

# Devoir surveillé n°2

Samedi 09 octobre 2021

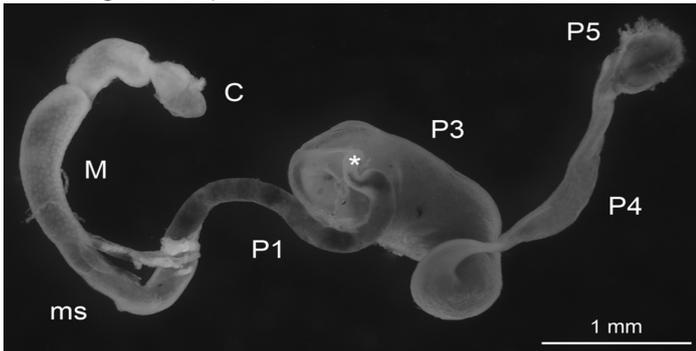
## Épreuve d'analyse de documents de biologie

durée : 2 heures

### Thème 1 – La digestion du bois par les Termites

(tiré de Köhler-Ramm, *Applied and Environmental Microbiology*, 2012)

Dans cette partie on étudiera les mécanismes permettant la digestion des particules de bois chez les Termites. Celles-ci se caractérisent par une compartimentation de leur tube digestif qui se subdivise en trois grands domaines : le tube digestif antérieur, médian et postérieur, ce dernier étant lui-même subdivisé en 5 segments (notés P1 à P5 sur le cliché ci-dessous).

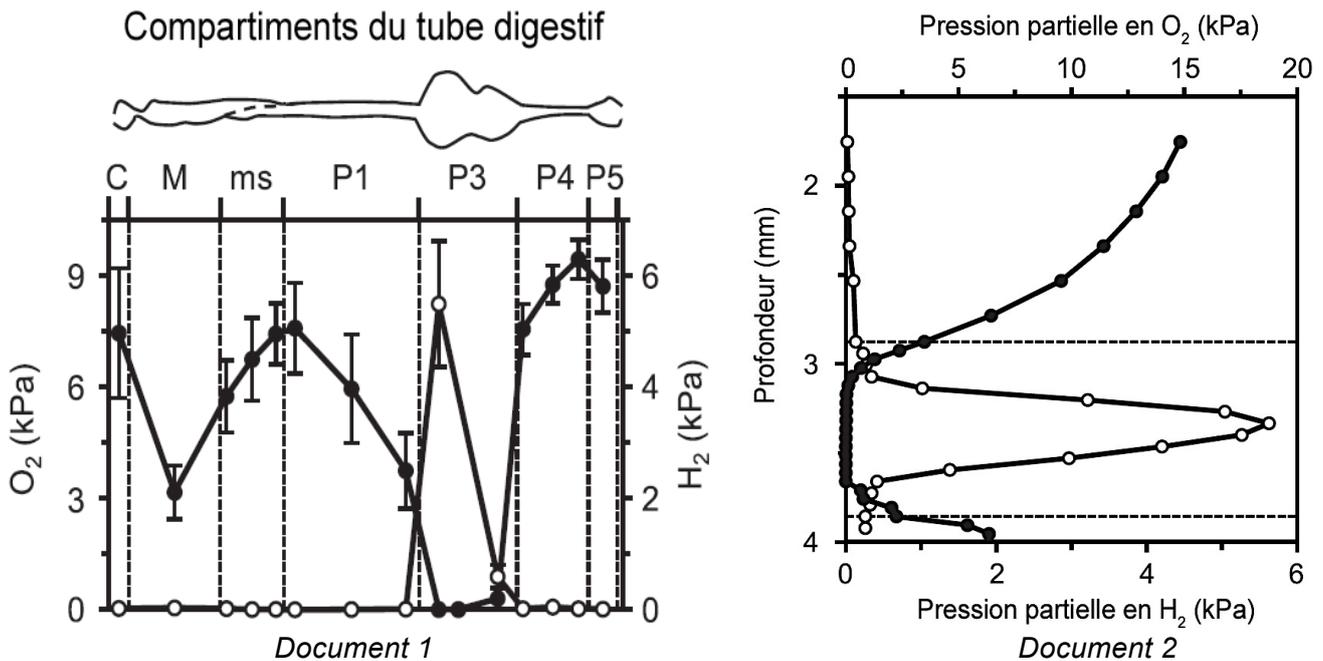


C : tube digestif antérieur ;  
M : tube digestif médian et son segment mixte (ms) ;  
P1 à P5 (\* correspond à P2) : compartiments du tube digestif postérieur.

Tube digestif extrait de la Termite *Nasutitermes corniger*

#### 1.1. Mesures des pressions partielles de gaz dans le tube digestif des Termites

Des tubes digestifs complets sont extraits par dissection d'ouvrières de l'espèce *Nasutitermes corniger* puis inclus dans une couche de 4 mm d'épaisseur de gel d'agarose. Moins de 10 minutes après l'extraction, des microsondes sont régulièrement insérées verticalement au cœur des différents compartiments du tube digestif (document 1) puis un profil radial est réalisé en insérant une microsonde de plus en plus profondément dans le gel au niveau du compartiment P3 (document 2).



Document 1 - pressions partielles en O<sub>2</sub> (●) et H<sub>2</sub> (○)

Document 2 - profil radial des pressions partielles en O<sub>2</sub> (●) et H<sub>2</sub> (○) dans le compartiment P3.

Les pointillés indiquent les limites supérieures et inférieures du compartiment P3.

**Question 1 - À partir du document 1, repérez la poche qui présente une différence majeure dans la composition des deux gaz. Comparez sa composition aux autres sections du tube digestif. En vous appuyant sur vos connaissances portant sur le rumen des vaches, proposez une origine à une telle composition en gaz.**

**Question 2 - Exploitez le document 2 pour préciser les compositions gazeuses en périphérie et au cœur de P3. Reliez cette répartition des gaz au métabolisme probable des deux régions de P3.**

**1.2. Analyse du contenu des différents compartiments du tube digestif de Termites**

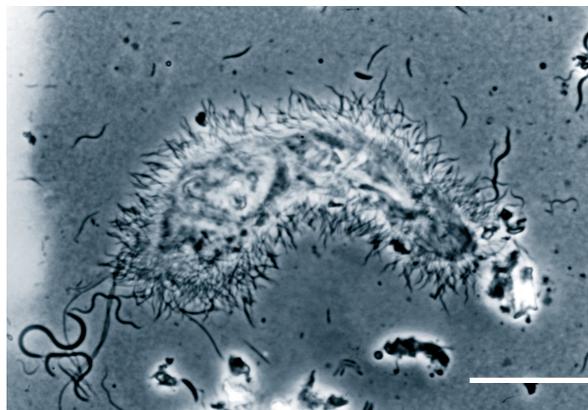
Des compartiments de tubes digestifs de *Nasutitermes corniger* sont extraits par dissection puis homogénéisés en milieu alcalin. Après centrifugation, la composition chimique du surnageant obtenu est analysée par chromatographie tandis que son contenu cellulaire est dénombré au microscope photonique.

Section	Quantité (nmol)				Masse de matière fraîche (mg)	Densité cellulaire ( $10^9 \text{ g}^{-1}$ )
	Acétate	Propionate	Butyrate	Lactate		
C	0,7 ± 0,1	0,2 ± 0,2	-	-	0,7 ± 0,2	0,21 ± 0,07
M	0,9 ± 0,0	0,2 ± 0,2	-	-	0,6 ± 0,1	0,13 ± 0,04
ms / P1	1,4 ± 0,2	01 ± 0,1	-	-	0,8 ± 0,2	0,13 ± 0,06
P3	8,6 ± 1,8	0,7 ± 0,4	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	1,4 ± 0,3	10,9 ± 3,2
P4	2,1 ± 1,0	0,6 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,20 ± 0,10
P5	1,9 ± 1,2	0,4 ± 0,2	-	0,7 ± 0,7	0,6 ± 0,5	0,07 ± 0,06
Tube total	15,6 ± 2,4	2,2 ± 0,5	0,2 ± 0,2	0,9 ± 0,7	4,5 ± 0,7	3,47 ± 0,87

*Document 3 - Composition chimique et contenu cellulaire du tube digestif*

**Question 3 - Étudiez le tableau 3 en discutant les quantités d'acides gras volatils (AGV = acétate + butyrate + propionate).**

**Question 4 - Reliez la composition en acides gras volatils à la composition cellulaire des segments digestifs. Précisez la nature des AGV produits et la voie fermentaire majeure.**

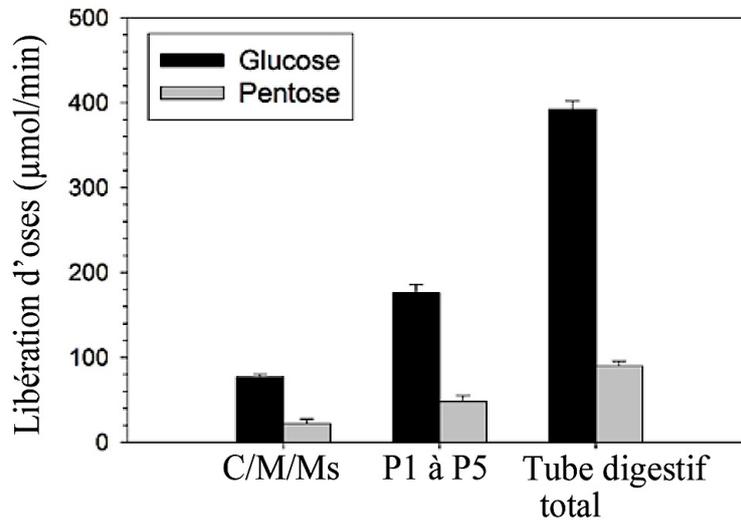


*Documents 4 - Micrographie du contenu du compartiment P3. La barre d'échelle mesure 20 µm. Cliché de Jared Leadbetter, Caltech's Department of Environmental Science and Engineering*

**Question 5 - Identifiez et légendez deux types de micro-organismes sur le document 4 (feuille en annexe à rendre avec la copie). Indiquez le grandissement de l'image de l'annexe.**

### 1.3. Activité enzymatique des compartiments digestifs

Des tubes digestifs de termites *Reticulitermes flavipes* sont extraits par dissection puis séparés en deux fractions : tube digestif antérieur + médian (C+M+Ms), et tube digestif postérieur (P1 à P5). Chaque fraction est incubée dans un tampon phosphate à pH 7, centrifugée, puis le surnageant est isolé. Chaque surnageant est ensuite mis en contact avec des fragments de bois de composition 40% cellulose, 25% hémicellulose et 20% lignine, correspondant à la composition moyenne du bois consommé par cette espèce. La libération de glucose et de pentose dans le milieu réactionnel est mesurée après 10h d'incubation.



Document 5 - Activité enzymatique des compartiments digestifs.

Les oses sont des sucres simples dont le glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ) et le ribose ( $C_5H_{10}O_5$ ).

**Question 6 - Comparez les résultats obtenus pour les fractions C/M/Ms et P1 à P5. Proposez une origine aux glucoses et pentoses retrouvés dans le milieu réactionnel. Indiquez quelle donnée manque dans le document pour conclure de façon rigoureuse.**

**Question 7 - Interprétez la valeur obtenue pour le tube digestif total.**

## Thème 2 – Bisphénol A et fonction de reproduction des Mammifères

(tiré de Hunt et al., *Current Biology*, 2003 et Li et al, *Endocrinology*, 2016 et Pan et al, *Int. J Clin Exp Med*, 2015)

Le modèle qui va servir à l'étude est la Souris. Le bisphénol A sera noté BPA.

### 1) BPA et méiose

En 2002, une équipe de chercheurs de l'Université de Cleveland, en Ohio, se trouve face à un problème inattendu avec leur élevage de souris, arrivées le 16 août dans leur unité de recherche.

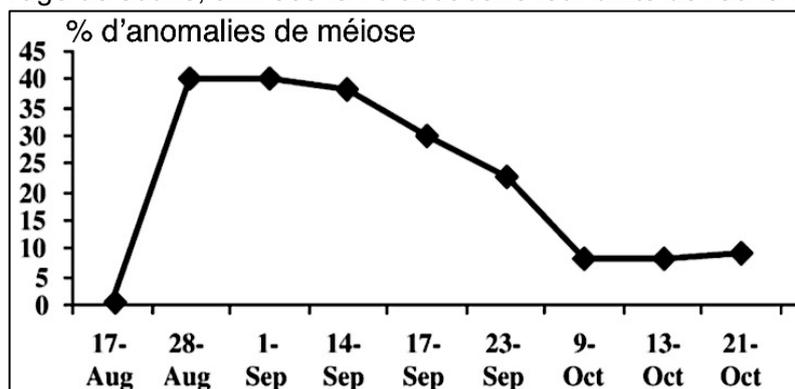


Figure 1 – Taux d'anomalies de la métaphase au cours de la fin d'été 1998

Sachant que le taux d'anomalies de méiose est de 2% en moyenne dans une population sauvage, les chercheurs de Cleveland s'interrogent. Mi-septembre, ils constatent que les biberons en PC (polycarbonate, fabriqué à partir de bisphénol A, noté BPA) distribuant l'eau aux souris sont très endommagés. Ils les changent mi-septembre.

**Question 1 – Analysez l'évolution de la courbe de la figure 1. Proposez une hypothèse permettant de relier les anomalies de méiose et l'état des biberons.**

Forts de cette observation, les chercheurs mesurent la quantité de BPA dans l'eau des biberons, par spectrométrie de masse et chromatographie en phase gazeuse.

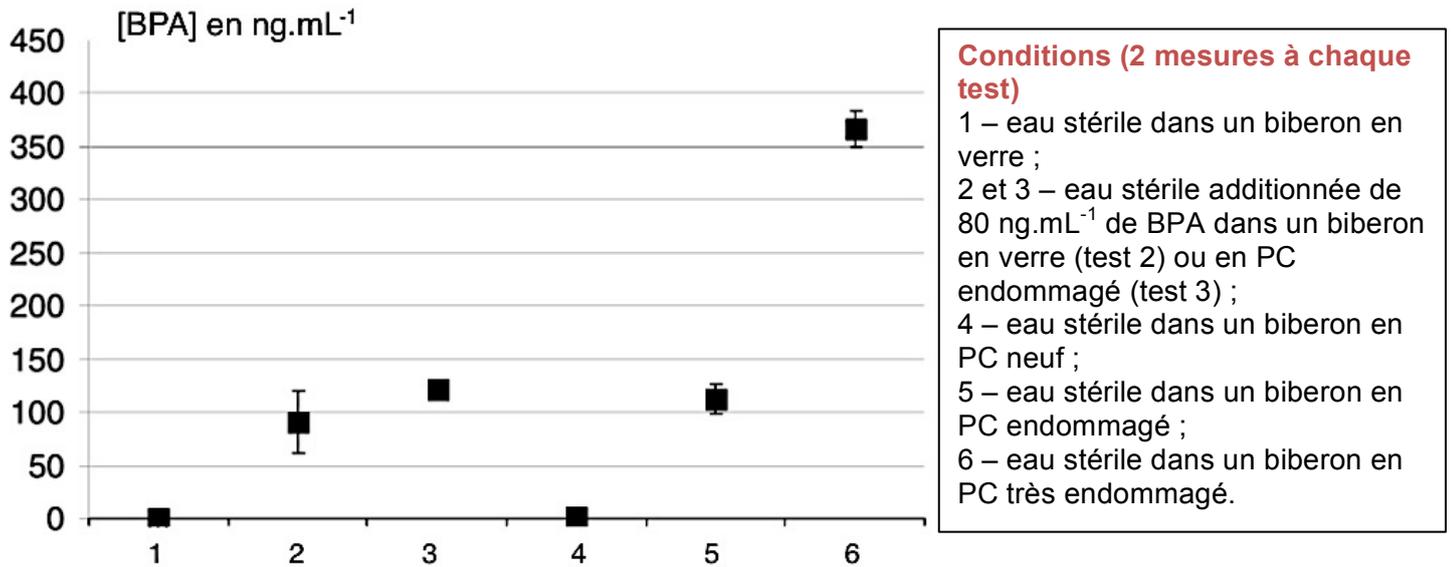


Figure 2 – Dosage de la concentration en BPA dans de l'eau distillée stérile contenue 24h à température ambiante dans différents biberons. Les conditions sont données dans l'encadré.

**Question 2 – Expliquez le but de l'essai 2. Interprétez les résultats de la figure 2 et indiquez si cette expérience permet de valider l'hypothèse proposée à la question 1.**

L'équipe de recherche teste alors l'effet des BPA sur le déroulement des méioses des souris femelles. Celles-ci reçoivent une dose quotidienne orale de BPA de 20 ng.g<sup>-1</sup> de masse corporelle. Après 3, 5 ou 7 jours de traitement, entre 67 et 140 ovocytes sont observés afin de déterminer le taux d'ovocytes dont la méiose présente une anomalie.

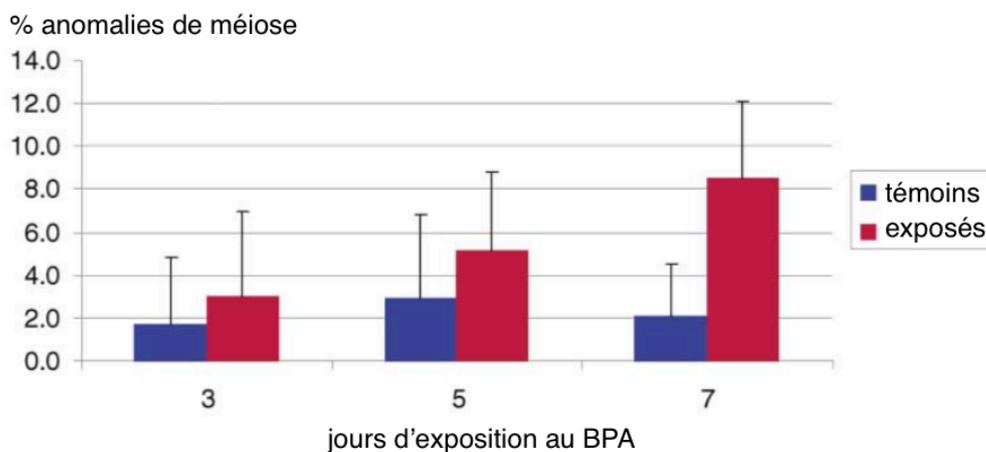


Figure 3 – Quantification des anomalies de méiose des ovocytes de souris femelles témoins ou exposées à des doses quotidiennes de 20 ng de BPA par gramme de masse corporelle pendant des durées de 3, 5 ou 7 jours avant l'analyse des ovocytes.

**Question 3 – Analysez précisément les résultats et concluez sur l'effet du BPA.**

## 2) BPA et développement utérin

**Étude 1** : des lots de 8 à 10 souris femelles sont traitées au BPA à raison de 0, 60 ou 600 µg de BPA par kg de masse corporelle. Le traitement est réalisé depuis la pré-puberté des individus. Puis, les souris sont fécondées par des mâles, tous issus de la même souche génétique et élevés de façon identique.

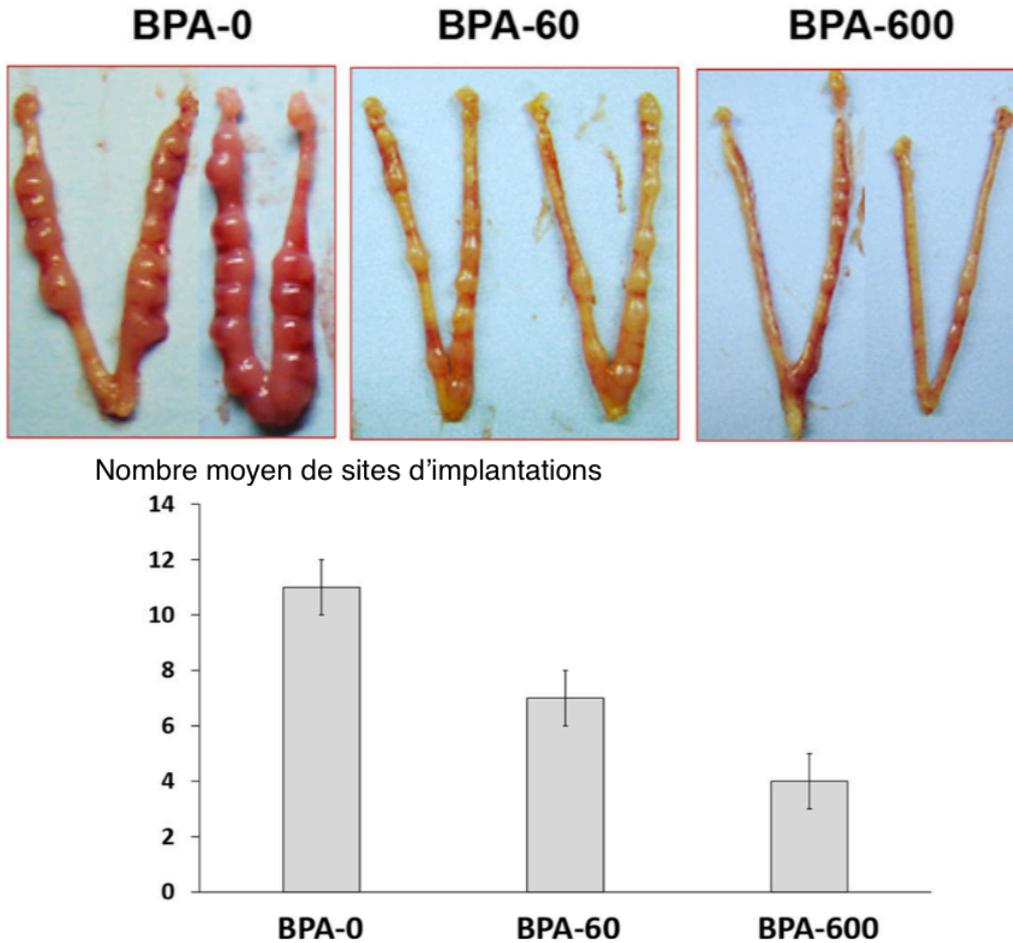


Figure 4 – Clichés d'utérus de souris gravides (grandissement x2) après traitement longue-durée au BPA et résultats de comptage des sites d'implantation des embryons.

**Question 4 – Décrivez les caractéristiques utérines des 3 lots de souris. Formulez 2 hypothèses sur l'action du BPA.**

**Étude 2** : des souris de 2 mois ont été fécondées par des mâles. Au lendemain de l'accouplement, les souris ont reçu des doses de BPA de 200, 400 ou 600 mg par kg de masse corporelle et par jour. Les analyses sont conduites au 5<sup>ème</sup> jour de gestation. Il s'agit de quantifier la dose d'œstrogènes mais aussi le nombre de récepteurs à cette hormone dans la paroi utérine des souris gestantes.

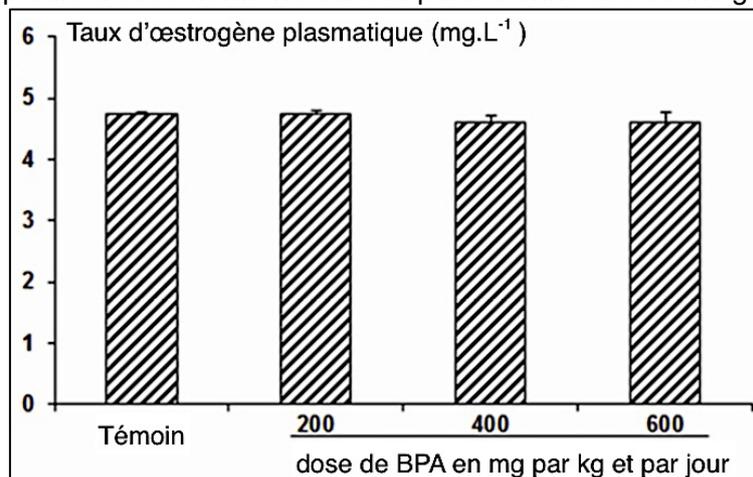


Figure 5 – Taux d'œstrogènes plasmatiques des souris gestantes traitées ou non au BPA.

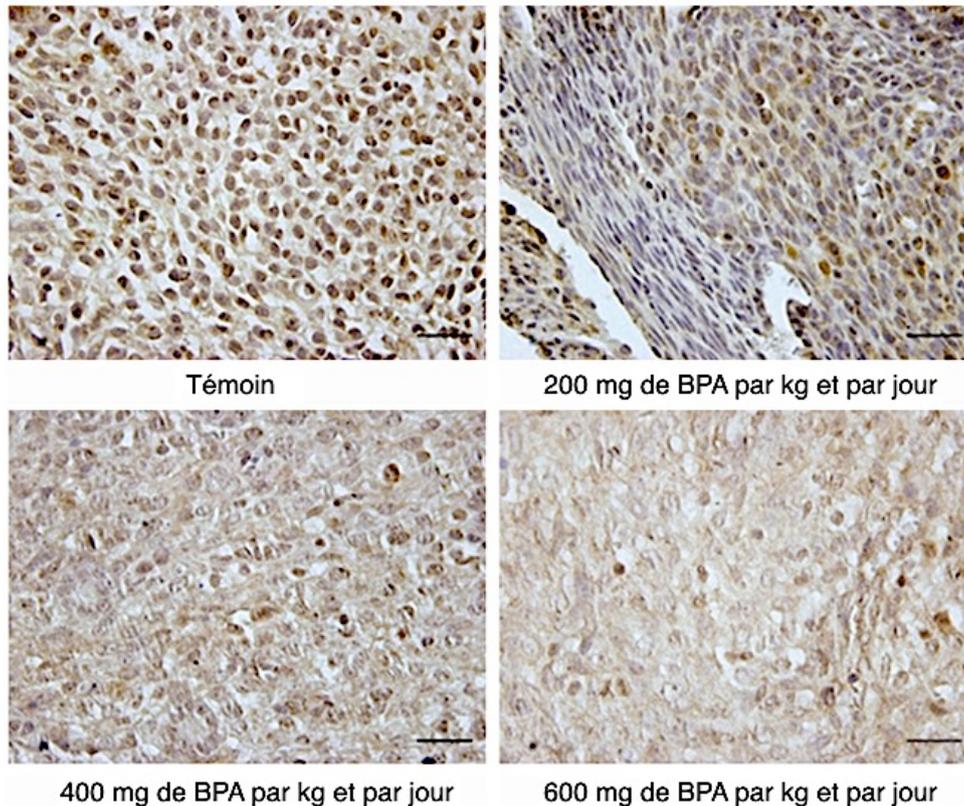


Figure 6 – Recherche et localisation des récepteurs ER à œstrogène dans les cellules de la paroi utérine. La concentration des ER est révélée par une technique d’immunohistochimie : un marqueur sombre, visible au microscope photonique, se fixe et colore les récepteurs. La barre d’échelle mesure 50  $\mu\text{m}$ .

**Question 5 – Utilisez les figures 5 et 6 pour indiquer la cible du BPA. Justifiez la réponse.**

En parallèle, l’équipe de recherche a aussi suivi la présence d’une protéine membranaire d’adhérence, l’intégrine  $\beta 3$ , qui appartient à la même famille moléculaire que les cadhérines. La quantification se fait par immunofluorescence.

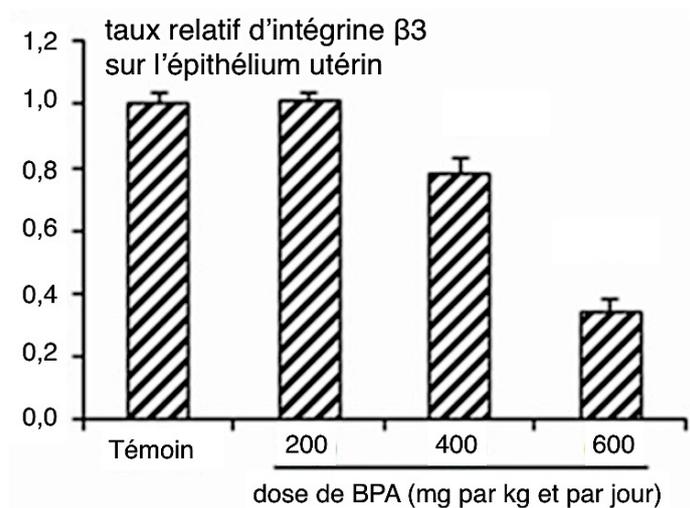
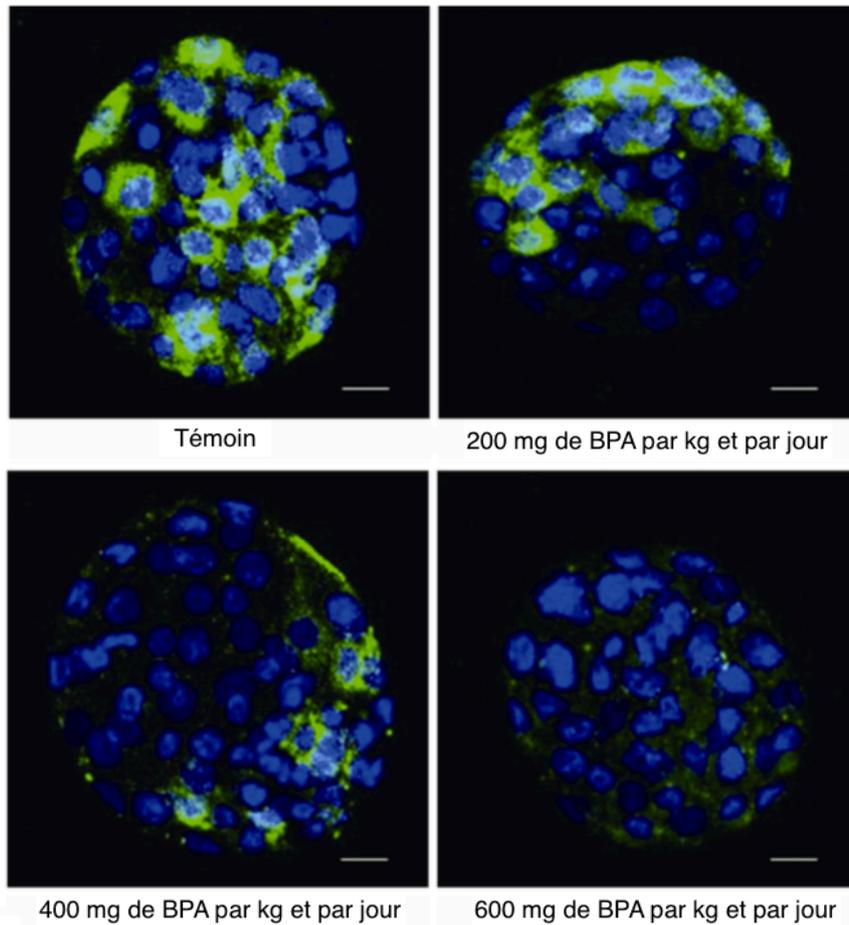


Figure 7 – Quantité relative d’intégrine  $\beta 3$  sur la membrane des cellules de l’épithélium utérin des souris gestantes.

La même analyse est réalisée sur les cellules de surface des jeunes embryons de souris, au stade embryonnaire appelé « blastocyste ».



*Figure 8 – Images de blastocystes de souris en épifluorescence avec un fluorochrome bleu colorant l'ADN et un fluorochrome vert couplé à un anticorps spécifique de l'intégrine  $\beta 3$ . Les deux clichés de fluorescence sont ici superposés. La barre d'échelle mesure 50  $\mu\text{m}$ .*

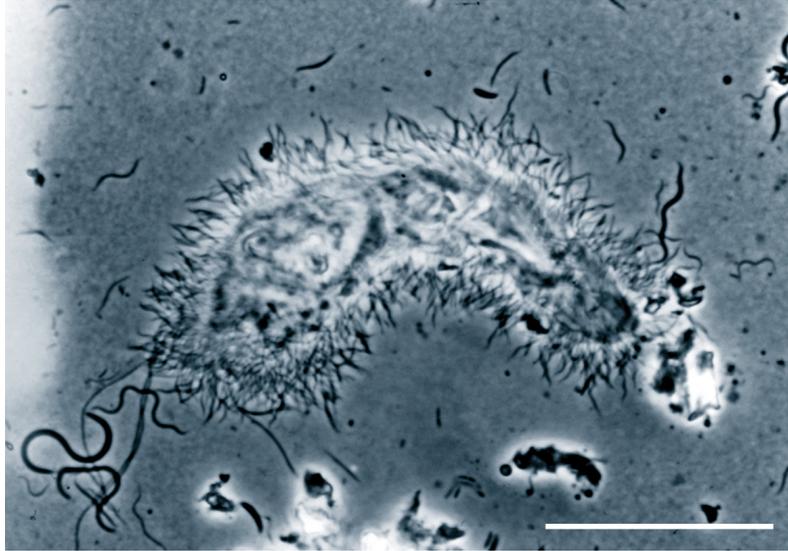
**Question 6 – Dégagez les effets des différentes doses de BPA à partir des deux analyses proposées par l'équipe de Pan.**

**Question 7 – Reliez ces conclusions aux observations de la figure 4.**

**Question Bilan – Proposez un schéma résumant les actions du BPA sur la reproduction des Mammifères.**

**ANNEXE**  
**À rendre avec la copie**

NOM



*Documents 4 - Micrographie du contenu du compartiment P3. La barre d'échelle mesure 20  $\mu$ m.  
Cliché de Jared Leadbetter.*

**Légendez le cliché de façon à identifier deux micro-organismes, le plus précisément possible.**

**Calculez ci-dessous le grossissement de l'image.**