

Devoir sur table n°5

éléments de correction

Partie I. Géologie

Thème : quelques aspects de la convergence Inde-Eurasie

Partie 1 – Structure et dynamique actuelles de la chaîne Himalayenne

Question 1. A partir de la carte (document 1.a), de la coupe (document 1.b) et de vos connaissances sur les Alpes et les zones de collisions en général, présentez les principaux traits structuraux de la chaîne himalayenne (répondez en quelques lignes).

- Présence d'une zone de suture ophiolitique : existence d'un ancien océan refermé par subduction ; sédiments océaniques : avec la suture, c'est l'équivalent de la zone liguro-piémontaise.
- Sédiments d'avant-arc : équivalent de la nappe des flysch à helminthoïdes. Ici, elle est très peu chevauchante (toujours dans l'arrière de la chaîne), alors qu'elle a été très largement charriée vers l'avant (Ouest) dans les Alpes.
- Présence de nombreux chevauchements à pendage Nord (et vergence Sud), épaissement crustal vers le Nord (racine crustale). L'équivalent dans les Alpes serait le chevauchement pennique frontal, et les nombreuses nappes dauphinoises.
- Le sub-Himalaya et le moyen Himalaya correspondent à la zone dauphinoise (chaînons sub-alpins) et au Jura. Le haut Himalaya correspond probablement aux massifs cristallins externes, mais cela pourrait correspondre aussi aux massifs cristallins internes : on n'a pas de données de métamorphisme pour trancher.
- Les roches transhimalayennes correspondent probablement à la partie italienne de la chaîne alpine : zone austro-alpine et sud-alpine.

Commentaire sur les copies : la référence à la chaîne alpine a souvent été omise ; beaucoup d'étudiants **ne décrivent pas** le document. On rappelle que la description est la base de tout raisonnement scientifique.

Question 2. La structure profonde de la chaîne est étudiée par tomographie. Précisez ce qu'apporte le document 2 (distribué à part en couleur) sur la structure profonde de la zone (au-delà de 100 km de profondeur). Proposez une hypothèse quant au moteur de l'édification de la chaîne.

On constate la présence d'une anomalie positive de vitesse, qu'on interprète comme correspondant à un matériau plus dense en profondeur sous la chaîne. Ceci peut être interprété comme un panneau plongeant de lithosphère froide. De plus, de nombreux séismes dessinent un plan, qu'on peut interpréter comme un plan Wadati-Benioff, confirmant l'existence d'une subduction sous l'Himalaya. Le moteur de l'édification de la chaîne est donc probablement la traction de ce panneau plongeant, ce qui est classique.

Commentaire sur les copies :

- Il y a parfois eu confusion entre anomalies de vitesse et anomalies gravimétriques... à revoir !
- Une fois que l'outil est présenté (une anomalie positive est interprétée comme une augmentation de densité, donc comme une diminution de température), inutile de parler de « bleu » ou de « rouge. »

Question 3. Présentez les grands traits de la répartition spatiale des vecteurs vitesses GPS visibles sur le doc 3.

Les vecteurs GPS en Inde sont orientés vers le NNE (30° N) avec une norme de 50 mm/an environ. Dans la partie ouest de la carte, les vecteurs sont davantage orientés vers le nord (environ 10° N) et leur norme diminue (10 mm/an dans le Tian Shan). Enfin, dans la partie est, les vecteurs s'orientent davantage vers l'Ouest (environ 70° N) et leur norme est de l'ordre de 30 mm/an.

Commentaire sur les copies :

- Quand on décrit un vecteur, il faut forcément poser la question de la direction et de la norme de ce vecteur. La norme a souvent été oubliée...
- Dire qu'un vecteur va « du Sud vers Nord-Est » n'a aucune signification !

Question 4. D'après les données GPS (doc 3) comment est accommodée la convergence entre l'Inde et l'Asie ?

L'observation de la diminution de la norme des vecteurs GPS en s'éloignant de l'Inde indique qu'une partie du raccourcissement provoque un épaissement de la lithosphère (ce qu'on peut mettre en lien avec les chevauchements et plis mis en évidence sur la carte et la coupe).

Commentaire sur les copies : cette question a rarement été comprise. Ne pas oublier l'aspect tridimensionnel de la déformation !

Question 5. Définissez la notion de plaque tectonique. En quoi le doc 3 remet-il en cause cette définition ?

Une plaque lithosphérique est une partie rigide superficielle de la Terre constituée de la croûte et du manteau lithosphérique, et qui est en déplacement par rapport aux plaques voisines. C'est aux limites de plaques qu'on lie des mouvements relatifs, à l'origine de contraintes.

La question précédente permet de discuter la notion de limite de plaque, ou même de plaque elle-même :

- Les deux plaques eurasienne et indo-australienne sont déformées au niveau de l'Himalaya, ce qui est en contradiction avec la définition de plaque.
- Ou alors : les deux plaques sont bien rigides, mais la limite de plaque, qui concentre les mouvements, est tout sauf ponctuelle, et occupe une largeur de l'ordre de 1000 km.

Commentaire sur les copies : de façon surprenante, la notion de plaque est mal maîtrisée ! Le cours doit être revu pour beaucoup d'étudiants.

Partie 2 – Observations pétrologiques et grandes étapes d'édification de la chaîne

Question 6. Les différents faciès métamorphiques sont représentés sur le doc 4. Définissez ce qu'est un faciès métamorphique.

Un faciès est un domaine de pression et de température, caractérisé par un ou des minéraux index apparus par métamorphisme.

Commentaire sur les copies : le score de cette question est seulement de 1,9/4... Les cours doivent être mieux appris !

Question 7. Le doc 4 présente un chemin pression-température-temps d'une roche échantillonnée dans la zone de suture (zone localisée sur les doc 1a et 1b). Légendez les deux parties du chemin visible sur le doc 4 (à rendre avec la copie) et indiquez leur signification géodynamique. Précisez quelle étape de l'histoire d'une roche métamorphique sépare les deux parties de ce chemin.

De 57 à 53 Ma, l'unité parcourt un **chemin prograde** qui atteint les conditions du faciès des éclogites : elle entre donc en subduction. De 53 à 47 Ma, puis à l'actuel, l'unité suit un **chemin rétrograde** (rétrométamorphisme) qui témoigne d'une exhumation.

L'absence de réchauffement notable plaide pour une remontée rapide. Le modèle d'exhumation est donc une exhumation tectonique : des failles (inverses) associées à des chevauchements permettent cette exhumation rapides. Elles seraient beaucoup plus lente (et associée à un réchauffement notable) si elle se faisait simplement par isostasie.

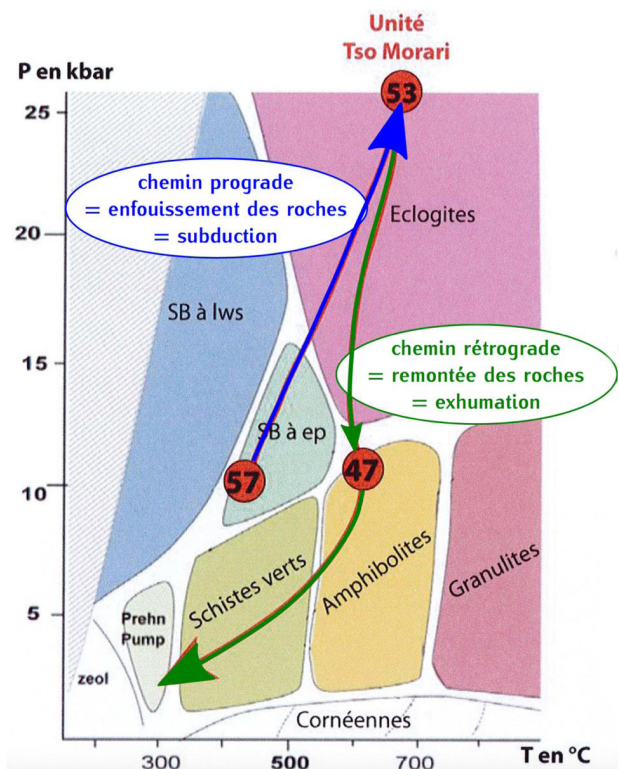
Ce qui sépare les deux parties de l'histoire métamorphique de la roche est le **pic de métamorphisme** (pic de pression).

Commentaire sur les copies : c'était une question censée être facile, mais dans beaucoup de copies, des grosses erreurs font chuter la note. Rien ne dit qu'il y aurait fusion partielle au pic métamorphique !

Question 8. Sachant que les autres unités de la zone de suture suivent des chemins pression-température-temps proches, que vous apprend le doc 4 sur l'histoire de la formation de la chaîne himalayenne ?

Si les autres roches suivent un chemin proche, il est possible d'estimer un gradient de métamorphisme : ici il est de haute pression et basse température caractéristique d'une subduction. L'âge du pic à 53 Ma indique l'époque où cette subduction était active. La collision continentale formant l'Himalaya a donc été précédée d'une subduction.

Commentaire sur les copies :



- La notion de **gradient métamorphique** a souvent été totalement omise. Or, on ne peut pas parler de contexte géodynamique sans parler de gradient. Ici, le gradient est faible (franciscain, ou HP-BT).
- Attention de ne pas confondre ce qui a été vu en cours/TP et dans ce devoir : ici, la remontée se fait à température presque constante, donc **très rapidement**. Il ne peut donc pas s'agir d'une remontée isostatique : la remontée est donc beaucoup plus probablement **tectonique** (= des failles inverses provoquent un détachement du bloc en subduction, ce qui les exhume rapidement).

Question 9. Sur le terrain, en se rapprochant des granites du Haut Himalaya, des roches du type de celle présentée sur le doc 5 (doc en couleur donné à part) affleurent. Déterminez cette roche en justifiant votre propos. Proposez une hypothèse quant à la formation des granites du Haut Himalaya.

- alignements irréguliers de minéraux → foliation → **roche métamorphique**
- minéraux :
 - minéraux blanchâtres plus ou moins gris → feldspaths et quartz
 - minéraux franchement roses → orthoses
 - minéraux noirs → biotites (ou amphiboles/pyroxènes)
 - c'est donc un **gneiss** ou une **migmatite**
- zone isotrope non foliée, très claire → zone ayant fondu → leucosome
- → **migmatite**

Dans la zone, le métamorphisme étant croissant vers les granites himalayens, il est possible que ceux-ci soient produits par anatexie crustale. On peut donc postuler que les granites du Haut-Himalaya sont des granites d'anatexie. Ils peuvent avoir été formés par fusion partielle au niveau d'écaillés de lithosphère continentale.

NB : il n'y a pas d'équivalent de ces migmatites dans les Alpes pour l'instant, sans doute parce que les Alpes sont un peu plus jeunes que l'Himalaya.

Commentaire sur les copies : cette question demandait d'appliquer les méthodes de diagnose d'une roche, vues en BCPST1 et BCPST2 à plusieurs reprises. Dans la plupart des copies, **ce n'est pas fait** ! Parmi les choses à corriger :

- Il faut commencer par déterminer la grande famille de roches : métamorphique, magmatique, sédimentaire... et ce, **avant** de dire que la roche est grenue, ou qu'il y a tel ou tel minéral.
- Si les lignes ont été identifiées comme étant de la foliation, il est **totalemment incohérent** d'appeler cette roche un granite ! cette erreur a été faite trop souvent !

Bilan de la géologie : il s'agissait d'un sujet tombé à l'agro, et légèrement remanié. Cette partie était beaucoup plus facile que la biologie ou les biogéosciences, comme c'est souvent le cas au concours. Ne pas l'aborder était une très mauvaise stratégie ! Dans l'optique du concours agro, il est indispensable de **bien connaître le cours et les applications classiques**, ce qui permet généralement d'avoir une note correcte.

Erreurs à corriger :

- La pression (lithostatique) n'est pas une **contrainte**, et donc n'est jamais à l'origine d'une **déformation**.
- Les contraintes n'ont jamais provoqué de fusion partielle ! Les cours doivent être revus, pour éviter des erreurs de base comme cela là.
- Les séismes sont **la conséquence des mouvements entre deux blocs**, et non leur cause !

Partie II. Biologie

Thème : le bourgeon de membre chez les serpents

Question 1. A l'aide de vos connaissances, proposez deux hypothèses expliquant les différences phénotypiques observées dans le doc 1.

On considère l'anole comme témoin. On observe que la ceinture pelvienne du python est de taille comparable à celle de l'anole. Le membre chiridien en revanche est réduit :

- le fémur est de petite taille : réduction du stylopode.
- fibula et tibia sont soudés en un tout petit os, plus réduit encore que le fémur : très forte réduction du zeugopode.
- il y a absence totale de l'autopode.

Donc, chez les serpents, certaines voies, qui permettent normalement la formation du membre, sont fortement modifiées. Il peut s'agir de :

- mutation de gènes Hox, notamment HoxA9 à HoxA13, et HoxD9 à HoxD13, qui contrôlent l'identité des différentes zones du membre.
- mutation du gène Shh, ou d'un gène permettant son expression, entraînant un dysfonctionnement de la ZPA.
- arrêt du fonctionnement de l'AER en cours de formation du bourgeon de membre, avec arrêt de la production de FGF8, ou arrêt de la réponse à FGF8, par exemple par perte de la compétence des cellules de l'AER vis-à-vis du FGF10.
- toute autre hypothèse intéressante, basée sur un contrôle génétique, a été valorisée.

Commentaire sur les copies :

- Un minimum de description du document était attendu.
- Comme souvent, quand on demande des hypothèses, il faut être **précis et cohérent** à la fois. Dans beaucoup de copies, on peut lire que « les gènes Hox ont peut-être été mutés » ou que « l'AER cesse peut-être de fonctionner. » Le cours devrait permettre de produire des hypothèses bien plus précises : « le gène HoxD13, responsable de l'identité de l'autopode, pourrait être muté, » ou « le gène FGF8 pourrait être sous-exprimé, ce qui empêcherait alors la progression du développement du bourgeon de membre. »

Question 2. Analysez le doc 2 (doc en couleur donné à part), en comparant les résultats entre python et anole.

Dans tous des documents, l'anole est le témoin. Déjà, on note qu'il existe un bourgeon de membre chez le python, malgré le fait qu'il n'a pas de membre à l'état adulte. C'était attendu, dans la mesure où il dispose tout de même de membre vestigiaux (mis en évidence dans le doc 1).

Shh

- Observation : on observe une expression postérieure de Shh dans le bourgeon de membre chez le python au stade 1, mais elle est plus faible que chez l'anole. Cette expression a disparu définitivement au stade 2, alors qu'elle persiste pendant toute l'étude chez l'anole.
 - Hypothèse quant à la conséquence de cette disparition : elle pourrait être responsable de l'arrêt du développement du membre, et en particulier de l'autopode.
 - Hypothèse quant au mécanisme de cette disparition : un facteur de transcription activant normalement l'expression de Shh pourrait être muté chez le python.

FGF8

- Observation : on observe une expression de FGF8 dans l'AER aux stades 1 et 2, mais elle est plus diffuse que chez l'anole. Au stade 3, elle devient chaotique, alors qu'elle est toujours très finement limitée à l'AER chez l'anole.
 - Hypothèse quant à la conséquence de cette disparition : elle pourrait être responsable de l'arrêt du développement du bourgeon, par la perte de la double induction AER-mésenchyme basée sur le FGF8 et le FGF10.
 - Hypothèse quant au mécanisme de cette disparition : il est possible que l'expression de FGF10 par le mésenchyme soit perdue au cours du temps.

HoxD13

- Observation : on observe une expression postéro-distale de HoxD13 pendant les stades 1 à 3. L'expression est légèrement plus forte chez le témoin, est plus franchement distale.
- Interprétation : les faibles différences permettent de faire l'hypothèse que le rôle de HoxD13 n'est pas majeur dans la perte du membre chez les serpents.

Apoptose

- Observation : on observe des marqueurs d'apoptose particulièrement abondants en distal chez le python, et seulement de façon diffuse chez l'anole, plutôt en proximal.
 - Hypothèse quant à la conséquence de cette disparition : elle pourrait être responsable de la mort des cellules distales, à l'origine de l'absence de l'autopode.
 - Hypothèse quant au mécanisme de cette disparition : l'apoptose pourrait être inhibée par l'induction par le FGF8, ce qui permettrait de relier cette apoptose distale à la diminution de l'expression de FGF8 dans l'AER.

Commentaire sur les copies :

- Dans près de la moitié des copies, les 4 situations sont décrites avant qu'il y ait interprétation ! On rappelle que toute observation doit être interprétée, et si ce n'est pas fait au fur et à mesure, cela introduit de la confusion dans le discours, voire des erreurs !
- Dans plus de 2/3 des copies, on peut lire que l'arrêt de l'expression de FGF8 aurait pour conséquence l'atrophie du membre chez le python. Cela constitue une très grave erreur de raisonnement scientifique, qui est inquiétante à ce stade de l'année. Il ne s'agit rien de plus que d'une HYPOTHESE, certes vraisemblable. On rappelle que pour démontrer un effet, il faut faire une expérience en conditions contrôlées, ce qui n'est pas fait ici !
- Attention de ne pas « voir ce que vous voulez voir » : on ne voit pas de variation de l'expression de HoxD13 chez le python, et c'est donc un gène probablement non impliqué dans la perte des pattes !

Question 3. Analysez le doc 3, et proposez une hypothèse quant au rôle de la ZRS dans la formation du membre chez les tétrapodes.

La ZRS est située dans le même TAD que Shh, ce qui lui permet d'être potentiellement un *enhancer* ou un *silencer* de Shh.

On constate un pourcentage d'identité moyen entre le python et les autres vertébrés (de l'ordre de 50 % à 75 %), mais ce pourcentage est très faible pour une partie de la séquence. Pour cette partie, justement, on constate trois délétions (une vingtaine de nucléotides) dans la ZRS chez le python. Si la ZRS était effectivement un *enhancer* ou un *silencer* de Shh, ces délétions importantes pourraient expliquer une dérégulation de l'expression de Shh, qui a bien été observée dans le doc 2.

Commentaire sur les copies : manifestement, beaucoup d'étudiants ne maîtrisent pas la notion d'*enhancer* (ou de *silencer*). On rappelle qu'il s'agit de facteurs cis-régulateurs (c'est-à-dire des séquences d'ADN), bien entendu non-codants, qui sont généralement placés en amont d'un gène. Il ne faut pas les confondre avec les promoteurs, qui sont situés directement en amont des gènes.

Question 4. Analysez les docs 4 et 5.

Il y a eu cafouillage (de ma part) dans la numérotation des documents. Il en a été tenu compte lors de la correction.

doc 4 en bas à gauche (en fait, doc 4b)

Principe de la manipulation : on cherche, *in vitro*, à mesurer l'expression de la luciférase sous le contrôle d'un promoteur (SV40), mais avec une ZRS de python on d'anole. Ce faisant, on cherche à tester si une séquence autre que le promoteur peut moduler l'expression du gène : il s'agit donc de tester si la ZRS peut jouer le rôle d'*enhancer* ou de *silencer*, et surtout, si la ZRS de python a un pouvoir enhancer/silence différence de la ZRS d'anole. L'anole est, comme toujours, le témoin.

On observe que l'expression est à 60 % de celle du témoin ; on en déduit que la ZRS de python a une capacité moindre que celle d'anole à provoquer l'expression du gène. La ZRS est donc un enhancer, et les zones A, B et C (seules différences majeures entre python et anole) sont responsables de cette activité.

doc 4 à droite (en fait, doc 4c)

Principe de la manipulation : on teste séparément le rôle de chacune des 3 délétions ΔA , ΔB ou ΔC dans le pouvoir *enhancer*.

On constate que l'expression est significativement diminuée avec chacune des trois délétions. Cela confirme donc que le rôle d'*enhancer* de la ZRS est expliqué par les séquences A, B et C, qui sont perdues chez le python.

doc 5

Principe de la manipulation : c'est la technique du gène rapporteur. On teste, *in vivo* et chez la souris, l'activité de l'*enhancer* ZRS d'anole ou de python.

On observe une expression de LacZ seulement avec la ZRS d'anole, et cette expression est localisée au niveau de la ZPA. On en déduit deux choses :

- cela confirme donc bien que la ZRS de python est inactivée par les mutations qu'elle comporte (elle perd son rôle d'*enhancer*)
- comme Shh s'exprime exactement dans les mêmes cellules que le rapporteur LacZ, il est très probable que son expression soit régulée par exactement les mêmes mécanismes : **il est donc hautement probable que la ZRS soit un enhancer de Shh**. Cela expliquerait donc la diminution de l'expression de Shh chez le python.

Commentaire sur les copies :

- C'est typiquement sur ce genre de documents, avec un protocole complexe, qu'il est important de faire un petit paragraphe préalable pour expliquer en quoi le protocole permet de répondre à la question posée.
- Il s'agit, de plus d'expériences en conditions contrôlées : là, il faut conscientiser qu'on arrivera à une réponse ferme (la ZRS d'anole **provoque/empêche** l'expression du gène en amont duquel elle est située).
- Le doc 5 a rarement été bien compris. Il fallait pour cela avoir en tête le patron d'expression de Shh (doc 2).

Question 5. A l'aide du doc 6, montrez que la protéine HoxD13 se fixe sur la ZRS au niveau de la région C. Mettez ce résultat en lien avec les résultats du doc 2.

doc 6a

HoxD13 est un facteur de transcription. On constate que son ajout provoque une augmentation de l'expression de la luciférase, sous le contrôle du promoteur SV40 et de la ZRS d'anole plus ou moins modifiée. Cela permet de postuler la fixation de HoxD13 sur le promoteur et/ou sur l'enhancer. Cependant, on constate que cette stimulation de l'expression est significativement diminuée dans le cas ΔB (-20%) et dans le cas ΔC (-75%). On peut donc postuler que HoxD13 régule l'expression du rapporteur luciférase en se fixant sur les zones B et C de la ZRS.

doc 6b

L'ADN est celui de la région C de la ZRS, dont on a postulé que HoxD13 s'y fixait. L'ADN seul (radioactif) migre à une distance indiquée par une flèche.

- Si on ajoute HoxD13, **on constate que l'ADN migre moins loin** (pointe de flèche) : on en déduit que HoxD13 s'est fixé sur la région C de la ZRS, ce qui a alourdi l'ADN.
- Si on ajoute un anticorps anti-HoxD13, on constate que l'ADN migre encore moins loin : l'anticorps a encore alourdi l'ADN (complexe ADN-HoxD13-anticorps).
- Si on ajoute un ADN non radioactif (par rapport à la 2^e situation), on constate que le signal intermédiaire s'estompe. On a ici fait une compétition entre l'ADN radioactif (détectable) et l'ADN non radioactif (non détectable) pour la fixation par HoxD13. Cela confirme donc la fixation de HoxD13 sur la région C de la ZRS.

Lien avec le doc 2

Dans le doc 2, on a vu que l'expression de HoxD13 n'était sans doute pas responsable du phénotype observé chez le serpent. Le rôle de HoxD13 est sa fixation sur la ZRS, donc c'est une régulation en aval de HoxD13 qui est responsable du phénotype. En d'autres termes, l'expression de HoxD13 dans le bourgeon chez les serpents existe, mais n'a pas de rôle, puisque l'*enhancer* qu'il est censé réguler est non fonctionnel.

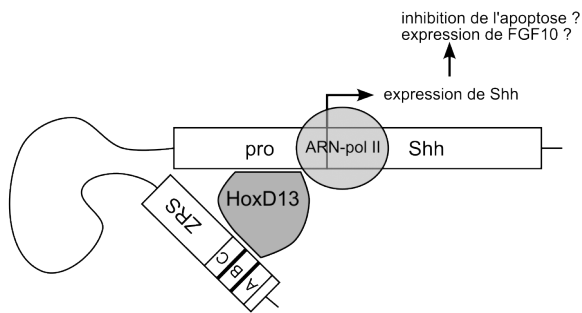
Commentaire sur les copies :

- Il s'agissait encore une fois d'expériences en conditions contrôlées. Il était donc indispensable de définir facteur variant, paramètre mesuré, témoin... au moins dans l'interprétation.
- Le doc 6b a été particulièrement raté... c'est pourtant un doc **très classique**, même à l'agro ! **Le principe de la manipulation** doit impérativement être présenté. On ne peut pas se permettre de décrire les 4 pistes d'un coup, et de tout interpréter d'un coup : chaque piste apporte quelque chose de plus par rapport à la précédente.

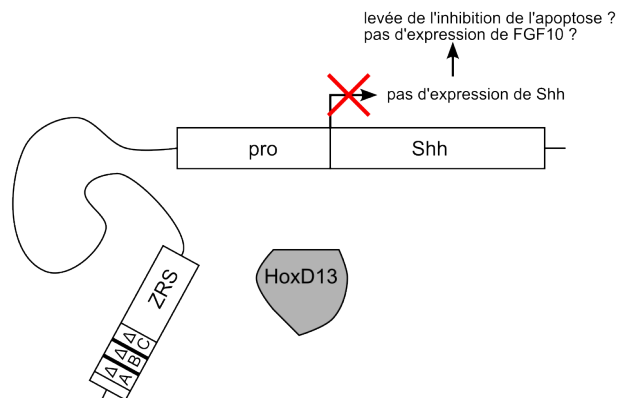
Question 6. Bilan : réalisez un schéma comparatif des contrôles à l'origine du développement du membre chez les tétrapodes à membres chirodiens, et chez les serpents.

On représente dans ce schéma la régulation de l'expression génétique à l'échelle des cellules de la ZPA. La production ou non de Shh a des conséquences éventuelles sur les cellules alentours, par paracrinie ou autocrinie (non représenté ici parce que 1. ce sont des hypothèses, et 2. ce n'est pas le cœur de ce devoir).

Anole (et autres tétrapodes à membre chiridien)



Serpents



Commentaire sur les copies : attention de ne pas ajouter des informations qui n'ont pas été démontrées dans ce devoir ; ou alors, il faut indiquer très clairement sur le schéma que c'est une hypothèse.

Bilan de la biologie : c'était un sujet original, mais construit pour coller avec ce qui se fait habituellement en bio à l'agro, avec quelques questions classiques (Q1, Q2), quelques questions plus difficile (Q4, Q5), et un schéma bilan (Q6). Cependant, les notes sont bien plus basses qu'en géologie, et notamment parce que les méthodes ne sont que trop rarement appliquées. Le jour du concours, tous les candidats auront de bonnes notes sur un sujet facile... mais seuls ceux qui appliqueront les méthodes pourront s'en sortir dans un sujet un peu plus difficile.

Erreurs à corriger :

- Confusion courante entre facteur de transcription (protéine, facteur trans) et enhancer/silencer (ADN, facteur cis). On rappelle qu'un enhancer n'est **jamais** transcrit/traduit ! D'ailleurs, on précisait ici que la ZRS était dans un intron...
- Confusion courante entre facteur de transcription et facteur inducteur. HoxD13 est un facteur de transcription, et ne sort donc jamais de la cellule ! de même, FGF8 est un inducteur, et ne peut donc en aucun cas entrer dans la cellule (et encore moins se fixer sur l'ADN).
- Flou artistique maintenu sur ce que détecte l'hybridation *in situ* (réponse : c'est l'ARN qui est détecté, et rien d'autre).
- Malgré le fait que le python n'a pas de membres, c'est bien un tétrapode (puisque c'est un groupe monophylétique)
- AUCUN document ne parlait de différenciation ; pourtant, plus d'1/3 des copies parle de HoxD13, de Shh ou de FGF8 comme des facteurs de différenciation. On rappelle que la différenciation constitue l'acquisition de caractères moléculaires et cellulaires permettant la spécialisation (= acquisition d'une fonction particulière) d'une cellule. Attention, donc, au choix du vocabulaire.

Partie III. Biogéosciences

Thème : Les flux d'azote « occultes » dans les écosystèmes forestiers : quantification, bases biologiques et métaboliques

Partie 1 – Les flux d'azote dans les écosystèmes forestiers

Question 1. Sous quelles formes l'azote se trouve-t-il dans chacun des trois réservoirs de cet écosystème forestier ? Vous répondrez à cette question directement sur le schéma du doc 1, à rendre avec la copie, en nommant plusieurs exemples de molécules azotées dans chaque cadre (à droite), et en indiquant les composés majoritaires. Aucun texte explicatif n'est attendu.

Commentaire sur les copies : dans la plupart des copies, cette question de cours a été ratée ! C'était pourtant une question facile ! Les cours doivent être révisés.

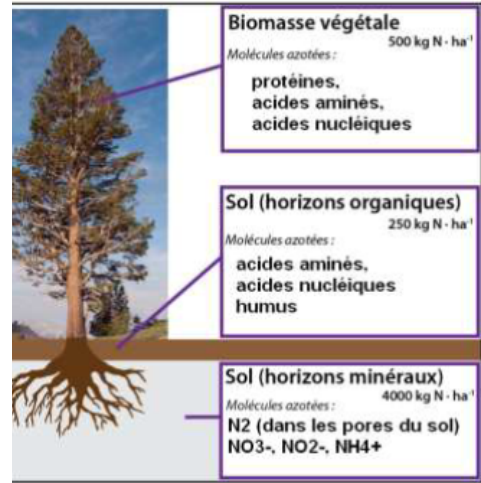
NB : les horizons étaient ici définis comme des **réservoirs d'azote**, et non comme des **couches du sol**. Par exemple, même si l'horizon organique O contient, en plus de la matière organique, de l'eau contenant des ions azotés (NO_3^- , NH_4^+ ...), on considère « l'horizon organique » comme « matière organique azotée du sol. »

Question 2. À partir des données du doc 2 :

2.1. Comparez la variation annuelle de la quantité d'azote (a + b + c) aux dépôts atmosphériques pour ces quatre écosystèmes.

Les variations annuelles sont toutes différentes des dépôts atmosphériques (10 kg.ha⁻¹.an⁻¹) :

- Oak Ridge (1), (2) et Walker Branch (2) sont excédentaires (4 à 8 fois plus d'azote que les dépôts atmosphériques) : il y a donc accumulation d'azote dans cet écosystème.
- Walker Branch (1) est déficitaire par rapport aux dépôts atmosphériques (17 fois moins que les dépôts atmosphériques). Cet écosystème perd donc de l'azote chaque année.



Commentaire sur les copies : on demandait une comparaison, alors il faut comparer... attention de bien lire la question ! On attendait bien sûr de donner du sens à la comparaison (notamment, en commentant les variations annuelles en terme d'équilibre).

2.2. Formulez des hypothèses pouvant expliquer les accumulations et les pertes d'azote dans les écosystèmes forestiers (10 lignes maximum).

Pour Oak Ridge (1) et (2), la masse des horizons minéraux du sol augmentent fortement. La diminution observée dans les horizons organiques peut s'expliquer par une minéralisation primaire de la litière, enrichissant les horizons minéraux, puis par lixiviation locale des ions, qui sont emportés des horizons organiques vers les horizons minéraux. Les ions azotés seraient ensuite bien retenus dans les horizons minéraux, peut-être grâce à des argiles minéralogiques.

Pour Walker Branch (1), cet écosystème perd de l'azote jusqu'en 1993, puis en accumule. Jusqu'en 1993, la biomasse végétale ne se développe pas sur 21 ans. On peut supposer que cette biomasse est attaquée par des pathogènes, ou que des sécheresses ou des feux ou des coupes répétées la détruisent régulièrement. La biomasse étant en légère régression, l'apport d'azote par la décomposition de la litière se réduit un peu. Les ions azotés ne restent pas dans les horizons minéraux du sol (lixiviation), probablement parce qu'il y a trop peu d'humus pour former des complexes argilo-humiques. Après 1993, la situation s'inverse car la biomasse se développe et l'azote s'accumule. Un mécanisme possible est que l'humus formé par la litière abondante participe à la rétention des ions dans le sol.

Commentaire sur les copies : comme pour la question 2 de biologie, les hypothèses sont très superficielles. On attend beaucoup plus de précision !

Partie 2 – Étude de bactéries endophytes du conifère *Pinus contorta*

Partie 2.1 – Caractérisation et identification de bactéries diazotrophes

Question 3. Justifiez le protocole expérimental permettant d'obtenir le doc 3C :

- Pourquoi injecter de l'acétylène ?

L'acétylène est un substrat de la nitrogénase et l'éthylène est le produit de sa catalyse.

- Pourquoi mesurer la quantité d'éthylène ?

Mesurer la quantité d'éthylène produite permet de détecter les souches bactériennes exprimant une nitrogénase fonctionnelle, et donc capables de fixer de l'azote dans la plante.

Commentaire sur les copies : cette question a plutôt été réussie. Attention cependant : une fois que l'on a compris que l'acétylène n'est qu'un **moyen** de mesure de l'activité nitrogénase, il est inutile de parler à nouveau d'acétylène dans la suite du devoir.

Question 4. Interprétez les résultats du doc 3 dans son ensemble. Formulez des hypothèses pour expliquer les résultats du doc 3C.

doc 3A

On observe de nombreuses bactéries endophytes dans les tissus des arbres, avec cependant de fortes hétérogénéités :

- racines : un seul genre (*Bacillus*) et seulement chez les arbres jeunes.
- assez peu de variation temporelle pour les feuilles, avec les mêmes genres pour les arbres jeunes ou âgés, parfois des espèces différentes.
- grande variabilité temporelle pour les troncs, avec colonisation de certaines espèces initialement absentes (*Cellulomonas*, *Kocuria*, *Pseudomonas*...)

doc 3C

L'activité enzymatique de la nitrogénase varie selon le territoire de l'arbre (4,5 fois plus intense dans les feuilles que dans les tiges pour *Paenibacillus polymyxa*) : on en déduit qu'il y a une meilleure efficacité dans la fixation de N₂ au niveau des feuilles.

On peut émettre plusieurs hypothèses :

- davantage de bactéries dans les feuilles que dans les tiges
- davantage d'azote disponible dans les feuilles donc activation de l'expression de la nitrogénase
- davantage d'azote disponible dans les feuilles donc activation de l'enzyme directement

Commentaire sur les copies :

- On attend un commentaire de tous les documents expérimentaux, y compris le doc 3A !
- Les hypothèses expliquant que l'activité nitrogénase est plus élevée chez l'une des deux souches étaient souvent incohérentes... il faut prendre du recul sur ce qui est dit, en n'oubliant pas qu'on a un cours d'enzymo en BCPST1 !

Partie 2.2 – Inoculation de plantules de *Pinus contorta* avec des bactéries diazotrophes

Question 5.

5.1. Expliquez quel est l'objectif de la mesure de la teneur en ¹⁵N dans les feuilles des plantules.

Il permet de connaître la quantité d'azote provenant du milieu nutritif sous forme de nitrates prélevés par les racines et constitutif de la biomasse foliaire, après transport dans le xylème.

5.2. Justifiez que le NDFA permet de quantifier la capacité de la plante à prélever le N du sol ou le N de l'atmosphère.

Sachant que le ¹⁵N provient obligatoirement d'un prélèvement **racinaire**, le rapport ($\%^{15}\text{N}_{\text{inoculé}} / \%^{15}\text{N}_{\text{non inoculé}}$) quantifie si l'**inoculation** est associée d'une augmentation (rapport > 0) ou d'une diminution (rapport < 0) du prélèvement **racinaire** d'azote, par rapport à un témoin non inoculé. L'azote pouvant être prélevé **soit dans le sol, soit dans l'atmosphère**, $1 - (\%^{15}\text{N}_{\text{inoculé}} / \%^{15}\text{N}_{\text{non inoculé}})$ quantifie si l'**inoculation** est associée à une augmentation ou une diminution du prélèvement **atmosphérique** d'azote, c'est-à-dire au du prélèvement par les bactéries.

Commentaire sur les copies : le NDFA n'a pas été compris dans la plupart des copies.

Question 6. Décrivez et interprétez les résultats du doc 4.

doc 4A

Les plants inoculés sont significativement moins enrichis en azote prélevés dans le sol. L'effet est plus marqué pour les bactéries *Paenibacillus polymyxa* présentes dans la tige (-0,6 points de % vs -0,2 points de %). On peut formuler deux hypothèses explicatives :

- soit le prélèvement global est plus faible,
- soit une autre source d'azote est utilisée (ce qui est probable, du fait que ces plants sont inoculés).

doc 4B

La quantité totale d'azote ne varie pas significativement dans les 3 situations, on peut donc déduire que l'inoculation a compensé par fixation d'azote atmosphérique la diminution du prélèvement racinaire.

doc 4C

Sans surprise par rapport au document 4A, ce sont les plants hébergeant des bactéries dans leurs tiges qui sont le plus enrichis en azote atmosphérique. Le pourcentage de l'azote issu des bactéries atteint 30% pour la variété P2b-2R et 10 % pour la variété P18b-2R. Cela confirme donc l'interprétation du doc 4B.

On savait que la nitrogénase de p18b-2R était bien plus efficace que celle de P2b-2R (document 3C), mais in vivo elle participe moins à la fixation d'azote que celle de P2b-2R.

Partie 2.3 – Effets des bactéries diazotrophes endophytes sur la croissance de *Pinus contorta*

Commentaire sur les copies : comme pour la question 2 de biologie, il faut observer **ET** interpréter **CHAQUE** document avant de passer au suivant, de façon à construire progressivement le raisonnement. Quand tout est fait en même temps, on passe forcément à côté...

Question 7

7.2. Interprétez les résultats du document 5 A.

doc 5A gauche

On constate sur le document 5A gauche que les plants infectés ont production de biomasse significativement supérieure au plant témoin non infecté (environ 60 grammes contre 45 grammes avec des barres d'erreur qui ne se recoupent pas). On en déduit que la colonisation par ces bactéries est responsable de l'augmentation de la biomasse.

doc 5A droite

On constate que les organes, racine et tige, de l'organisme infecté sont plus développés que l'organisme témoin. La biomasse de la tige est très développée (x 2 par rapport aux racines du témoin ; x 1,2 par rapport à la tige infecté). L'augmentation de masse sèche est essentiellement due à l'augmentation de masse sèche des tiges.

C'est la présence spécifique de P2b-2R (lien avec le document 3C) dans les tiges qui peut expliquer cette augmentation de biomasse. La cause pourrait être un apport supplémentaire d'azote via la nitrogénase de ces bactéries, mais on pourrait aussi supposer un effet indépendant de l'azote comme la sécrétion d'hormones stimulant la croissance de la biomasse.

7.3. Quelles informations le document 5B apporte-t-il ?

Le document 4 relatait les résultats d'une expérience d'une durée de 7 mois. D'après le document 5B, le pourcentage de l'azote issu de la fixation de N_2 atmosphérique par les bactéries est de 40 % au bout de 12 mois, on peut donc dire que l'effet bénéfique de l'infection bactérienne est durable (12 mois) et a tendance à s'amplifier puisqu'au bout de 7 mois, le NFDA était de 30 %. L'apport d'azote à la plante par les bactéries pourrait bien être la cause du gain de masse du document 5A.

Commentaire sur les copies : question de fin de devoir, rarement traitée.

Question 8. Formulez, en quelques phrases, l'ensemble des conclusions de l'analyse des documents 3 à 5 concernant les flux d'azote entre *Pinus contorta* et les bactéries endophytes diazotrophes.

Les documents révèlent une nutrition du végétal en N_2 atmosphérique grâce aux bactéries endophytes.

- Les bactéries diazotrophes sont capables de pénétrer dans les tissus des tiges et des racines de *Pinus contorta*, mais *in vivo* les bactéries ne persistent pas dans les racines des pins adultes.
- Le pourcentage d'azote foliaire est le même qu'une plante non infectée. En revanche, les tiges sont bien plus développées lorsque les bactéries endophytes sont présentes. Les souches bactériennes présentes dans les tiges favorisent la croissance de celles-ci par fixation de N_2 atmosphérique.
- Il y a un petit effet sur la croissance des racines.

NB : les bactéries sont capables d'avoir une activité nitrogénase au sein des tissus de la plante, probablement dans les tissus non photosynthétiques, car on sait que l'oxygène inhibe la nitrogénase.

Commentaire sur les copies : attention de se restreindre à ce qui est demandé dans l'énoncé, et à ce qui a été démontré

Bilan des biogéosciences : cette partie a été légèrement moins bien réussie que la biologie, mais cela s'explique sans doute notamment par le fait qu'elle se situait en fin de devoir. Il s'agissait d'un sujet tombé à l'agro, et légèrement remanié. Comme en bio, il a fallu jongler entre des questions où on attendait des hypothèses (cohérentes, ambitieuses) et des déductions (expériences en conditions contrôlées). Cela a été à l'origine de nombreuses confusions.

Erreurs à corriger :

- ^{15}N n'est pas radioactif : il est simplement plus lourd que ^{14}N . C'est ce même azote qui est utilisé dans l'expérience de Meselson et Stahl.
- Les protocoles ne sont pas forcément toujours bien lus... le fait que le ^{15}N soit introduit dans la solution du sol (nitrate) et pas dans l'atmosphère était une info essentielle.

Bilan sur les méthodes et compétences :

- De nombreuses questions portaient sur des **hypothèses** ; il faut avoir conscience qu'on peut proposer (au moins) deux types d'hypothèses :
 - hypothèse de mode d'action (ou de cause) : qu'est-ce qui explique le phénomène que l'observe ? ex : qu'est-ce qui fait que Shh s'exprime chez l'anolé mais pas chez le python ?
 - hypothèse de conséquence : quelle peut être la conséquence de ce que j'observe ? ex : quelle pourra être la conséquence de la non expression de Shh chez le python ?
- Toute confusion entre observation et interprétation, ou entre interprétation et hypothèses fera chuter la note instantanément !
- Dans trop de copies, les documents sont présentés systématiquement, mais sans que cela n'apporte d'informations importantes : c'est inutile, et surtout c'est une **perte de temps inouïe** !
- Les méthodes doivent être appliquées avec discernement :
 - Parler de « facteur variant » quand on n'a pas une expérience en conditions contrôlées, **ça n'a aucun sens** !
 - Chercher un témoin de charge dans une électrophorèse alors qu'on ne cherche pas à valider la présence ou l'absence d'une molécule, **ça n'a aucun sens** !
- La significativité doit être recherchée systématiquement, et commentée :
 - Soit les **différences sont significatives** (et il n'y a pas d'autre moyen de le dire), et alors **elles sont expliquées par le facteur variant** (i.e. le facteur variant provoque l'augmentation/la diminution du paramètre mesuré).
 - Soit les **différences sont NON-significatives**, et alors **elles NE sont PAS expliquées par le facteur variant** (i.e. elles sont expliquées par le hasard, ou par tout ce qu'on n'a pas réussi à contrôler). Conclure qu'il y a un « léger effet » ou un « effet partiel » est **ARCHIFAU** !!
 - Ce paragraphe sur la significativité est à apprendre par cœur, une bonne fois pour toutes !