de confirmer votre réponse à la question 5 ?

**DOCUMENT 3** : Réorientation de croissance des poils absorbants en réponse aux *Rhizobium* chez *Medicago truncatula*, la luzerne tronquée, une plante de la famille des Fabacées



D'après Gage, 2004 ; B-J :  
Sieberer and Emons, 2000 ; K-P  
Esseling et al., 2003

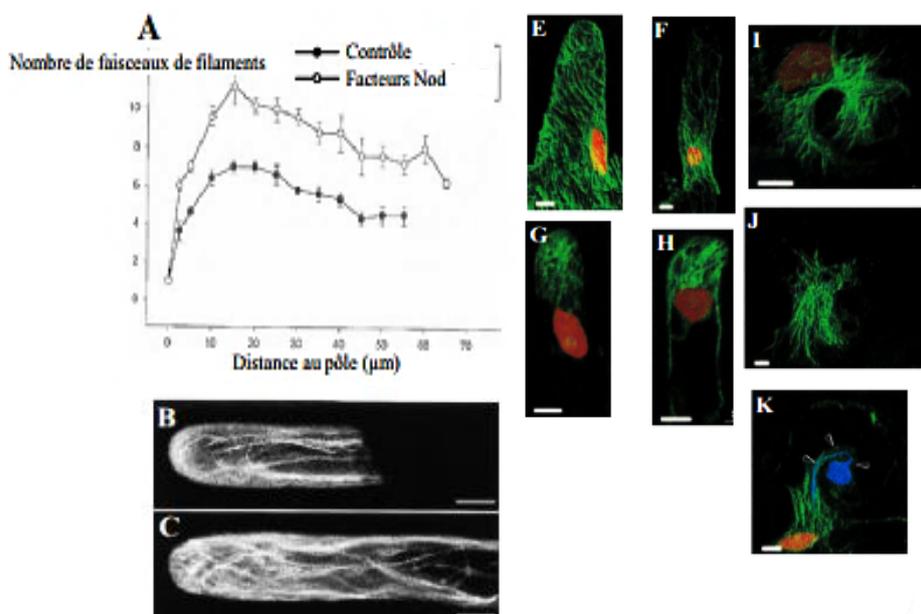
**A** : Photographies montrant les réponses des poils absorbants des différentes zones de *Medicago* suite à la présence de *S.meliloti* (*Rhizobium*)

**B-F** : Suivi photographique d'un poil absorbant après mise en contact avec des facteurs Nod ( $10^{-9}M$ ). **B** : Poils en fin de croissance juste après l'application des facteurs Nod. **C** : 5min après l'application, des traces cytoplasmiques traversent la vacuole. **D** : 105 min après l'application. **E** : 135 min après l'application. **F** : 210 min après l'application. n, noyau ; s, trace cytoplasmique ; v, vacuole. Barre – 20 µm.

**K-L** : Inoculations localisées répétées de facteurs Nod. **K** : Poil absorbant après plusieurs inoculations localisées de chaque côté du poil. **L** : Poils absorbants après trois inoculations localisées sur le même côté du poil. Les têtes de flèches montrent les zones d'inoculations localisées. Barre – 30 µm (K), 18 µm (L),

**M-N** : Photographie de l'extrémité du poil après inoculation localisée de facteurs Nod. **M** : avec une seule inoculation. **N** : avec des inoculations répétées.

**DOCUMENT 4** : Réorientation du cytosquelette en réponse aux *Rhizobium*



**A** : Densité moyenne des faisceaux de filaments d'actine en fonction de la distance au pôle (extrémité en croissance) dans un poil en fin de croissance avec ou sans application de facteurs Nod. **B-C** : Distribution des filaments d'actine et densité des filaments avec (C) ou sans (B) application de facteurs Nod pendant 15 minutes. Barres d'échelle : 10 µm.

**E-K** : Réorganisation du réseau de microtubules en réponse aux *Rhizobium* chez la luzerne. Immunolocalisation des microtubules en vert, les noyaux apparaissent en rouge et les bactéries en bleu. **E-I** : Photos d'un poil contrôle (E) à un poil en crosse de berger (I). **J**. Poil en crosse de berger juste avant la formation d'un cordon d'infection. **K**. Poils en crosse de berger avec marquage des bactéries. Barres d'échelle : 5 µm

D'après A-C : De ruijter et al., 1999 ; D : Miller et al., 1999 ; E-K : Timmers et al., 1999

**Remarque** : Les filaments d'actine et les microtubules sont des éléments du cytosquelette qui confèrent l'essentiel des propriétés architecturales et mécaniques de la cellule.

## LE DEVELOPPEMENT DU CORDON D'INFECTION

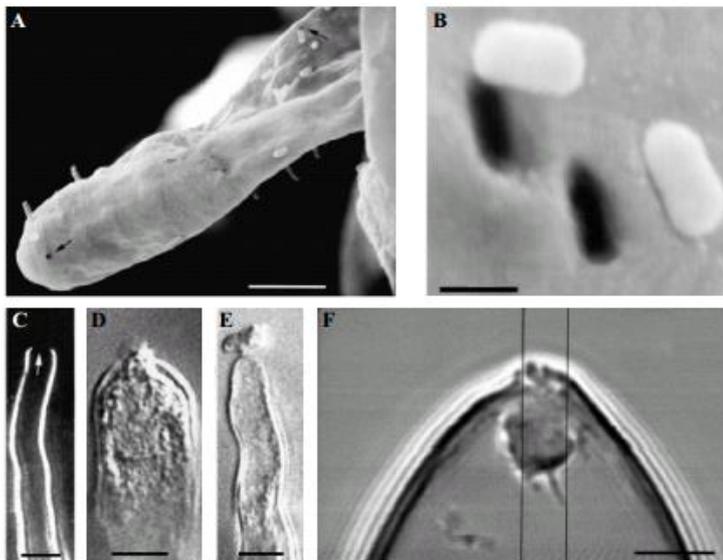
Au contact du poil absorbant, la bactérie semble éroder l'épiderme du végétal pour permettre sa pénétration.

Une hypothèse est avancée concernant l'origine de cette érosion : la bactérie possède un système enzymatique capable d'éroder n'importe quelle zone de la paroi végétale.

8- A partir de l'étude du document 5, discutez de la recevabilité de cette hypothèse en comparant les tailles des orifices. (Une variation de +/- 2 µm n'est pas significative)

9- A partir du document 6, montrez le rôle du cordon d'infection ainsi que la participation du végétal à son élaboration.

### DOCUMENT 5 : Création d'un site d'entrée de *Rhizobium* dans le poil absorbant



**A-B :** Images de microscopie électronique de la surface épidermique du trèfle inoculé par *R. leguminosarum* bv *trifolii* ANU843.

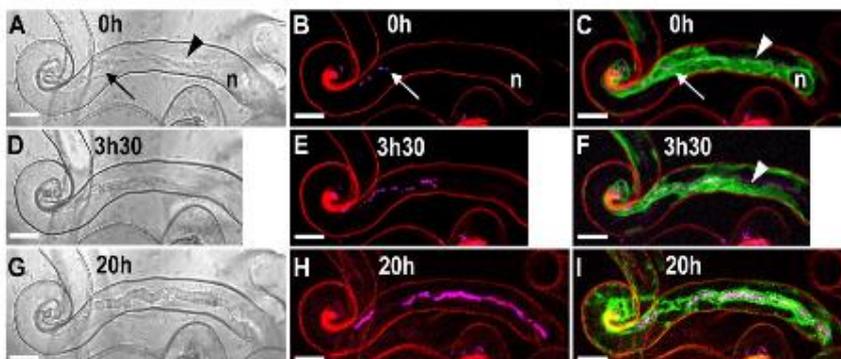
Barres d'échelle : 5 µm (A) ; 1 µm (B).

**C-F :** Formation d'un trou au sommet du poil de trèfle traité par des enzymes isolées de *R. leguminosarum* bv *trifolii* ANU843 (C2-cellulases) dégradant les polysaccharides. C : Poil absorbant contrôle en lumière polarisée. La paroi végétale a une structure cristalline (anisotropique) le long du poil et non cristalline (isotropique) à son sommet. D-E. Images prises au microscope à contraste interférentiel de poils traités par des C2-cellulases. Une partie du cytoplasme du poil est expulsée par le trou créé par les enzymes. F. Mesure par analyse digitale du diamètre du trou créé par les cellulases.

Barres d'échelle : 12 µm (C, E) ; 6 µm (D) ; 5 µm (F).

D'après A-F : Mateos et al., 2001 ; G-I : Rodriguez-Llorente et al., 2003.

### DOCUMENT 6 : Cytoarchitecture de la croissance du cordon d'infection



**A, D, G :** images prises au microscope à contraste interférentiel montrant le cordon d'infection (les flèches pointent les bactéries et les têtes de flèche marquent le réticulum endoplasmique granuleux)

**B, E, H :** images en fluorescence. La paroi végétale est marquée par la fluorescence rouge alors que la paroi bactérienne est marquée par la fluorescence violette.

**C, F, I :** superposition des images B, E et H avec une fluorescence verte marquant le réticulum endoplasmique granuleux.

**Remarque :** le réticulum endoplasmique granuleux est un compartiment intracellulaire impliqué dans la traduction protéique.

## LA MISE EN PLACE DES SYMBIOSOMES

Une fois internalisées, les bactéries, désormais nommées bactéroïdes sont contenues dans des symbiosomes délimités par une membrane péribactéroïdienne d'origine végétale.

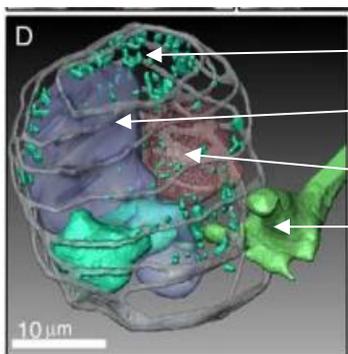
10- A partir de l'étude de document 7 et de vos connaissances, indiquez la correspondance des légendes du document 8 sur votre copie.

11- A partir du document 9, quelles différences morphologiques observez-vous entre les bactéries libres et les bactéroïdes ? (Justifiez votre réponse)

12- A partir du document 9, comparez le nombre de cellules étudiées puis comparez la quantité d'ADN moyen par cellule entre la forme libre et la forme bactéroïde des bactéries. Quel peut-être le mécanisme à l'origine de cette différence ?

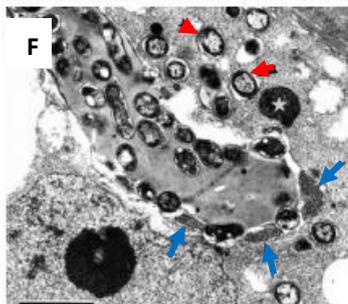
13- Proposez un schéma d'interprétation simplifié du cycle cellulaire des bactéroïdes.

**DOCUMENT 7:** Internalisation des bactéries et formation des symbiosomes



**Bactéries libérées**  
**Vacuole**  
**Noyau**  
**Cordon d'infection**

**D:** Images de reconstruction. Le cordon d'infection est indiqué en vert ; la vésicule d'infection et les bactéries libérées en bleu turquoise ; la vacuole en bleu ; le noyau en rouge et en gris la paroi de la cellule végétale.

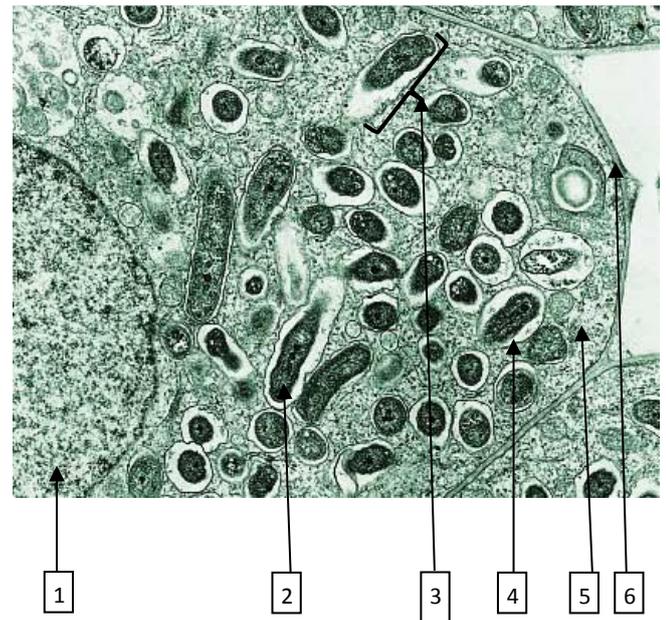


**F.** Section montrant la libération de bactéries à l'extrémité d'un cordon dépourvu de paroi dans des cellules de la zone d'infection d'un nodule de luzerne. Les restes de parois (flèches bleues) et les bactéroïdes (têtes de flèche rouges) sont visibles.

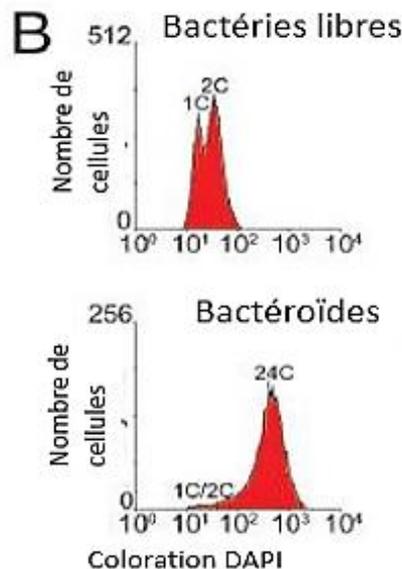
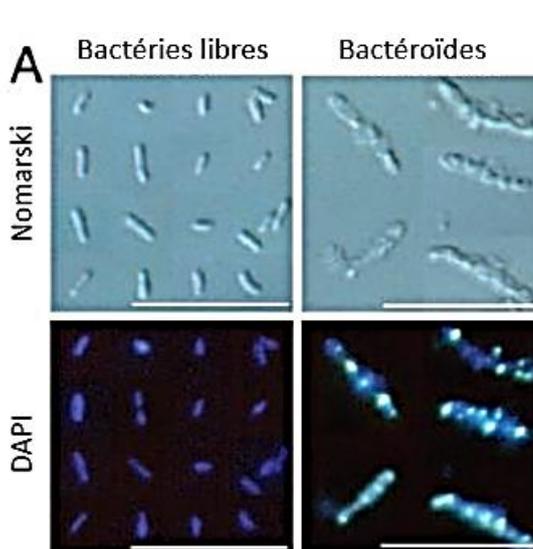
Barre d'échelle : 2.5 µm

Monahan-Giovanelli et al., 2006 ; F : Timmers et al., 1998 ; G : Brewin, 2004.

**DOCUMENT 8:** Photographie d'une cellule racinaire dans un nodule de Fabacée observée au microscope électronique à transmission



**DOCUMENT 9:** Etude comparative entre forme bactérienne libre et forme bactéroïdienne des *Rhizobium*



**A. ligne supérieure :** photographie des bactéries observées au microscope à contraste interférentiel

**A. ligne inférieure :** mêmes échantillons observés au microscope à fluorescence après coloration DAPI

Barres d'échelle : 10 µm

**B.** Evaluation de la coloration DAPI par cytométrie en flux. (C=Chromatides)

**Remarque :** le DAPI est une molécule fluorescente qui se lie fortement à l'adénine et à la thymine. La cytométrie en flux permet de quantifier précisément le nombre de cellule et l'intensité d'une coloration.

# LE METABOLISME DES BACTEROIDES

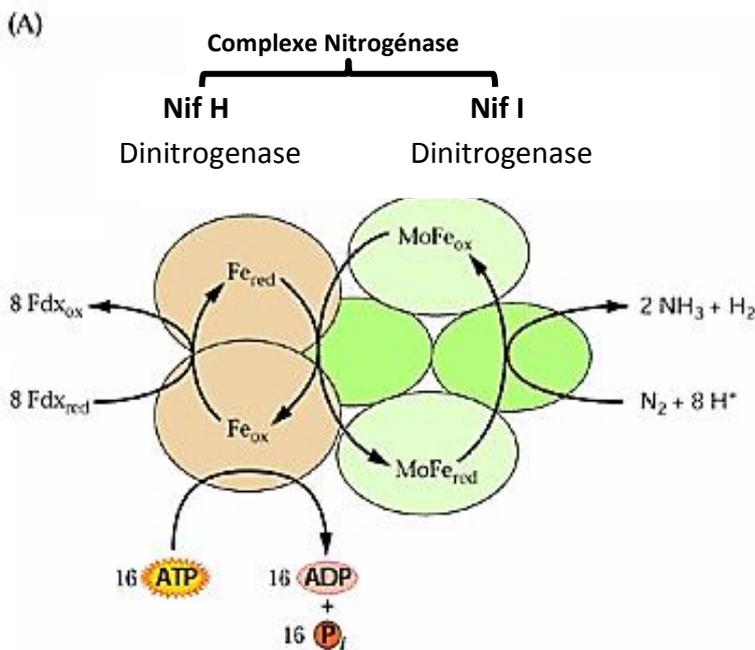
Les bactéroïdes synthétisent une enzyme particulière : la nitrogénase.

14- A partir du document 10, indiquez la réaction chimique catalysée par la nitrogénase des bactéroïdes.

15 A partir des documents 10 et 11, justifiez-le fait que l'interaction avec *Rhizobium* puisse représenter un avantage pour les Fabacées.

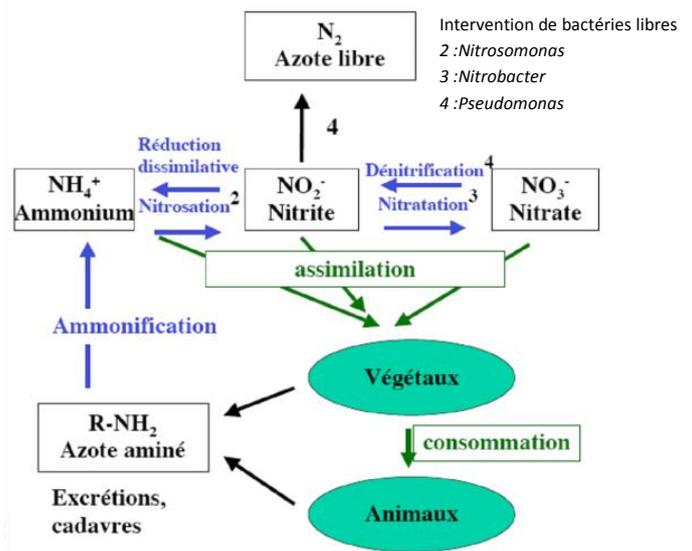
16- A partir des documents 12 et 13, expliquez quelle condition est nécessaire à la réalisation du métabolisme des bactéries et comment celle-ci est-elle assurée à l'intérieur du nodule.

DOCUMENT 10 : Modélisation (B) et schéma de fonctionnement (A) de la nitrogénase



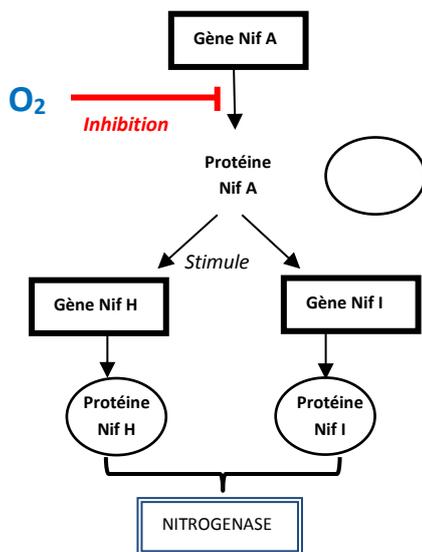
D'après Seefeldt et al. (2004)

DOCUMENT 11 : Cycle de l'azote simplifié



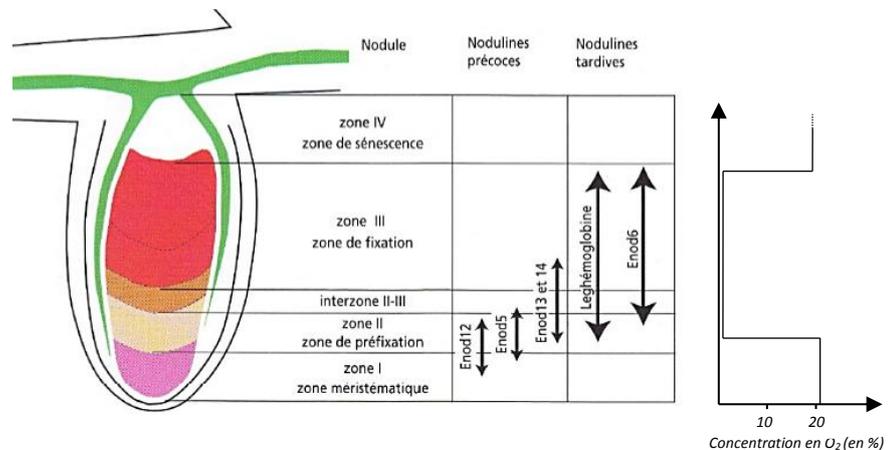
D'après microbiol.fr

DOCUMENT 12 : Mécanisme de synthèse de la nitrogénase



D'après Dixon and Kahn, 2004.

DOCUMENT 13 : Schéma d'une coupe longitudinale de nodule avec caractéristiques moléculaires et physiques

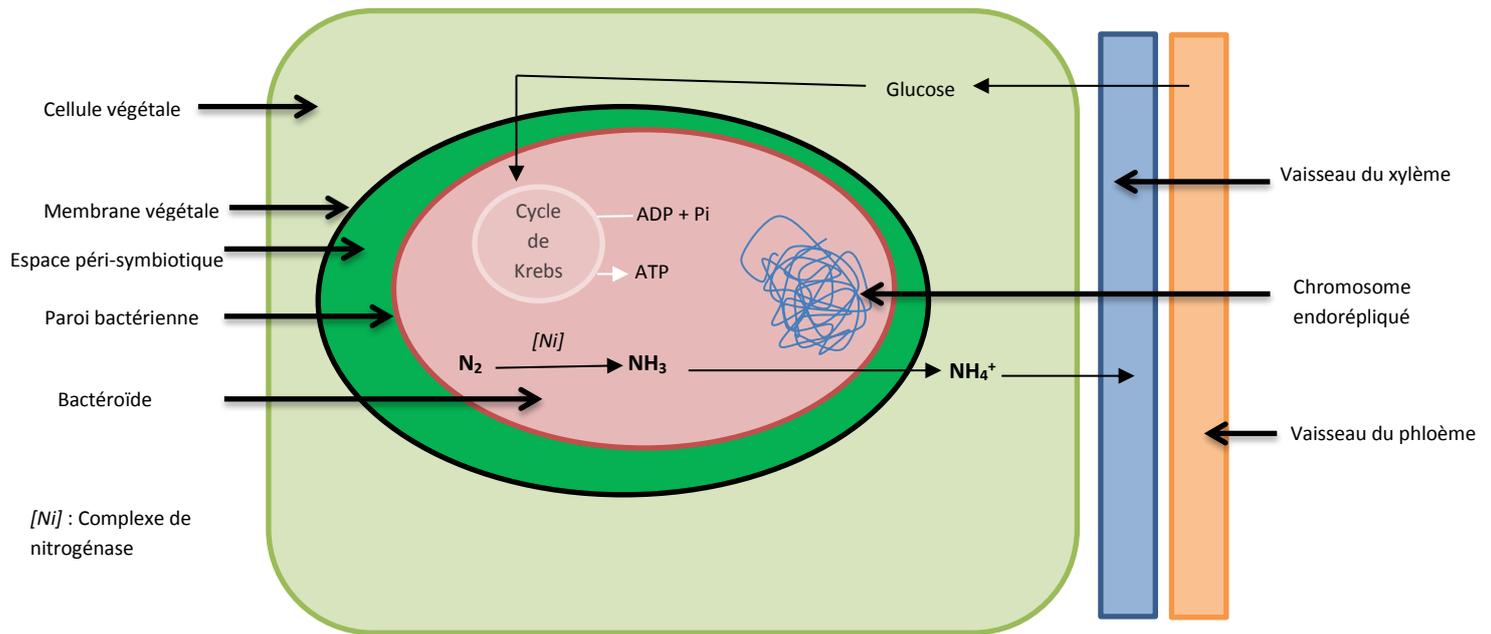


D'après Duhoux

Remarque: Les nodulines sont les protéines codées par les gènes Nod

## LES ECHANGES AU CŒUR DE L'INTERACTION

DOCUMENT 14: Schéma des interactions métaboliques entre bactéroïdes et cellules végétales infectées.



17-A partir du document 14, montrez que les échanges entre bactéroïdes et cellules végétales sont à bénéfices réciproques.

## BILAN

La définition de symbiose est souvent discutée notamment à travers les nuances des définitions anglo-saxonnes et françaises. De manière générale, on peut proposer la définition synthétique suivante : une symbiose est une interaction hétérospécifique, relativement durable, à bénéfices réciproques permis par une interface coproduite.

18- A partir de la définition ci-dessus et d'exemples précis prélevés dans votre étude, démontrez que l'interaction *Rhizobium*/Fabacées est bien une relation symbiotique.

- FIN DE L'ÉPREUVE -