

**BIOLOGIE**  
Épreuve B  
Durée : 3 heures 30 minutes

*L'usage d'une 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.*

**À partir de l'exploitation des documents et de vos connaissances, étudiez quelques aspects de la nutrition des coraux.**

- Le sujet contient **3 thèmes**.
- **On ne rédigera ni introduction ni conclusion générales.** Au début de chaque thème, la **problématique biologique abordée par l'ensemble des documents** devra être exposée dans un court paragraphe introductif.
- Vous proposerez deux **schémas-bilans** :
  - un premier, **à construire** à la fin du thème 1
  - un second, à la fin du thème 3, où il conviendra de **compléter la trame proposée** en annexe avec les conclusions déduites de l'étude des thèmes 2 et 3
- Le **plan** devra simplement faire apparaître **explicitement** les titres des thèmes abordés, ainsi que les numéros des documents étudiés.
- L'exposé doit se limiter aux **thèmes abordés**. Le candidat doit répondre à la **question générale** posée au début de chaque thème en s'appuyant sur les documents de ce thème.
- Les documents pourront être découpés et intégrés à la copie, **à condition d'être exploités**.

**Bibliographie**

**Thème 1 :**

*Holstein et al., Science, 1983, vol 223, 830-832*  
*Watson et al., Science, 1989, vol 243, 1589-1591*  
*Ozacmak et al., J. Exp. Biol., 2001, vol 204, 2011-2020*

**Thème 2 :**

*Takahashi et al., Plant Cell Physiol., 2004, vol 45, n°2*  
*Toren et al., Appl. Environ. Microbiol., 1998, vol 64*

**Thème 3 :**

*Ben-Haim et al., Appl. Environ. Microbiol., 2003, vol 69, n°7*  
*Kushmaro et al., Nature, 1996, vol 380*  
*Meron et al., Appl. Environ. Microbiol., 2009, vol 75*  
*Toren et al., Appl. Environ. Microbiol., 1998, vol 64*  
*Vidal-Dupiol et al., BMC Physiol., 2009, vol 9, n° 14*  
*Wood-Charlson et al., Cell. Microbiol., 2006, vol 8*

**Modes de nutrition des coraux (fiche explicative)**  
Ces données n'ont pas à être étudiées pour elles-mêmes

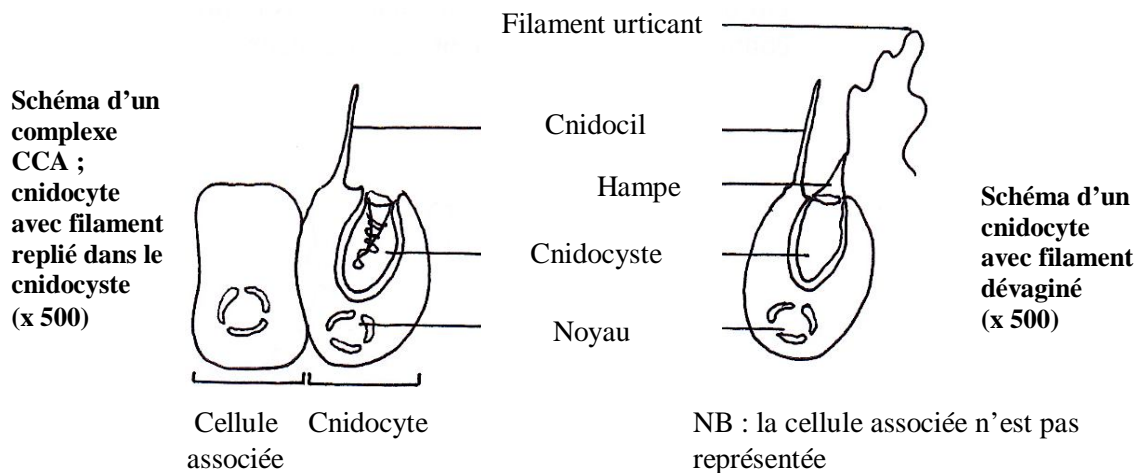
**1<sup>er</sup> mode de nutrition : la prédation grâce à des cellules spécialisées**

Les coraux sont des **cnidaires** (métazoaires) vivant généralement en colonie. Ils se nourrissent de zooplancton et de bactéries grâce à des cellules spécialisées dans la prédation : les **cnidocytes**.

Celles-ci sont hautement différenciées. Elles présentent notamment vers leur pôle apical :

- un cnidocil, expansion cytoplasmique réceptionnant les stimuli tactiles ;
- un filament urticant replié dans un cnidocyste (compartiment cellulaire) et dévaginable, qui permet de paralyser les proies. Cette dévagination est irréversible.

A chaque cnidocyte sont associées d'autres cellules épithéliales portant des récepteurs chimiques. L'ensemble cnidocyte – cellules associées sera appelé « **complexe CCA** ». Ce mode de nutrition ne constitue que 10 à 20 % des apports alimentaires du corail.



**2<sup>nd</sup> mode de nutrition : la symbiose avec des eucaryotes effectuant la photosynthèse**

La couleur jaune-brun de la majorité des coraux (fig. 1) est due à leur association symbiotique avec des **zooxanthelles** (fig. 2), qui effectuent la photosynthèse et apportent donc au corail matière organique et dioxygène. Ces eucaryotes unicellulaires contiennent des pigments tels que chlorophylles, caroténoïdes et xanthophylles. Regroupées dans des vésicules à l'intérieur de certaines cellules de l'hôte, les zooxanthelles peuvent représenter jusqu'à 60 % de la biomasse en protéines du corail. Les coraux se développent ainsi jusqu'à environ 30 m de profondeur. Si la symbiose cesse, le corail blanchit.



fig 1 - Corail *Acropora digitifera* (x3)



fig 2 - Zooxanthelles libres (x500)

**On s'intéressera à quelques aspects du rôle des cnidocytes (thème 1), avant d'étudier des modalités de la nutrition symbiotique (thème 2) et ses échecs (thème 3).**

## THEME 1 : Étude de la dévagination du filament urticant des cnidocytes

A l'aide des documents de ce thème, *dégagez les caractéristiques de la dévagination et étudiez les facteurs qui la déclenchent, avec leurs éventuels relais intracellulaires*. Discutez brièvement de leur *intérêt biologique*.

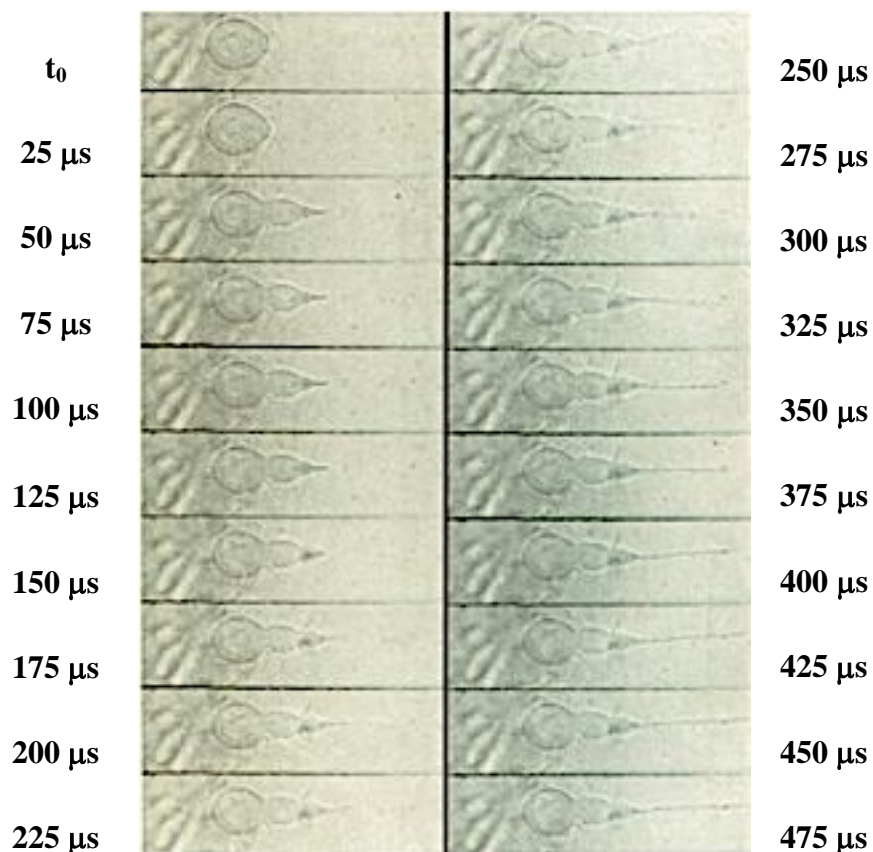
### 1-1 : Caractéristiques de la dévagination du filament urticant

#### Document 1-1 : Enregistrement cinématographique de la réaction d'un cnidocyte

On stimule électriquement un cnidocyte isolé entre lame et lamelle et la réponse morphologique de la cellule est enregistrée grâce à une caméra à haute résolution (40000 images par seconde). La séquence présentée ci-dessous vous permettra de dégager des caractéristiques du phénomène.

Enregistrement débuté dès la stimulation électrique (à  $t_0$ )

Grossissement : x 150

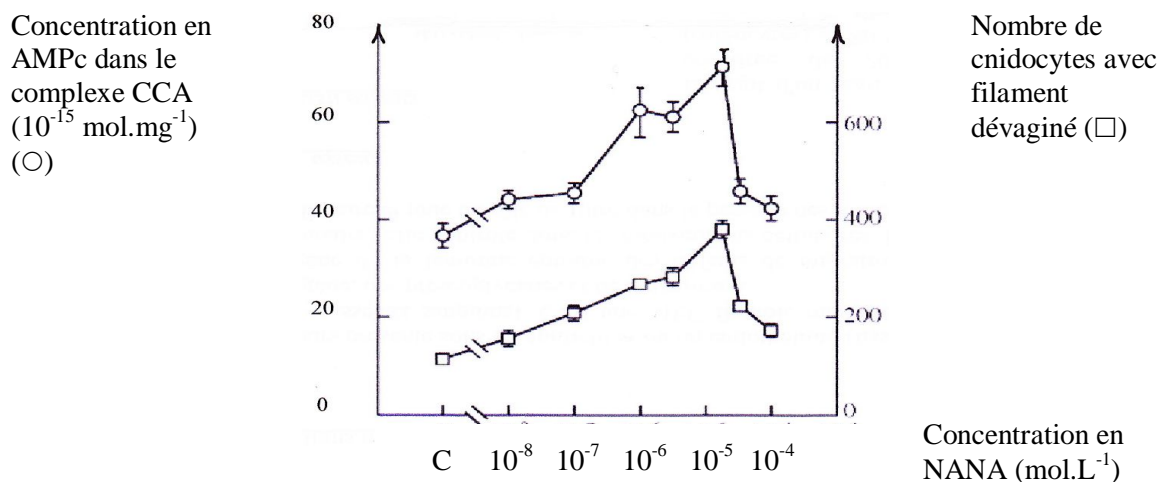


## 1-2 : Stimulation chimique de la dévagination du filament

### Document 1-2A : Réponse des complexes CCA à la mise en présence d'acide N-acétylneuraminique

Des fragments de coraux sont incubés pendant 10 minutes dans de l'eau de mer stérile contenant des concentrations différentes en acide N-acétylneuraminique (NANA). Il s'agit d'un dérivé d'ose très fréquent produit par les proies des coraux. On mesure ensuite le nombre de cnidocytes dont le filament est dévaginé et on dose la quantité d'AMPC dans les complexes CCA.

C : contrôle, c'est-à-dire dans l'eau de mer sans NANA.

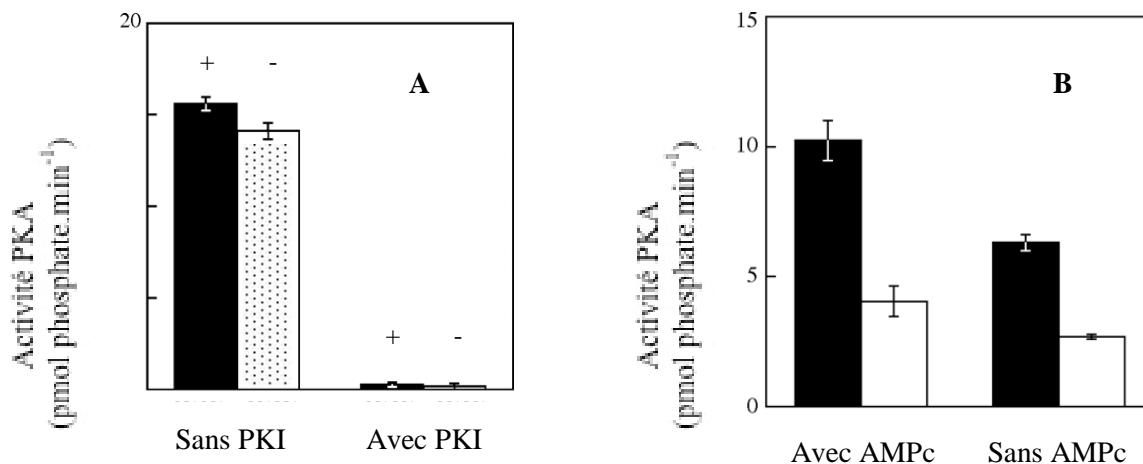


### Document 1-2B : Activité PKA dans un extrait de CCA

On prépare un extrait cellulaire de complexe CCA. On mesure l'activité de la protéine kinase (PKA) dans cet extrait placé en présence de différentes molécules : AMPC, NANA, ou PKI (inhibiteur spécifique de la PKA).

Graphes A : extrait de complexe CCA utilisé pur, additionné (+) ou non (-) de NANA ( $10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup>).

Graphes B : extrait de complexe CCA utilisé pur (colonnes noires) ou dilué deux fois (colonnes blanches).



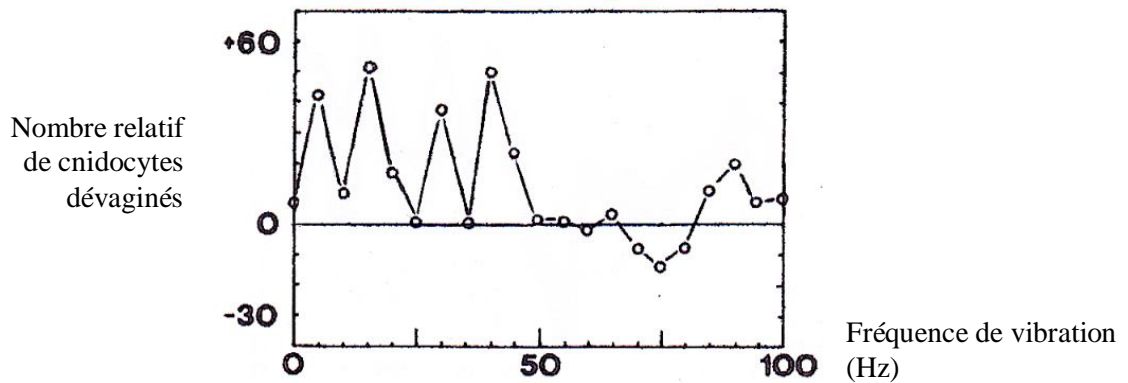
### 1-3 : Stimulation mécanique de la dévagination du filament

*In vivo*, la stimulation chimique suffit rarement à provoquer la dévagination du filament urticant. Il faut en plus une stimulation mécanique passant par l'activation des cnidocils.

#### Document 1-3A : Effet d'une stimulation mécanique sur la dévagination des cnidocytes

Des fragments de coraux incubés dans l'eau de mer en présence de NANA sont stimulés par une tige vibrante dont on peut choisir la fréquence des vibrations.

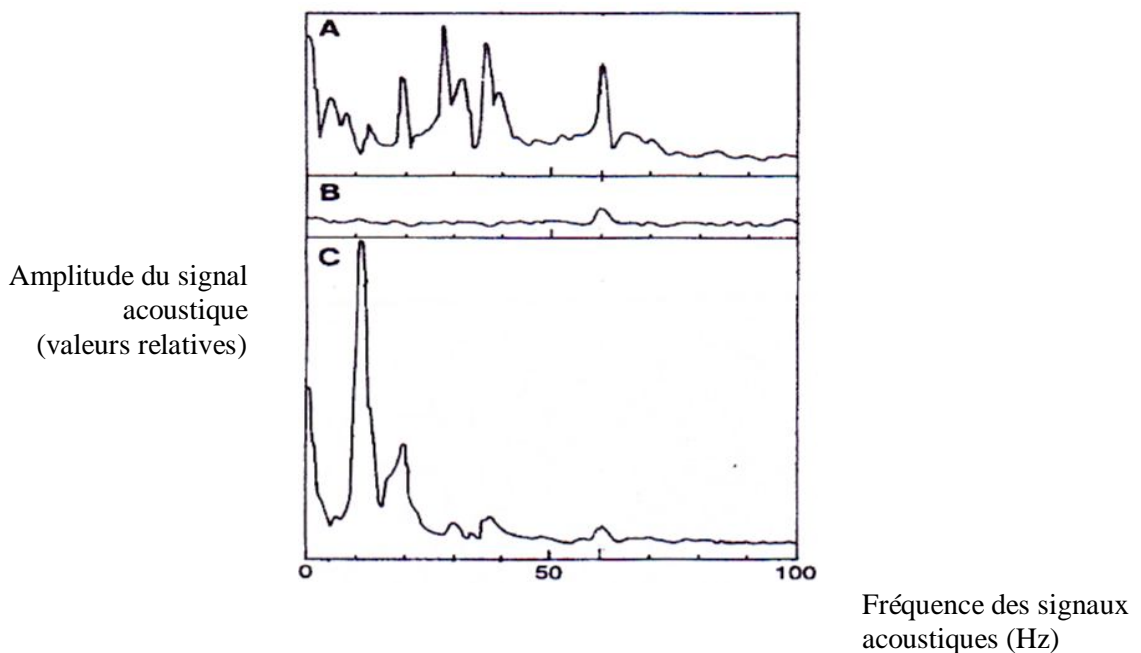
Chaque valeur est la différence entre le nombre de cnidocytes dévaginés en présence de NANA et le même nombre dans l'eau de mer seule.



#### Document 1-3B : Signaux acoustiques des proies

On enregistre enfin les signaux acoustiques générés par des proies des coraux placées dans un petit volume d'eau de mer.

A : larve nauplius de crevette ; B : eau de mer seule ; C : crevette adulte.



## THEME 2 : Conditions du milieu et blanchiment annuel du corail

Montrez en quoi l'étude des documents participe à expliquer le *caractère annuel du blanchiment du corail*. Discutez brièvement de l'*adéquation* entre les valeurs des paramètres utilisées dans les expériences et les conditions de vie du corail.

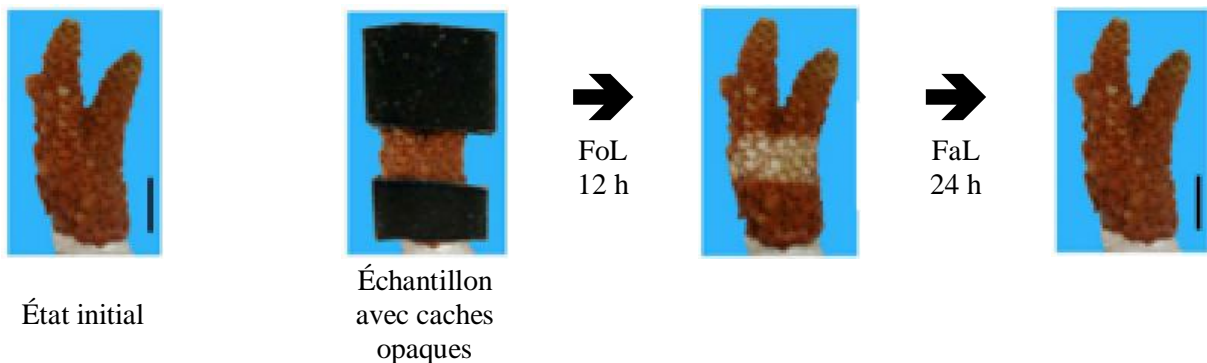
Les travaux sont tous menés sur le corail *Acropora digitifera*, dont des fragments ont été collectés à faible profondeur puis cultivés en aquarium dans ses conditions habituelles de vie (28 °C et faible luminosité : 20  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ).

### 2-1 : Effet macroscopique des variations de l'intensité lumineuse

#### Document 2-1 : Influence des conditions de culture sur l'aspect du corail

L'échantillon initial (état initial) est recouvert par deux caches opaques puis exposé à une forte luminosité (FoL) pendant 12 h, à 28 °C. Puis, les échantillons sont replacés sous faible luminosité (FaL) pendant 24 h supplémentaires à la même température.

FoL : 1000  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ; FaL : 20  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ; barre d'échelle : 10 mm.



### 2-2 : Effets physiologiques des variations de l'intensité lumineuse et de la température

#### Document 2-2A : Influence des conditions de culture sur l'association symbiotique

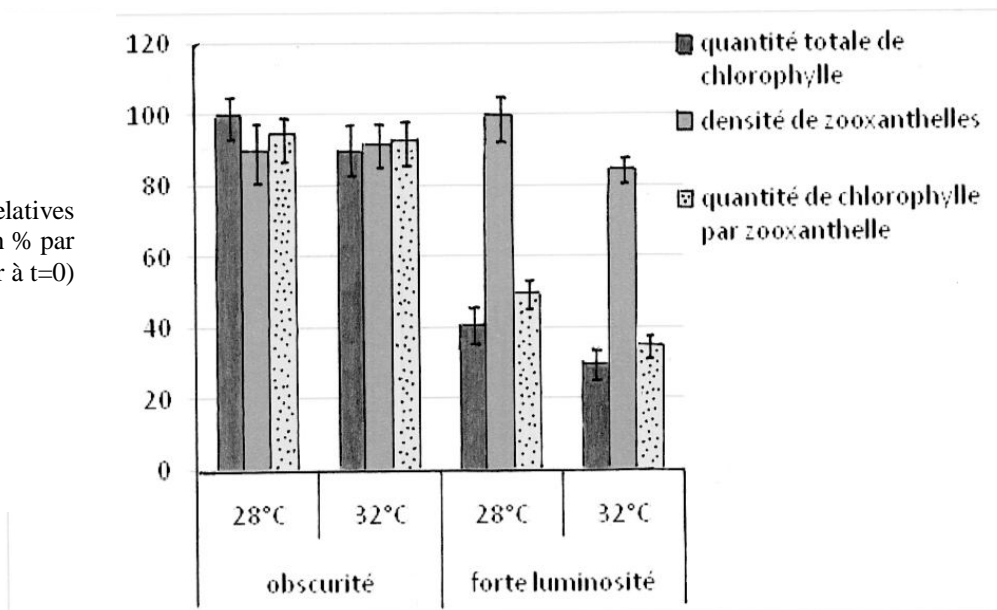
Des fragments de corail sont cultivés sous différentes conditions de luminosité et de température : à 28 °C ou 32 °C, à l'obscurité ou sous forte luminosité (0 ou 1000  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ).

Au bout de 12 h, on évalue pour les quatre conditions :

- la quantité totale de chlorophylle
- la densité de zooxanthelles en symbiose avec le corail
- la quantité de chlorophylle par zooxanthelle.



Valeurs relatives  
(à t=12h en % par  
rapport à la valeur à t=0)

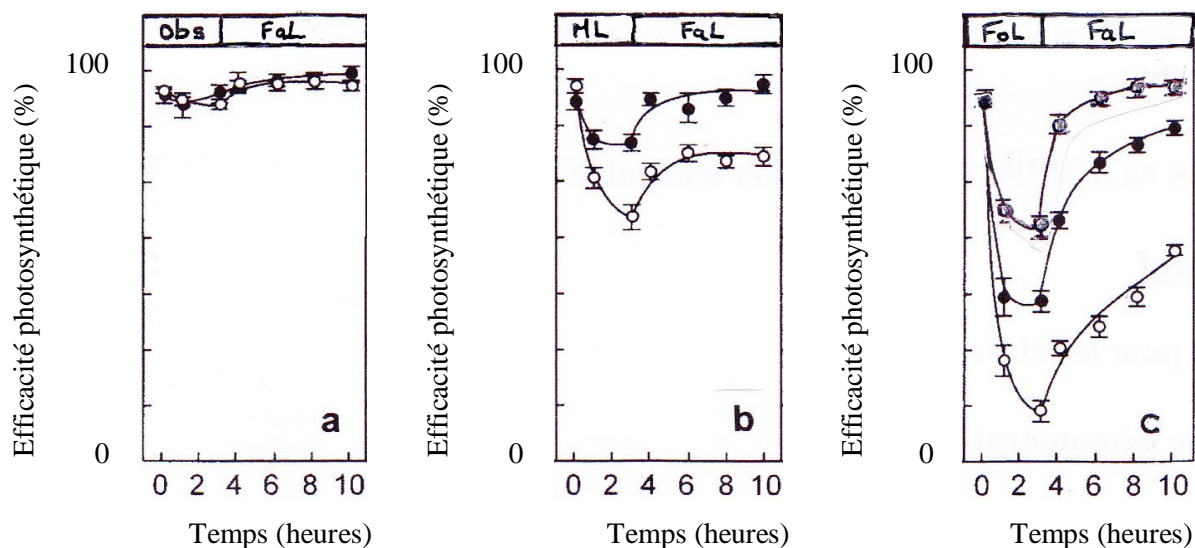


### Document 2-2B : Influence des conditions de culture sur l'efficacité photosynthétique des zooxanthelles

Des fragments de corail sont préincubés à l'obscurité (Obs) ou sous des intensités lumineuses variables (ML, FoL) pendant 3 h, avant d'être cultivés sous lumière faible (FaL). Les expériences sont réalisées à différentes températures. L'efficacité photosynthétique reflète l'intensité de la photosynthèse à chaque instant. Elle est exprimée en pourcentage de l'efficacité maximale.

Obs : 0  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ; FaL (faible luminosité) : 20  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ; ML (moyenne luminosité) : 250  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ; FoL (forte luminosité) : 1000  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Températures de culture : ○ 32 °C ● 28 °C ● 26 °C



## THEME 3 : Le blanchiment pathologique, une symbiose défectueuse

Dans certains cas, le blanchiment des coraux est définitif : il est alors pathologique et conduit à la mort du récif corallien, dont les conséquences sont autant d'ordre écologique qu'économique.

*Étudiez les facteurs biologiques aboutissant à ce blanchiment définitif.*




Nous utiliserons dans les sous-parties 3.1, 3.2 et 3.3 les résultats obtenus avec *Oculina patagonica*, une espèce de coraux méditerranéenne.

### 3-1 : Les agents biologiques responsables du blanchiment

#### Document 3-1 : Effet de la présence de bactéries *Vibrio shiloï* sur l'aspect du corail

Des bactéries ont été isolées à partir de certains coraux blanchis de façon définitive : il s'agit de *Vibrio shiloï* (*V. shiloï*). On dispose d'une culture pure de ces bactéries. Des fragments de coraux sains sont cultivés dans des aquariums différents, en présence ou non de *V. shiloï*.

	Aquarium 1	Aquarium 2	Aquarium 3
<b>Conditions de culture</b>	Eau de mer stérile 26 °C	Eau de mer stérile 26 °C	Eau de mer stérile 26 °C Antibiotiques efficaces contre <i>V. shiloï</i>
<b>Etres vivants</b>	Fragment de corail	Fragment de corail + Bactéries <i>V. shiloï</i>	Fragment de corail + Bactéries <i>V. shiloï</i>
<b>Etat du corail au bout de 22 jours</b>	Voir photo A	B	A
<b>Etat au bout de 44 jours</b>	A	C	A

	A	B	C
<b>Différents états observés</b>			
Fragment de corail (x1)			



### 3-2 : L'adhérence des bactéries aux coraux

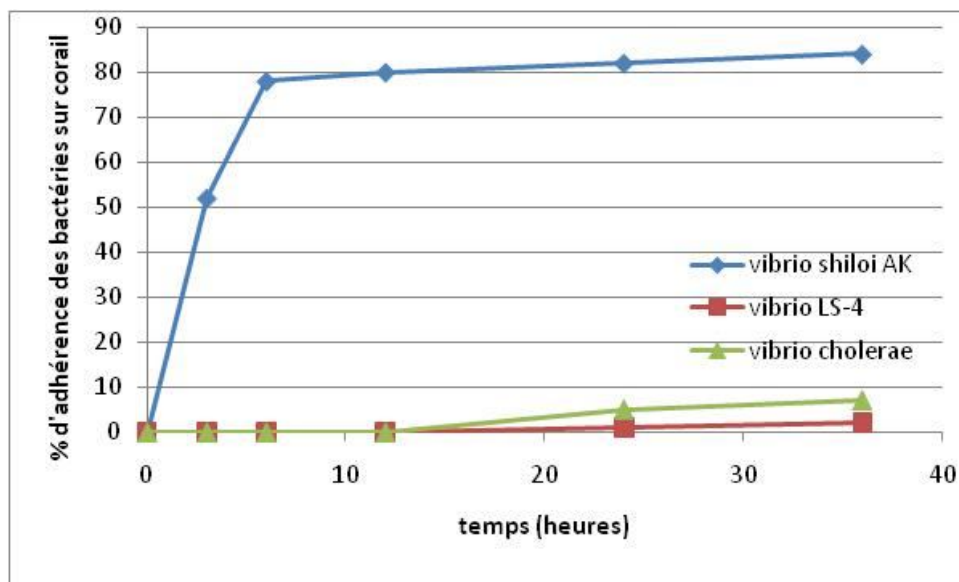
#### Document 3-2A : Adhérence des bactéries *V. shiloi* aux coraux

Les bactéries *V. shiloi* libres possèdent un flagelle qu'elles perdent une fois entrées dans les cellules coralliennes. On dispose d'une souche mutante sans flagelle, notée f<sup>-</sup>. Une culture pure de bactéries *V. shiloi* sauvage ou mutante est inoculée à des fragments de coraux sains cultivés en eau de mer stérile à 26 °C. On évalue l'adhérence des bactéries à la surface du corail au cours du temps. Le pourcentage est mesuré par rapport au nombre total de bactéries introduites.

Temps après l'infection (h)	Adhérence souche sauvage (%) moyenne ± déviation standard	Adhérence souche mutante (%) moyenne ± déviation standard
2	15 ± 3	0 ± 1
4	36 ± 6	1 ± 1
6	74 ± 4	0 ± 2
8	79 ± 3	3 ± 1
12	81 ± 2	2 ± 2
24	83 ± 5	4 ± 2
48	89 ± 2	0 ± 1
72	90 ± 1	1 ± 2

#### Document 3-2B : Adhérence des bactéries du genre *Vibrio* aux coraux

L'expérience précédente est répétée dans les mêmes conditions avec trois espèces de bactéries appartenant au genre *Vibrio* : *Vibrio shiloi* AK, *Vibrio* LS-4 et *Vibrio cholerae*. Toutes les trois sont pourvues d'un flagelle.



### **Document 3-2C : Effet des températures d'incubation sur l'adhérence des bactéries**

Les bactéries *V. shiloï* sont préalablement cultivées à 16 ou à 26 °C pendant une nuit. Elles sont ensuite inoculées à des fragments de coraux sains préalablement cultivés à 16 ou 26 °C. Chaque fragment est ensuite replacé séparément dans un aquarium maintenu à 16 ou 26 °C. L'adhérence est évaluée au bout de 6 h selon le même protocole que précédemment.

Numéro de l'expérience	Température (°C)			Adhérence des bactéries sur le corail (% , moyenne $\pm$ 5 %)
	Préculture bactérienne	Préculture du corail	Culture finale corail + bactéries	
1	16	16	16	7
2	16	26	16	0
3	16	26	26	0
4	26	26	26	79
5	26	16	26	47
6	26	16	16	53

### **3-3 : Les conséquences de l'infection bactérienne**

#### **Document 3-3A : Action des bactéries sur les Zooxanthelles**

Des zooxanthelles ont été isolées à partir de coraux *O. patagonica* et cultivées en eau de mer stérile. D'autre part, des bactéries *V. shiloï* sont mises en culture dans un milieu stérile approprié. Deux conditions de culture de zooxanthelles sont testées :

- en présence de milieu de culture bactérien, sans les bactéries (1)
- en présence de la culture bactérienne (2)

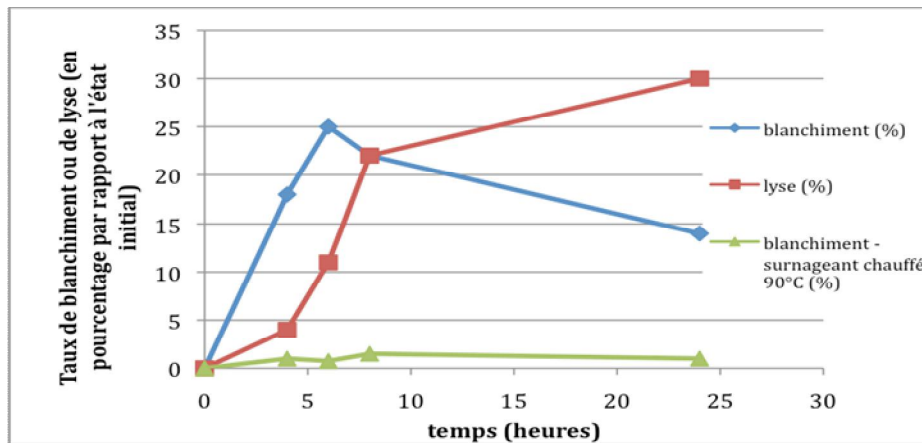
Après 24 h à 28 °C, sous agitation et en présence de lumière, on observe les zooxanthelles au microscope photonique afin de déterminer leur état (sain, blanchi ou lysé).

Les valeurs sont des moyennes, la déviation standard est de 2 %.

Suspension de zooxanthelles +	Zooxanthelles saines (%)	Zooxanthelles blanchies (%)	Zooxanthelles lysées (%)
(1) Zooxanthelles + milieu de culture	97,1	3,2	0,2
(2) Zooxanthelles + milieu de culture + <i>V. shiloï</i>	70	14,8	15,6

### **Document 3-3B : Action du surnageant filtré de culture bactérienne sur les zooxanthelles**

Des bactéries *V. shiloï* sont cultivées dans un milieu stérile pendant 48 h à 28 °C. La suspension est centrifugée. Le surnageant est filtré au travers d'une membrane dont les pores font 0,2 µm de diamètre, puis concentré. On ajoute le surnageant à une suspension de zooxanthelles et on observe leur état par microscopie au cours du temps (courbes « blanchiment » et « lyse »). Par ailleurs, on reproduit l'expérience en utilisant un surnageant chauffé à 90 °C (courbe « blanchiment – surnageant chauffé »).



### **3-4 : Conditions d'établissement de la symbiose et ses limites**

Le corail reste normalement capable de s'associer à de nouvelles zooxanthelles tout au long de sa vie. Dans cette sous-partie, les résultats sont obtenus chez les coraux *Pocillopora damicornis* et *Fungia scutaria*.

### **Document 3-4A : Taux de transcription du gène PdC-lectine**

Des fragments de coraux sains sont séparément cultivés dans deux conditions de température distinctes. Les ARN totaux sont extraits, ce qui permet, par une technique automatisée, de suivre le taux de transcription de nombreux gènes au cours du temps. On s'intéresse plus particulièrement au gène codant une protéine de type lectine, transmembranaire et capable d'interagir spécifiquement avec des groupements glucidiques.

La déviation standard est de 3 %.

		Culture à 26 °C	Culture à 32 °C
<b>Taux de transcription</b>	3 <sup>ème</sup> jour	96 %	99 %
	12 <sup>ème</sup> jour	100 %	4 %
	15 <sup>ème</sup> jour	97 %	3 %
<b>Début du blanchiment</b>		Jamais observé	15 <sup>ème</sup> jour
<b>Blanchiment total</b>		Jamais observé	18 <sup>ème</sup> jour

On note que le taux de transcription des autres gènes est globalement constant.

### Document 3-4B : Electrophorégramme de différents résultats de PCR

On extrait l'ADN du corail symbiotique cultivé à 26 °C d'une part, et de zooxanthelles d'autre part. L'ADN est amplifié par PCR en utilisant deux amorces différentes, spécifiques du gène *PdC-lectine* ou du gène d'un ARNr des zooxanthelles. Les résultats des amplifications sont séparés par électrophorèse.

- 1 : ADN extrait de corail symbiotique cultivé à 26 °C
- 2 : ADN extrait des zooxanthelles isolées à partir du corail cultivé à 26 °C
- 3 : ADN extrait de zooxanthelles cultivées seules
- A : amplification obtenue avec l'amorce du gène d'un ARNr
- B : amplification obtenue avec l'amorce du gène de la *PdC-lectine*



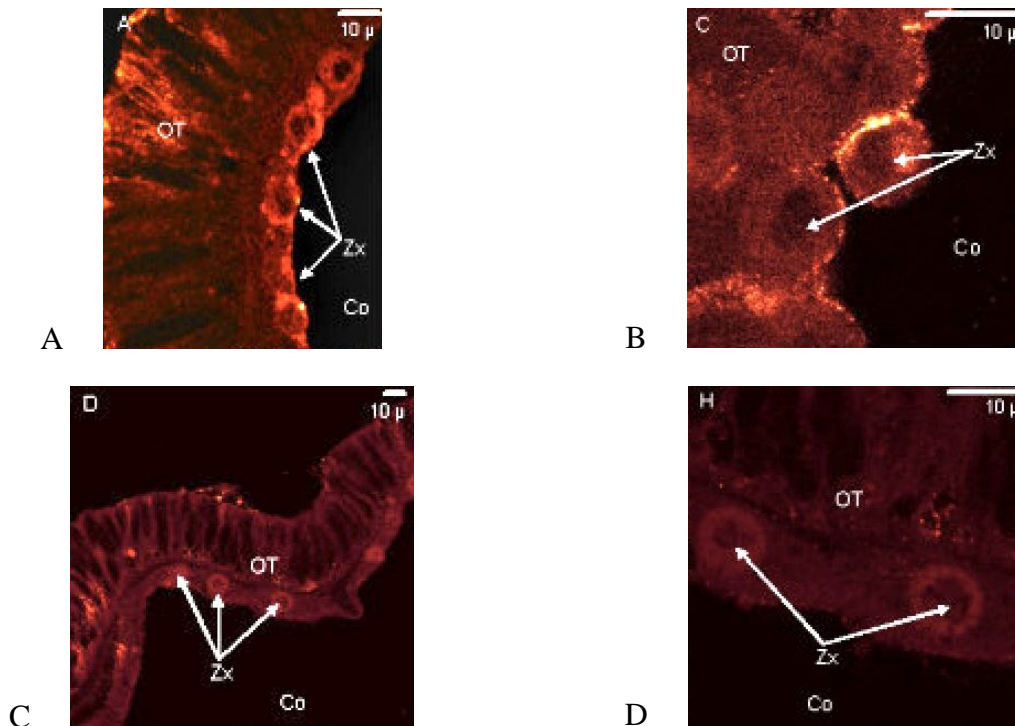
### Document 3-4C : Immunolocalisation de la protéine PdC-lectine

Des coupes fines de corail cultivé à 26 °C sont préparées. On ajoute à ces coupes, soit :

- un sérum contenant des anticorps anti - PdC-lectine (sérum immun)
- un sérum ne contenant pas ces anticorps spécifiques (sérum préimmun)

Après incubation et lavage, la présence des anticorps spécifiques est révélée par des anticorps secondaires couplés à un marqueur fluorescent dans le jaune orangé. Les coupes sont observées à différents grossissements.

- A, B : coupes incubées avec le sérum immun ; C, D : coupes incubées avec le sérum préimmun
- Zx : zooxanthelles à la surface des tissu coralliens (OT) ; Co : milieu extérieur
- Barres d'échelle : 10 µm



### **Document 3-4D : Influence de l'addition de lectines au milieu sur la mise en place de la symbiose**

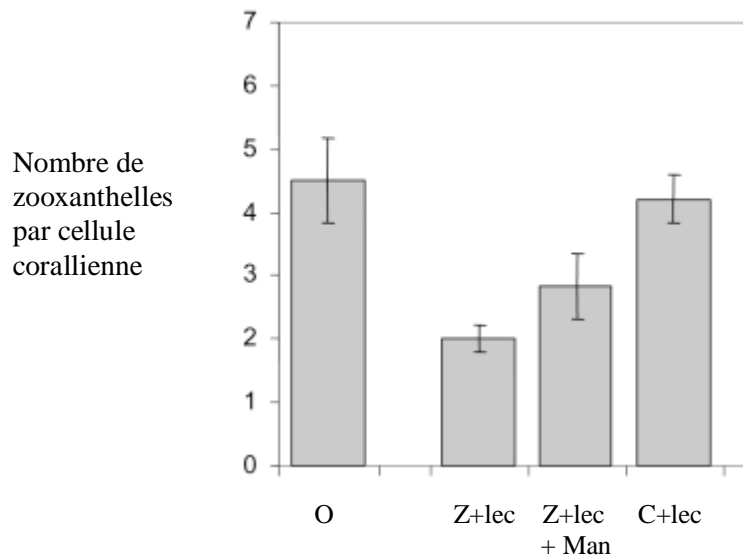
Des zooxanthelles spécifiques du corail d'une part, et des fragments de coraux d'autre part, sont préincubés en présence de lectines, spécifiques de groupements glucidiques distincts : elles se fixent sur le mannose et le glucose. Les deux partenaires sont ensuite cultivés ensemble dans un milieu dépourvu de lectine. Après 12 h, on compte le nombre moyen de zooxanthelles dans une cellule corallienne.

O : contrôle, zooxanthelle et corail sans lectine

Z + lec : zooxanthelles préincubées en présence de lectines

Z + lec + Man : zooxanthelles préincubées en présence de lectines et de mannose

C + lec : corail préincubé en présence de lectines



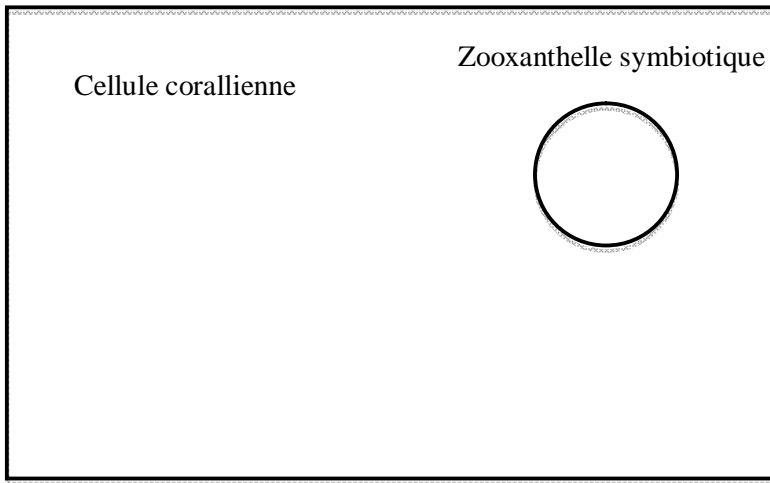
**Vous complétez le document en annexe à l'aide des conclusions déduites des documents des thèmes 2 et 3 et rendez ce schéma-bilan en le collant dans votre copie.**

**Vous y indiquerez clairement :**

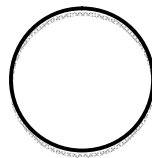
- les causes saisonnières et pathologiques du blanchiment des coraux**
- les mécanismes de ce blanchiment**

**Schéma – bilan thèmes II et III** à coller sur la copie

1<sup>er</sup> cas : à 26 °C



*Vibrio shiloï*



Zooxanthelle libre

---

2<sup>ème</sup> cas : à 32 °C

