

## **BIOLOGIE** **Épreuve B**

Durée : 3 heures 30 minutes

*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.*

**A partir de l'exploitation des documents et de vos connaissances, étudiez quelques aspects de la vie d'une feuille d'Angiosperme.**

- Une introduction et une conclusion générale sont attendues.
- Les documents peuvent être découpés et collés sur la copie à condition d'être légendés, commentés, exploités, des croquis légendés peuvent également être proposés.
- L'exposé doit se limiter aux trois thèmes abordés par les documents, qui font l'objet de trois parties indépendantes.
  
- La partie I comporte 5 documents sur le développement d'une jeune feuille. Les sous-parties A et B sont indépendantes.
- La partie II comporte 3 documents sur un aspect de la physiologie de la feuille adulte.
- La partie III comporte 2 documents sur quelques caractéristiques de la sénescence d'une feuille.

**Rappel :**

*Epiderme supérieur = épiderme adaxial = épiderme ventral*

*Epiderme inférieur = épiderme abaxial = épiderme dorsal*

## PARTIE I : Morphogenèse et développement vasculaire d'une feuille

D'après R. Waites and A. Hudson, *Development*, 1995 ; McHale and E.Koning , *The Plant cell*, 2004 ; Mattsson and al, *Plant Physiology*, 2003.

### SOUS-PARTIE A :

Parmi les différents gènes intervenant au cours du développement, on s'intéresse au gène *PHAN* dont l'implication dans la morphogenèse de la feuille a fait l'objet de nombreuses études.

### Document I.1 – Effet de la mutation *phan* sur la morphologie d'une feuille d'Angiosperme

Les feuilles du mutant *phantastica* (*phan*) d'*Anthirrhinum majus* sont utilisées pour comprendre la mise en place de la polarité dorso-ventrale des organes à symétrie bilatérale.

A, B : morphologie du sauvage

A : extrémité caulinare de la plante.

B : feuille prélevée sur le deuxième nœud.

C, D, E : morphologie du mutant

C : extrémité caulinare avec feuille en aiguille et feuille en forme de coeur

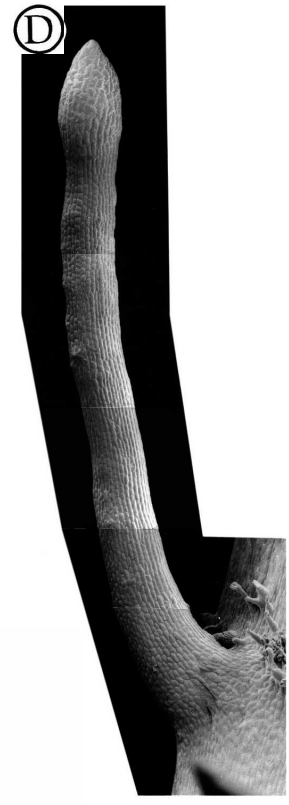
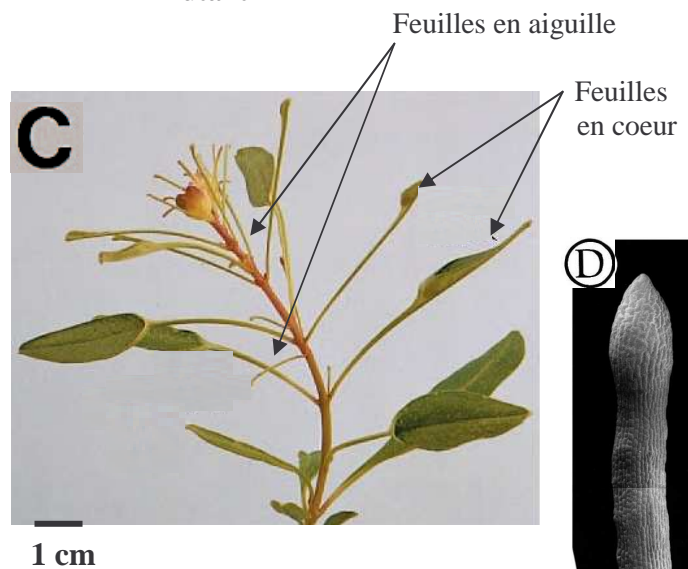
D : feuille en aiguille. Barre d'échelle : 770  $\mu\text{m}$ .

E : feuille en cœur prélevée sur un nœud équivalent à celui du sauvage (B)

Sauvage



Mutant



**Document I.2 – Effet de la mutation *phan* sur l'anatomie d'une jeune feuille**

A, B, C, D, E : sauvage

A : coupe transversale au niveau de la nervure principale d'une jeune feuille.

B : épiderme supérieur au niveau de la nervure centrale (nc).

C : épiderme supérieur au niveau des expansions latérales.

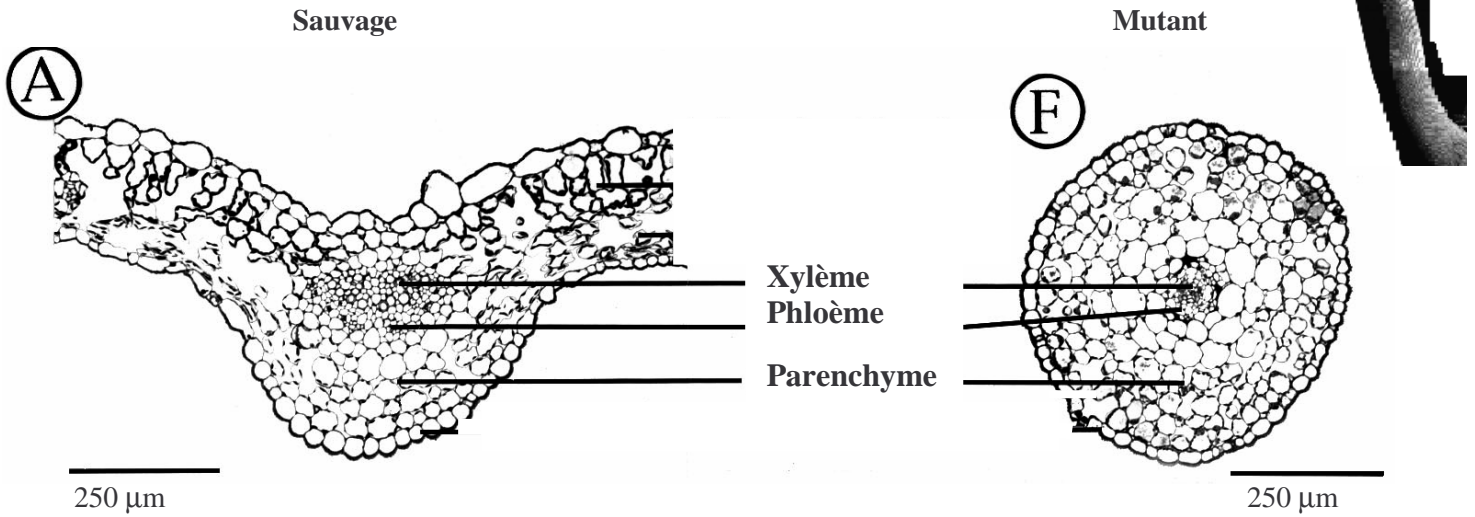
D : épiderme inférieur au niveau de la nervure centrale.

E : épiderme inférieur au niveau des expansions latérales.

F, G : mutant

F : coupe transversale d'une feuille en aiguille.

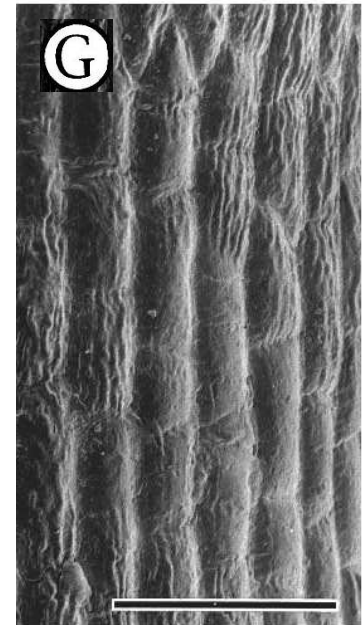
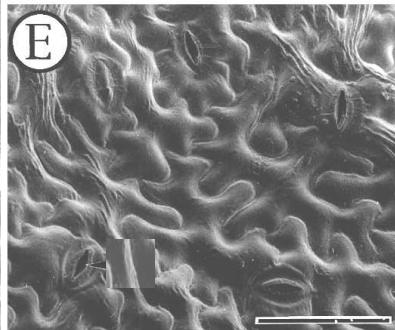
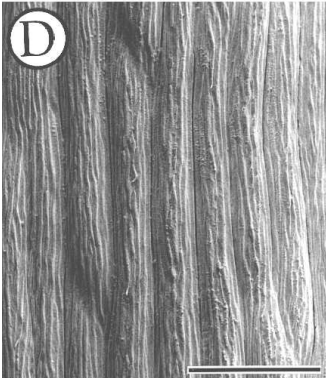
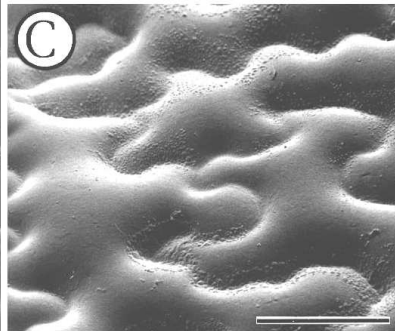
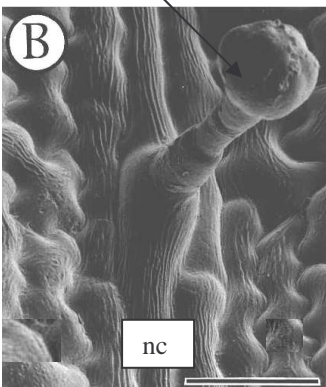
G : épiderme de la même feuille en aiguille.



250 µm

250 µm

poil épidermique



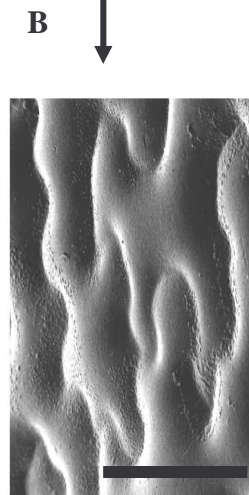
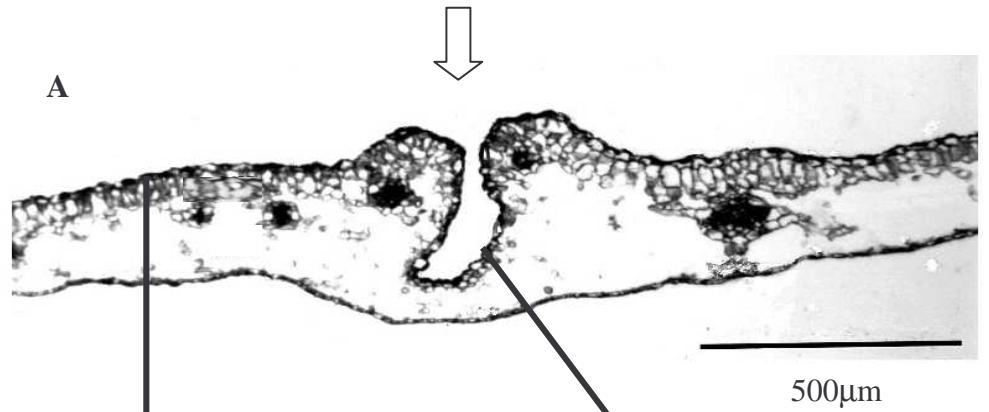
Barre d'échelle des clichés B, C, D, E et G : 50 µm.

**Document I.3 – Anatomie d'une feuille en cœur portée par un mutant *phan* d'*Anthirrhinum majus***

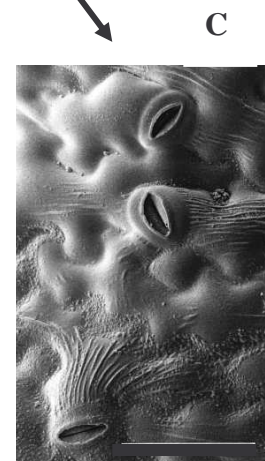
A : coupe transversale d'une feuille en cœur au niveau d'une dépression (indiquée par la flèche large).

B : épiderme supérieur encadrant la dépression.

C : épiderme au niveau de la dépression centrale.



50 μm



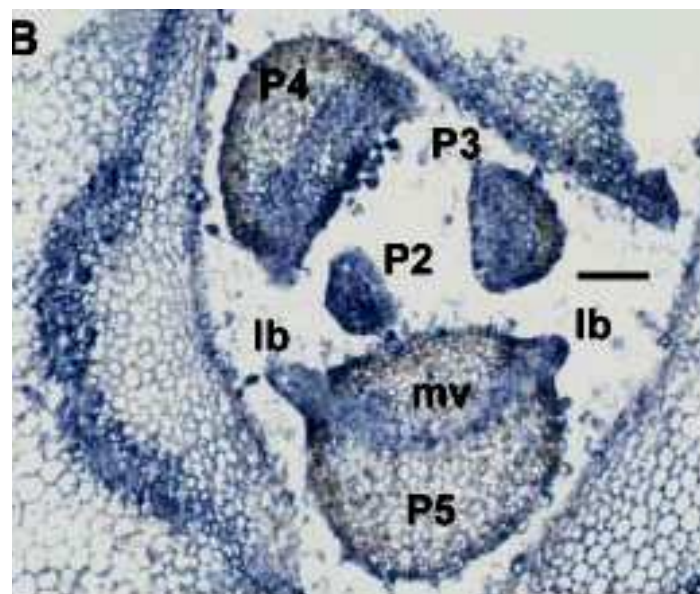
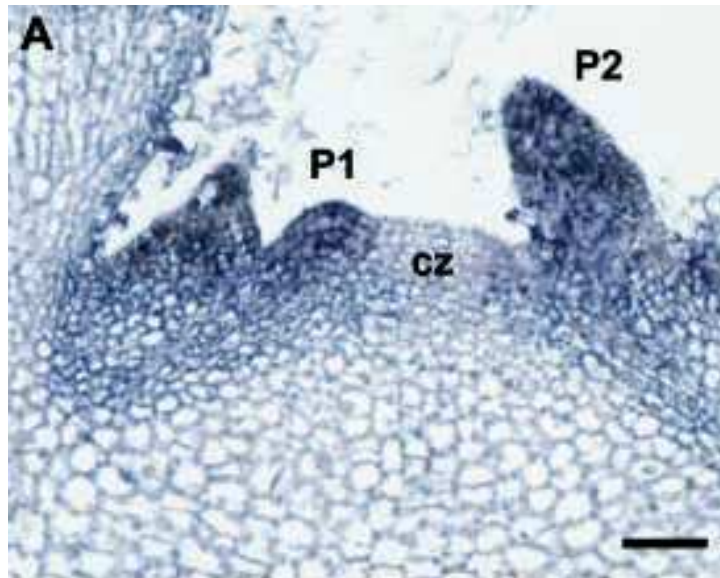
50 μm

#### Document I.4 – Profil d'expression du gène *PHAN* dans l'apex caulinaire d'une plante sauvage

Hybridation in situ avec une sonde complémentaire d'une séquence spécifique de l'ARNm de *PHAN*. Le marquage dû à la sonde correspond aux régions bleu foncé sur les clichés.

A : coupe longitudinale du méristème (cz : zone centrale, P1 et P2 respectivement premier et second primordium)

B : coupe transversale du méristème (sont visibles : les primordia 2 à 5, P2 à P5, les débuts d'expansion latérale foliaire, lb, la nervure principale, mv)



Barres d'échelle pour les clichés A et B : respectivement 60 et 80  $\mu\text{m}$ .

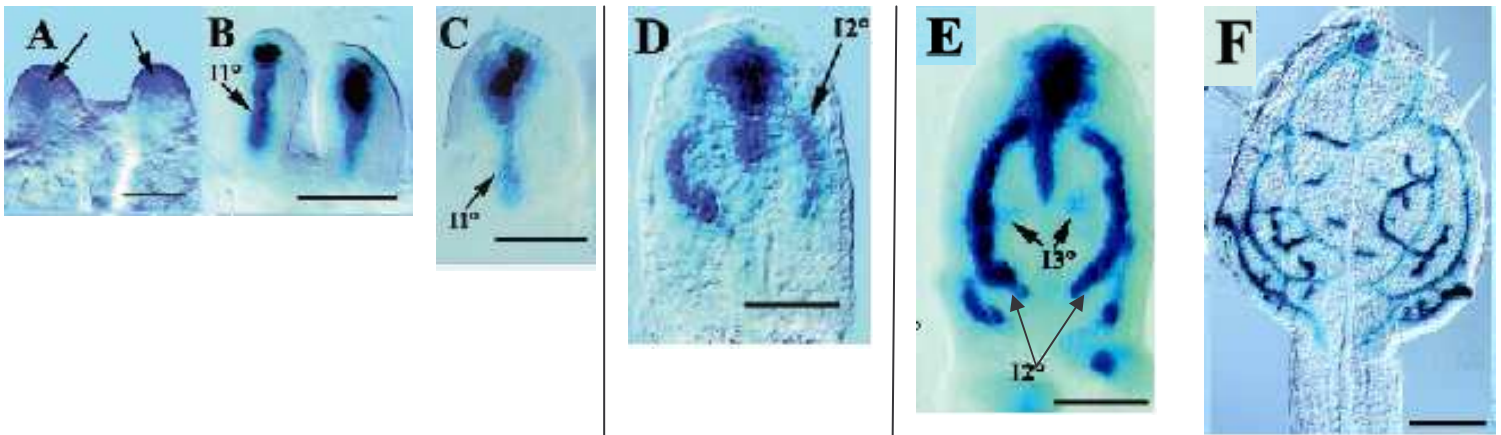
**SOUS-PARTIE B** : On étudie la mise en place du réseau vasculaire d'une jeune feuille. L'étude est menée sur un autre type d'Angiosperme : *Arabidopsis thaliana*.

**Document I.5 – Implication de l'auxine dans le développement du réseau vasculaire**

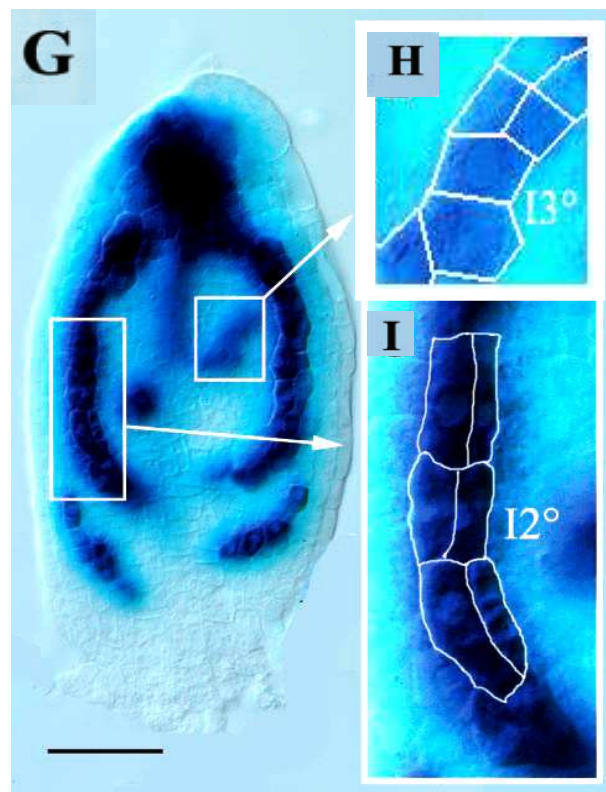
La distribution de l'auxine est suivie grâce à une construction moléculaire comprenant un promoteur activable par l'auxine et un gène permettant l'expression de la  $\beta$ -glucuronidase. Cette construction permet d'obtenir une coloration (grâce à l'expression du gène de la  $\beta$ -glucuronidase) uniquement dans les tissus où le promoteur est activé grâce à la présence d'auxine.

**I. 5.a** : Expression de la  $\beta$ -glucuronidase au cours du développement d'un primordium foliaire d'*Arabidopsis thaliana*.

- A : vue latérale de primordia deux jours après la germination.
- B : quelques heures plus tard.
- C : photo de la face abaxiale du primordium après deux jours de germination.
- D, E, F : même face, respectivement, 3, 4 et 5 jours après la germination.
- De A à E, la barre d'échelle indique 50  $\mu$ m ; en F : 200  $\mu$ m.



Apparition de nervures primaires (I1°).....puis secondaires (I2°) ...puis tertiaires (I3°)



G : aspect des cellules des nervures en formation sur un primordium foliaire de 4 jours.  
 Mise en place des nervures secondaires (I2°) et  
 Mise en place des nervures tertiaires (I3°).

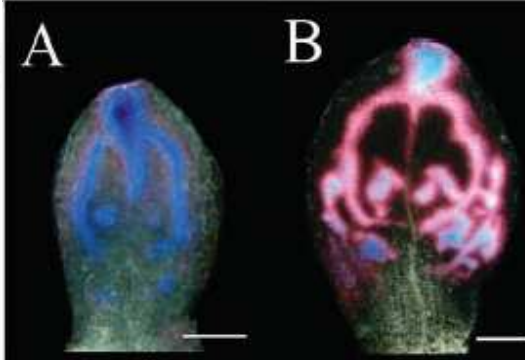
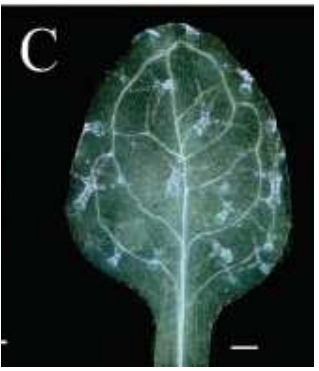
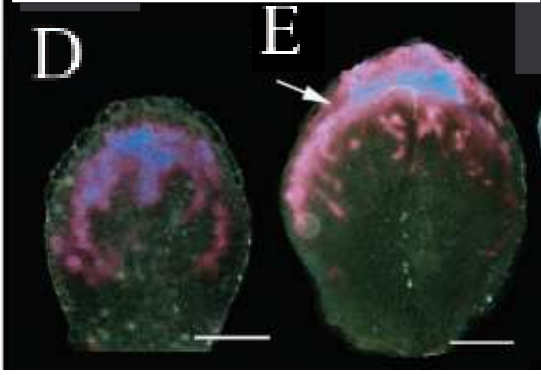

H } Détails de G  
 I }

Barre d'échelle : 50  $\mu$ m

**I. 5.b :** Les clichés suivants montrent, par une méthode de coloration, la distribution d'auxine en présence ou non d'acide 1-N-naphthylphtalamique (NPA) qui bloque le déplacement d'auxine.

Les clichés sont pris 3 ou 4 jours après germination des graines.

NPA : acide 1-N-naphthylphtalamique absent du milieu de culture ou présent à la concentration de 1  $\mu\text{M}$ .

<p>Distribution d'auxine dans un primordium 3 ou 4 jours après germination</p> <p>La concentration en auxine est variable : la coloration bleue marque de fortes concentrations en auxine et la coloration rose marque de plus faibles concentrations.</p>	<p>Organisation du réseau vasculaire 7 jours après germination</p>
<p style="text-align: center;">3                      4</p> <p><b>Milieu sans NPA</b></p> 	
<p><b>NPA à 1 <math>\mu\text{M}</math></b></p> 	

Barre d'échelle :

A, D : 50  $\mu\text{m}$

B, E : 100  $\mu\text{m}$

C, F : 200  $\mu\text{m}$

## PARTIE II : Diffusion de CO<sub>2</sub> dans une feuille et efficacité photosynthétique

D'après Morison and al, *Plant Physiology*, 139, 2005, Lawson and Morison, *New Phytol*, 169, 2006

### Document II.1 – Variation de l'efficacité photosynthétique en fonction de la concentration en CO<sub>2</sub> ambiant, au niveau d'une feuille entière

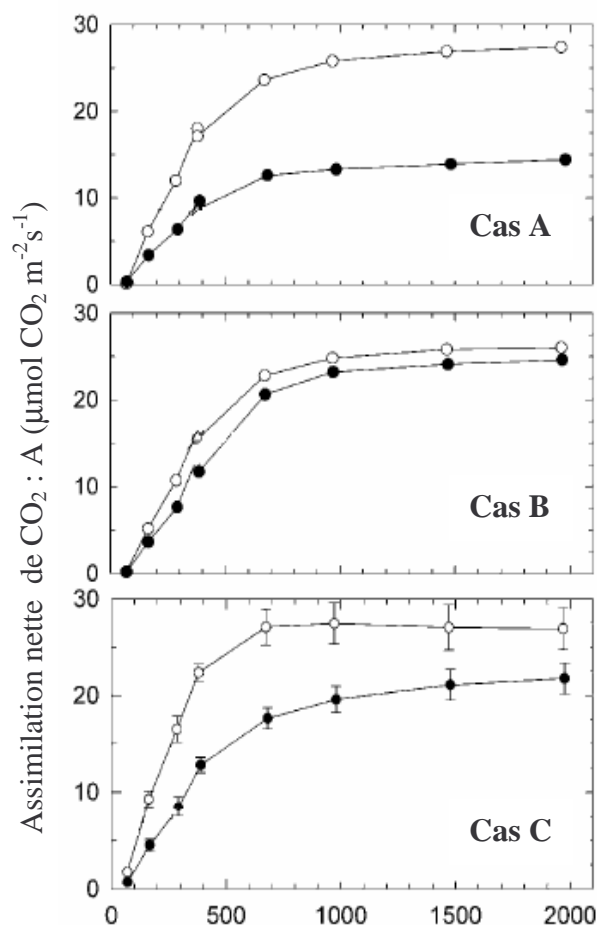
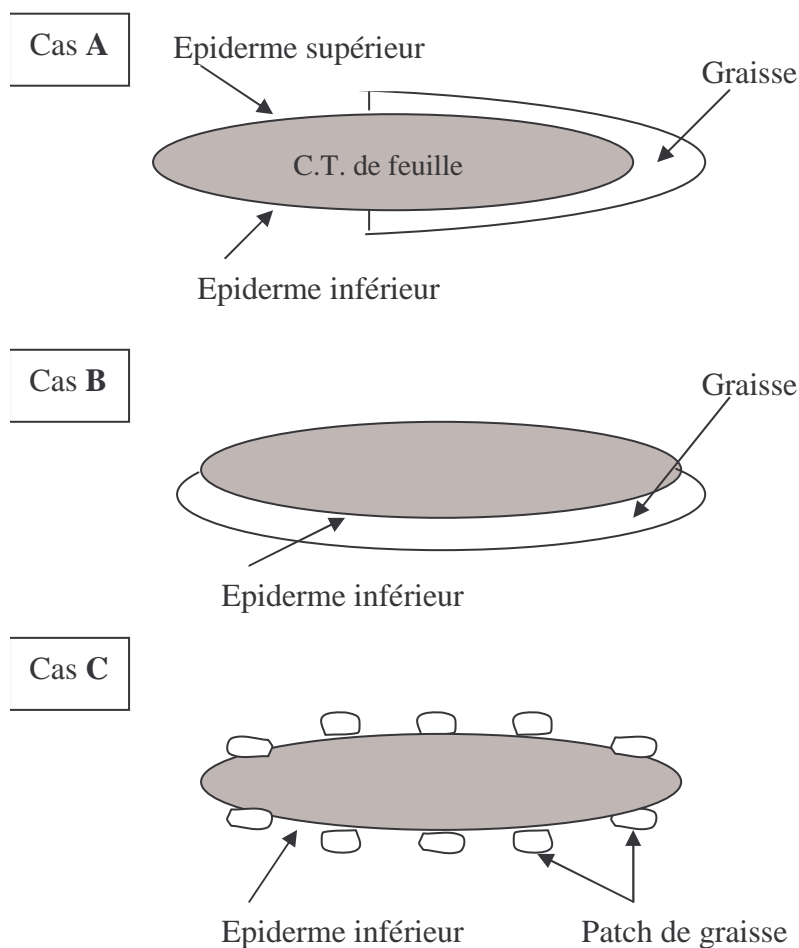
L'étude est réalisée sur le Tournesol dont les feuilles présentent une quantité équivalente de stomates sur les faces supérieure et inférieure.

Afin d'évaluer la diffusion latérale du dioxyde de carbone dans une feuille de Tournesol, l'assimilation nette de CO<sub>2</sub> a été mesurée au niveau de feuilles qui ont, partiellement, été enduites de graisse de silicone (voir schémas).

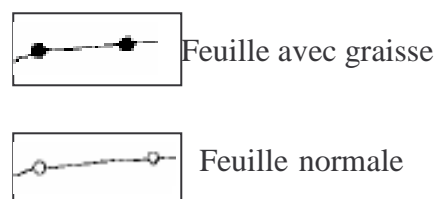
Cas A : une moitié de feuille a été recouverte de graisse sur les faces supérieure et inférieure.

Cas B : feuille entièrement recouverte de graisse sur sa face inférieure.

Cas C : patches de graisse (morceaux de 4 mm de diamètre) positionnés régulièrement sur la feuille et couvrant une moitié de la surface foliaire.



Fraction molaire de CO<sub>2</sub> dans l'air ambiant,  $c_a$ , en  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$   
 $c_a$  est donc mesurée en micromoles de CO<sub>2</sub> par mole d'air.

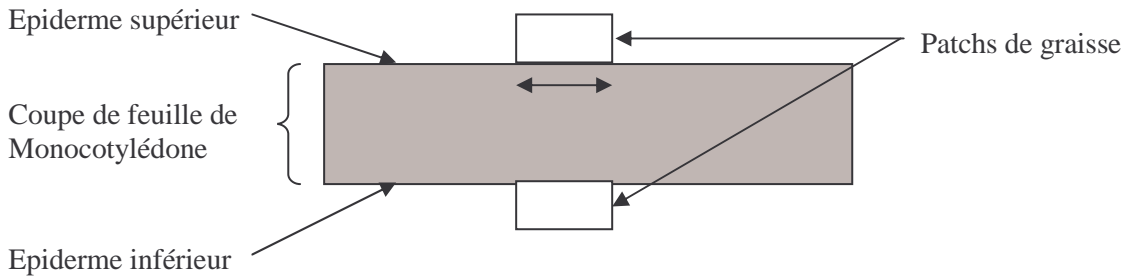




**Document II.2 – Efficacité photosynthétique mesurée au niveau de surfaces foliaires restreintes**

On mesure l'activité photosynthétique d'une feuille d'Angiosperme Monocotylédone, *Commelina communis*.

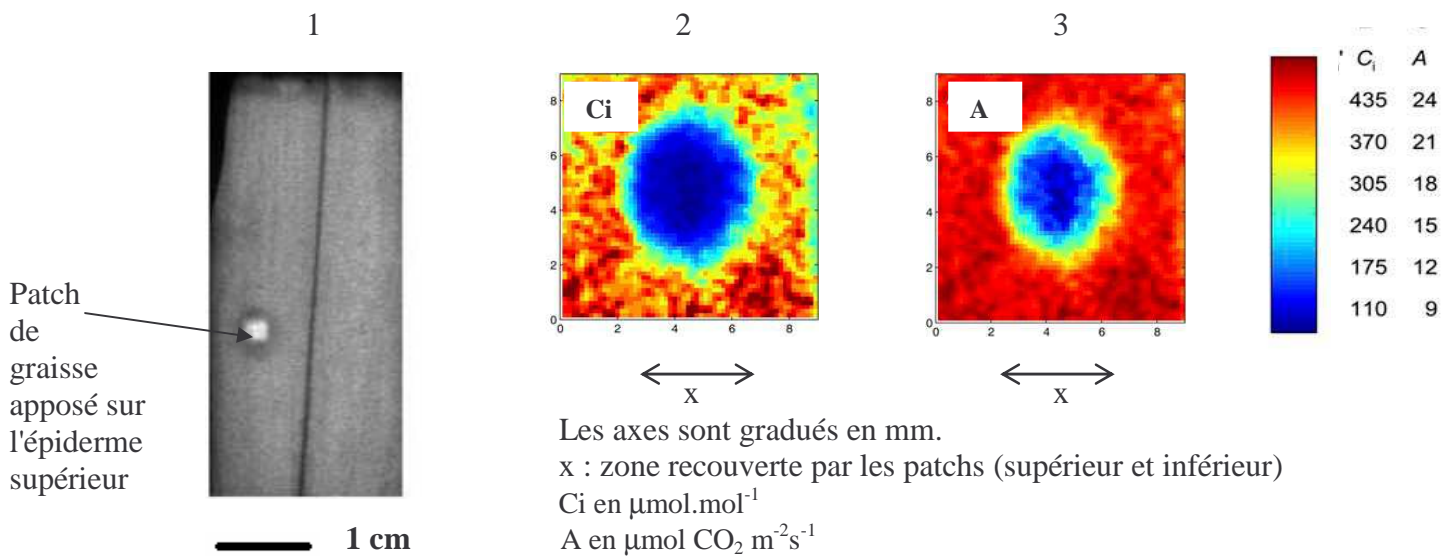
Deux patches de graisse (d'un diamètre de 4 mm) sont appliqués sur les deux faces épidermiques, à l'aplomb l'un de l'autre. A ces endroits la diffusion verticale de CO<sub>2</sub> est bloquée par la graisse mais une diffusion latérale de CO<sub>2</sub> reste possible à partir des stomates adjacents, non obturés par la graisse.



1 : aspect morphologique d'une des deux surfaces foliaires de *Commelina communis*, avec, en plus clair, la zone d'apposition du patch de graisse.

2 et 3 : enregistrement de la fraction molaire de CO<sub>2</sub> dans l'air des espaces intercellulaires (ci) et de l'assimilation nette en CO<sub>2</sub> (A) au niveau des patches de graisse.

Ci est mesurée en micromoles de CO<sub>2</sub> par mole d'air.



**Document II.3 – Comparaison des fractions molaires de CO<sub>2</sub> dans l'air des espaces intercellulaires d'une feuille de Monocotylédone et de dicotylédone**

La comparaison est menée entre la feuille de Monocotylédone, *Commelina communis* et la feuille de dicotylédone, *Phaseolis vulgaris*.

**II.3.a :** Le tableau ci-dessous compare les données anatomiques des deux espèces :

	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. communis</i>
Epaisseur de la feuille (µm)	410 (+/- 33)	460 (+/- 30)
Porosité (%)	36.4 (+/- 1.4)	40.9 (+/- 1.2)
Densité des stomates (nombre/mm <sup>2</sup> ):		
- face supérieure	21.3 (+/- 2.2)	13.6 (+/- 0.47)
- face inférieure	106.5 (+/- 6.4)	46.8 (+/- 2.2)
Rapport des densités de stomates des faces inférieure/supérieure	5	3.44

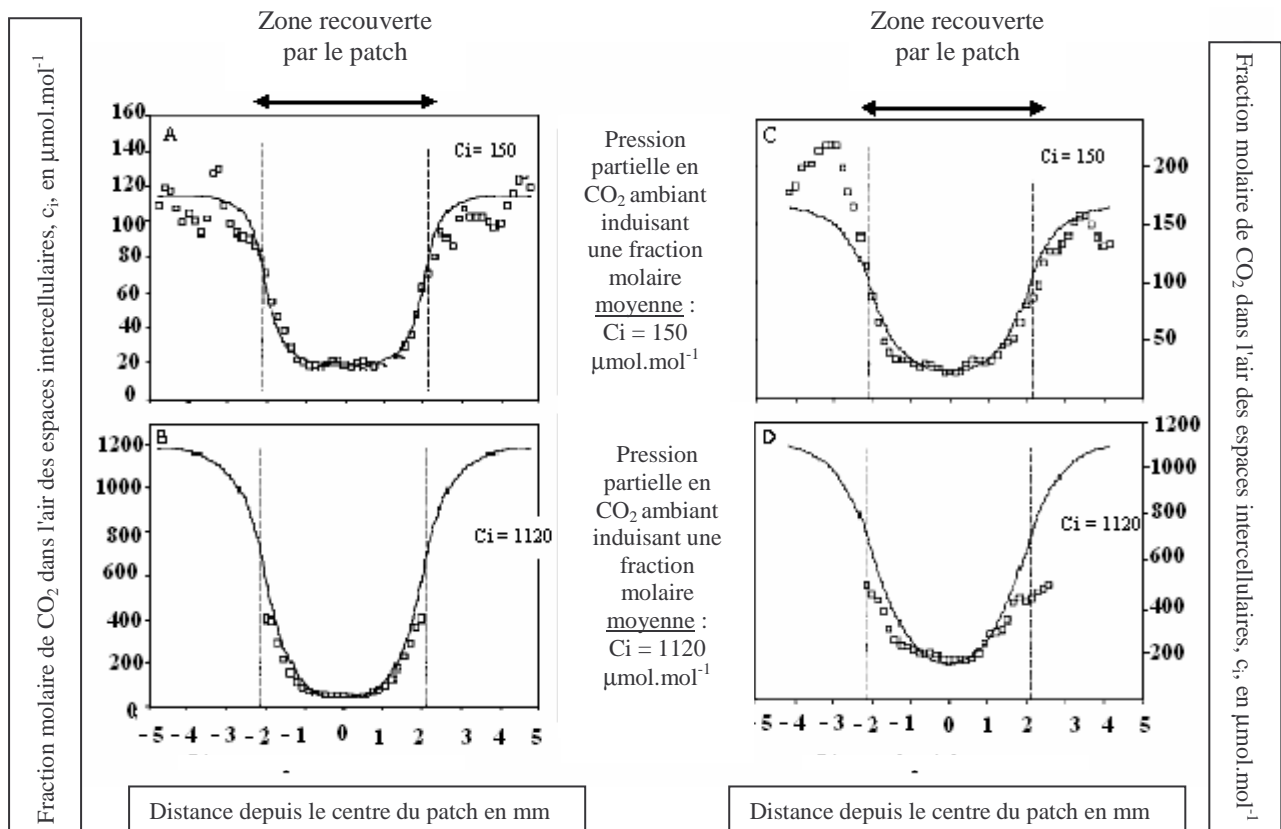
La porosité est le pourcentage de la surface intercellulaire rapportée à la surface totale d'une section transversale de feuille

**II.3.b :** On mesure la fraction molaire de CO<sub>2</sub> dans l'air des espaces intercellulaires,  $c_i$ , lors d'une augmentation de CO<sub>2</sub> ambiant.

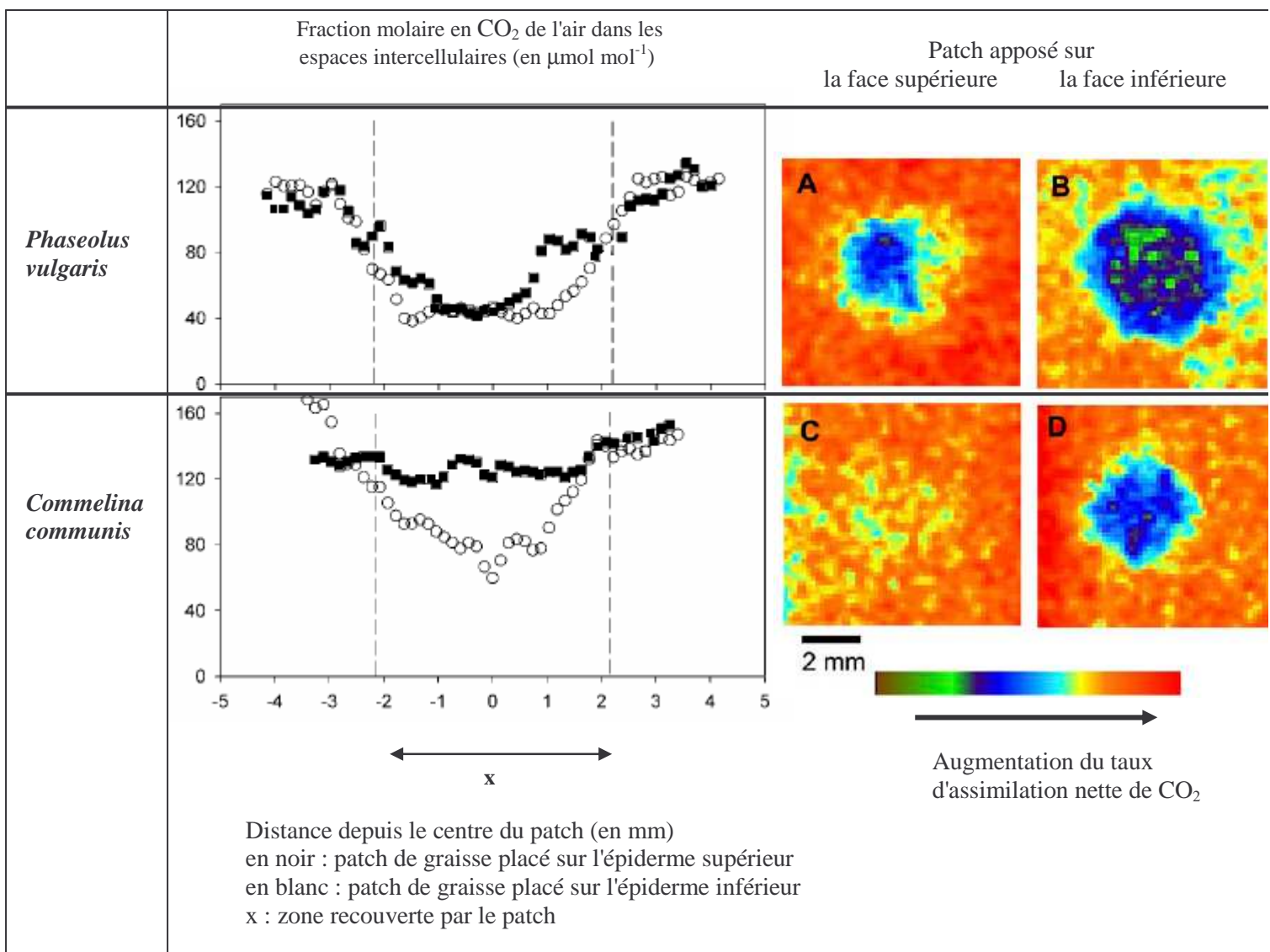
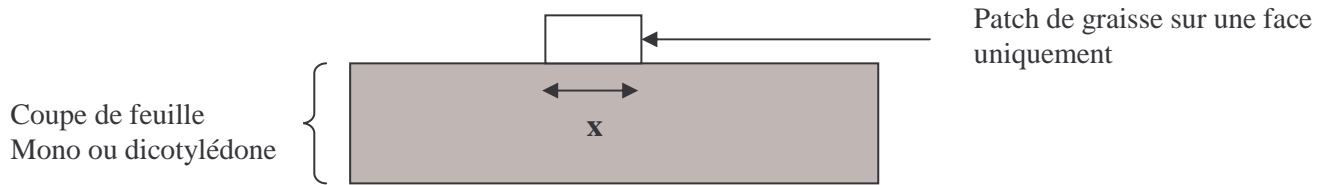
Pour chacune des espèces, deux patches de graisse (d'un diamètre de 4 mm) sont appliqués sur les deux faces épidermiques, à l'aplomb l'un de l'autre (voir schéma du Document II.2).

*Phaseolis vulgaris*

*Commelina communis*



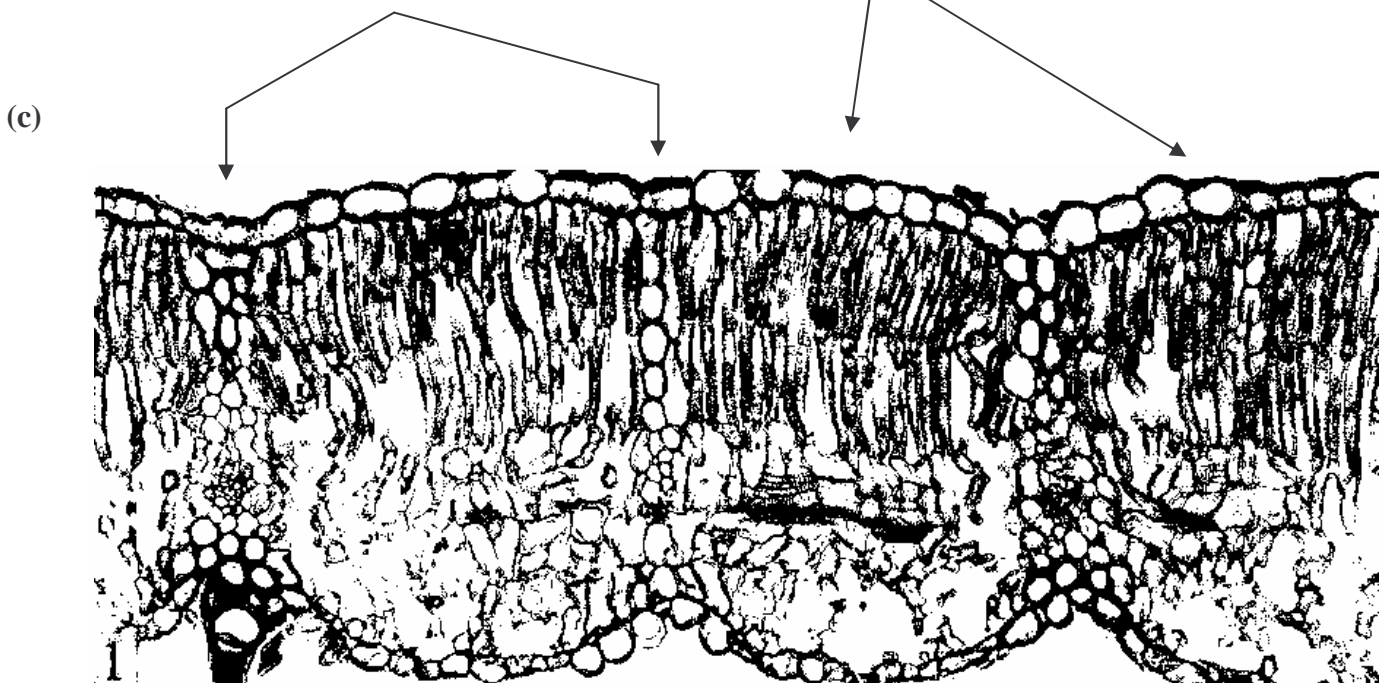
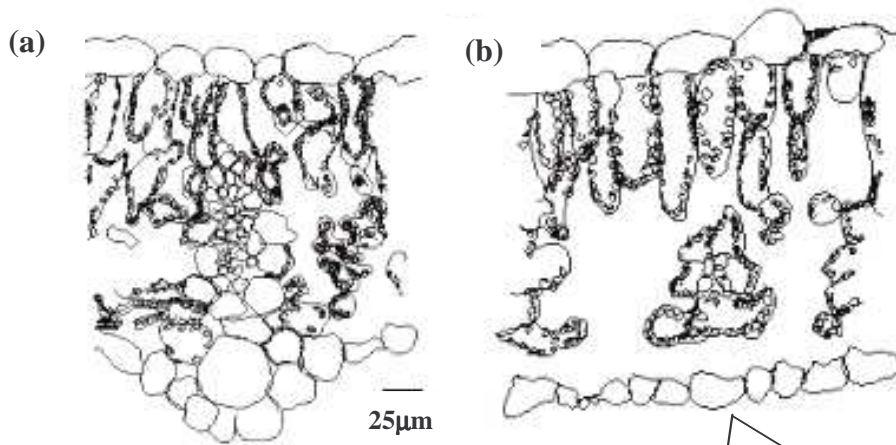
**II.3.c :** On mesure la fraction molaire de CO<sub>2</sub> dans l'air des espaces intercellulaires (ci) et on évalue l'assimilation nette en CO<sub>2</sub> (A), au niveau d'un patch de graisse quand celui-ci est apposé sur l'épiderme supérieur ou bien sur l'épiderme inférieur.



**II.3.d** : Coupes transversales de feuille de *Phaseolus vulgaris* et de *Commelina communis*.

- (a) : réalisée au niveau d'une nervure
  - (b) : réalisée entre deux nervures
  - (c) : coupe entière
- } *Phaseolus vulgaris*

- (d) : coupe transversale de *Commelina communis*



## PARTIE III : Evènements physiologiques et anatomiques accompagnant la sénescence d'une feuille

*D'après Jongebloed and al, Physiol. Plant, 120, 2004; Otegui and al, The Plant Journal, 41, 2005.*

### Document III.1 – Suivi de l'activité photosynthétique d'une feuille

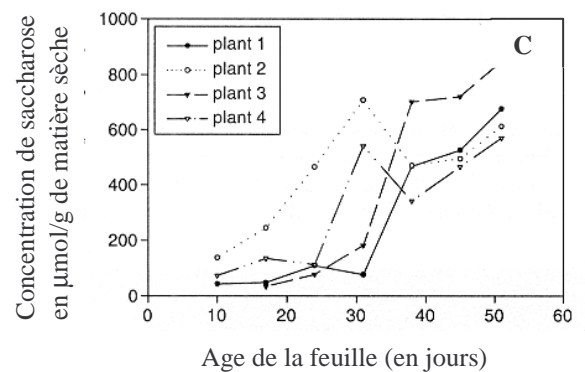
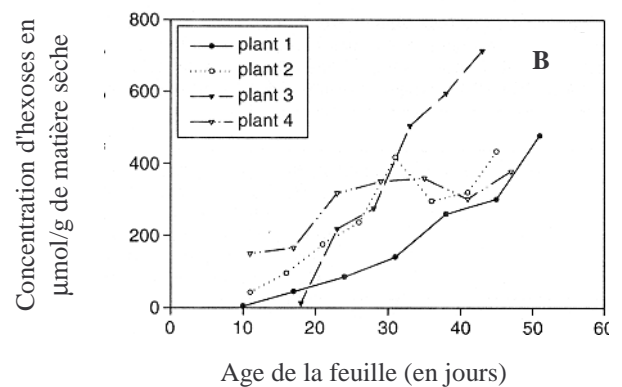
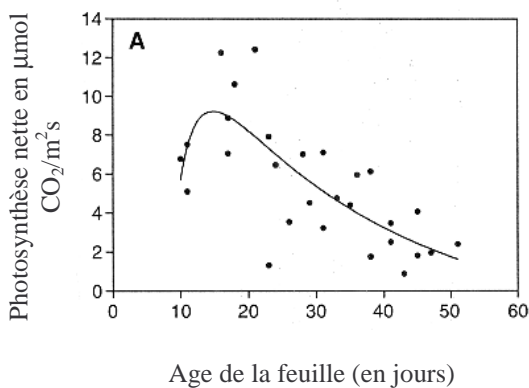
Pour connaître les évènements qui marquent la sénescence d'une feuille, différentes mesures ont été effectuées sur le limbe de feuille de Ricin qui présente une taille maximale à 20 jours et une espérance de vie de 60 jours.

**III.1.a :** Analyses biochimiques et variation d'activité photosynthétique au niveau d'un limbe de feuille de Ricin au cours du temps

(A) : photosynthèse nette

(B) : concentration d'hexoses

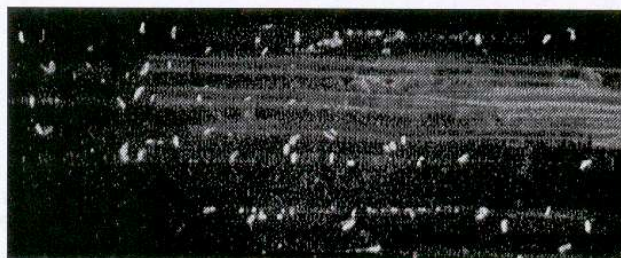
(C) : concentration de saccharose



**III.1.b :** Coupes longitudinales de feuille passant par du phloème d'une nervure centrale âgée de 15 jours (cliché du haut) ou 35 jours (cliché du bas).

Le marquage correspond à celui de la callose rendue fluorescente grâce à la fixation d'aniline.

Jeune feuille



Feuille sénescente



**Document III.2 – Suivi de l'activité protéolytique au cours de la sénescence des feuilles**

L'étude est menée sur des cellules du parenchyme chlorophyllien de limbes de feuilles d'*Arabidopsis thaliana*, jeunes ou sénescentes. Les cellules sont dissociées et leur paroi, digérée, pour faciliter les observations ultérieures.

Les cellules sans leur paroi sont appelées protoplastes.

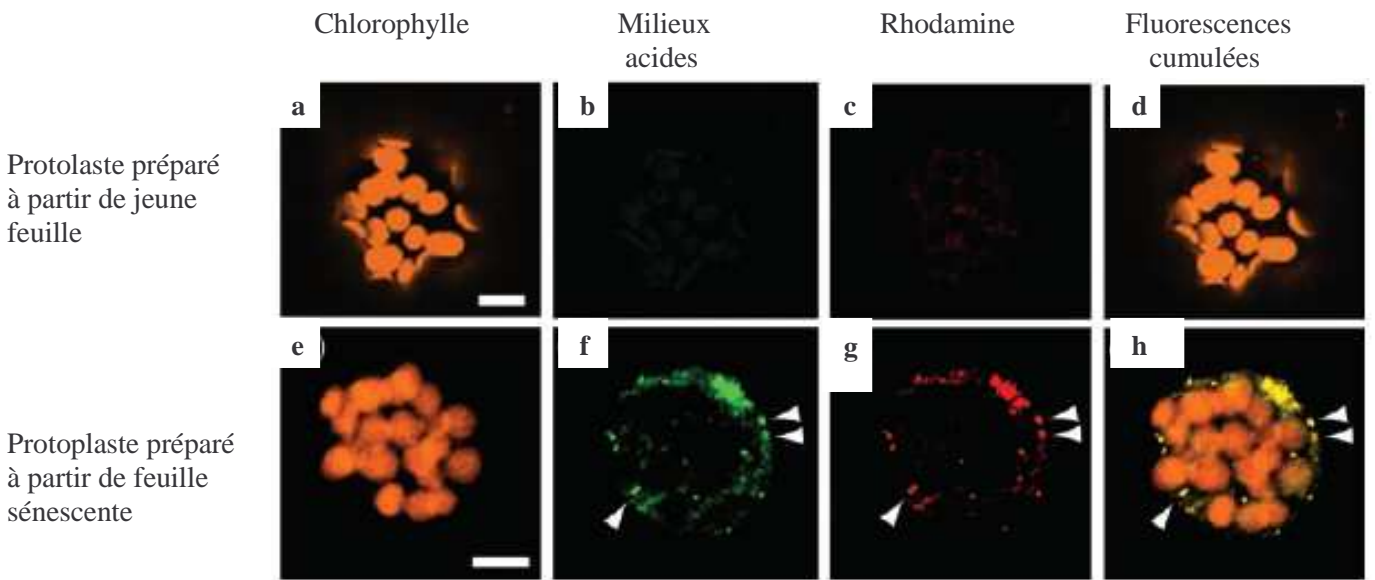
**III.2.a** : Observation de protoplastes en microscopie à fluorescence.

Les protoplastes ont été incubés en présence de R-6502. Ce substrat est lié artificiellement à la rhodamine. Le complexe formé n'est pas fluorescent mais lorsque le complexe est hydrolysé par des protéases, la fluorescence de la rhodamine devient visible.

On observe alors chaque protoplaste individuellement au microscope avec des filtres permettant de voir :

- la fluorescence naturelle de la chlorophylle
- la fluorescence de la rhodamine
- la fluorescence d'une autre substance qui n'est visible que lorsqu'elle est en milieu acide.

Les fluorescences peuvent être toutes observées au même moment (clichés d et h).



Barres d'échelle : 10 µm

**III.2.b** Immunodétections réalisées sur des protoplastes de feuilles sénescentes d'*Arabidopsis thaliana*, observation au microscope électronique.

VC : vacuole centrale

V : vésicules

P : plastes

Barre d'échelle : 250 nm.

