
EPREUVE : TRAVAUX PRATIQUES DE BIOLOGIE

ENS : PARIS – LYON – CACHAN

Durée : 4 heures *Coefficients : PARIS 12* *LYON 4* *CACHAN 8*

MEMBRES DE JURYS : Y. BASSAGLIA, S. HEUSSER, J.-F. MOUSCADET, M.-A. POUL, M. ROUX, J.-C. THOMAS, R. THOMAS

Les épreuves pratiques de Biologie se sont déroulées du 17 au 20 juin 2003 dans les locaux du Département de Sciences de la Vie et de la Terre de l'ENS Lyon avec l'assistance technique de C. Beylier, H.-G. Dupuy, L. Dutron, M. Le Behec et M. Maillart, qui ont veillé au bon déroulement des travaux pratiques.

En début d'épreuve, les candidats disposaient de quinze minutes pour prendre connaissance du sujet et se familiariser avec leur poste de travail. Le sujet comportait trois parties équivalentes, la gestion des quatre heures d'épreuve étant laissée à l'appréciation des candidats.

Objectifs

Le jury souhaite, à travers les épreuves pratiques, évaluer diverses compétences :

- les qualités d'observation et d'analyse des objets biologiques
- l'habileté à manipuler dans le respect des protocoles fournis
- l'aptitude à rendre compte des observations et analyses par des représentations graphiques
- la capacité à rédiger un commentaire scientifique précis, logique, concis.

Dans cette perspective, les sujets combinent la réalisation de manipulations concrètes et la construction de compte-rendus.

Cette année, le jury a augmenté la corrélation entre les différentes parties du sujet. Ainsi, les candidats ont pu :

- étudier divers stades de germinations du point de vue morphologique et biochimique et parallèlement extraire, doser et séparer les pigments de germinations normales et étiolées
- étudier des éléments reproducteurs d'Algues et analyser les pigments d'autres Algues
- évaluer le potentiel hydrique d'épidermes colorés par des anthocyanes et réaliser l'extraction, le dosage et la séparation de ces mêmes pigments...

Des exercices indépendants d'analyse florale et d'histologie animale venaient compléter ces études.

Commentaires

- **Partie Biologie cellulaire et végétale**

Dans un exercice, il était demandé, pour ne pas alourdir la séance, une analyse florale simple comportant une formule florale, un diagramme et une coupe longitudinale. L'abondance de résultats médiocres nous amène à préciser quelques règles élémentaires de l'analyse florale :

- dans la formule florale, outre le nombre de pièces florales on peut faire figurer avantageusement la symétrie, les soudures de pièces, la position de l'ovaire, la sexualité de la fleur
- le diagramme floral est une projection sur un plan de coupes intéressant les divers verticilles floraux, il ne faut pas se contenter de coller les pièces florales dans un certain ordre
- la coupe longitudinale est un schéma légendé d'une coupe passant par l'élément de symétrie et où les pièces florales effectivement sectionnées sont hachurées, ce n'est pas une coupe longitudinale quelconque collée sur la feuille de papier.

Et chose plus révélatrice d'une bonne compréhension, formule, diagramme et coupe doivent être en parfait accord !

Dans un second exercice, corrélé à la partie Biochimie, il était clairement demandé un prélèvement, le cas échéant un traitement par un colorant, un montage sous le microscope et une interprétation. Le nombre important de réalisations médiocres, prises en compte dans la notation, nous amène ici encore à préciser que la réalisation de montages simples, l'utilisation de colorants usuels, le réglage d'un microscope, la représentation graphique exacte et scientifique de l'objet, sont souhaités pour de futurs étudiants même à l'ère de la biologie moléculaire.

D'une manière générale, les candidats sont conviés à mettre en œuvre une réflexion logique dans les tous les exercices proposés.

L'un des sujets concernait la germination de Haricot. Le libellé incitait les candidats à faire toutes observations sur les zones d'accumulation des réserves. Il était donc logique de s'intéresser aux cotylédons. Le réactif de Lugol était fourni pour cette étude. Compte tenu des trois stades d'évolution proposés, on pouvait rendre compte de la localisation des réserves amylicées, de leur mobilisation – essentiellement autour des éléments conducteurs, dont l'interprétation a été le plus souvent laborieuse. Il était intéressant de constater que l'évolution des cotylédons s'accompagnait de la différenciation de chloroplastes, de très petite taille, en grand nombre, dans les zones où l'amidon était métabolisé. On pouvait enfin constater qu'à un stade très avancé de la germination, seule une quantité assez faible des grains d'amidon avait été métabolisée. Le document de microscopie électronique associé permettait de mettre en évidence la localisation intraorganellique des grains d'amidon. Les légendes ont été souvent incomplètes, voire inexacts (mitochondries souvent interprétées comme des éléments plastidiaux...). On attendait pour terminer un commentaire général concernant les différenciations observées dans les cellules du parenchyme de réserves, et les modifications physiologiques qu'elles traduisaient. La moindre des choses était également de préciser le type de germination...

Un autre sujet portait sur l'étude des structures reproductrices d'un végétal marin. Deux fragments « fertiles » étaient fournis à chaque candidat, le végétal étant dioïque. Les examinateurs ont vérifié auprès de chaque candidat que la qualité des coupes et leur localisation dans le fragment permettaient une interprétation convenable et non ambiguë. La description des cystes reproducteurs est restée assez sommaire. Dans le cas des cryptes reproductrices femelles, de nombreuses préparations montraient différents stades d'évolution, depuis la cellule unique, jusqu'au gamétocyste au contenu totalement différencié. Ceci, très généralement, n'a pas été commenté. Les documents de microscopie électronique associés figuraient deux stades d'évolution des gamétocystes mâles, ainsi qu'un détail d'un spermatozoïde différencié. Le commentaire des micrographies est en général sommaire, voire simpliste. Stigma, noyau, mitochondries et structures flagellaires étaient parfaitement interprétables. La vue d'ensemble des gamétocystes mâles avec les deux stades d'évolution différents (flagelles non différenciés pour l'un, flagelles différenciés pour l'autre) a donné lieu à des interprétations erronées, le moins différencié étant interprété comme un cyste femelle ! Les observations concernant le nombre d'éléments reproducteurs dans la section (supérieur à 20), la forme allongée du cyste, combinées aux informations obtenues par l'étude en microscopie optique, devaient permettre d'écarter ce type d'interprétation. La conclusion devait mettre en évidence la qualité de végétal photosynthétique, à cystes reproducteurs différenciés, produisant soit des gamètes reproducteurs mâles flagellés, nombreux, soit des gamètes reproducteurs femelles peu nombreux, de grande taille, et ceci dans des cryptes fertiles unisexuées. Il était raisonnable de considérer qu'il s'agissait d'un végétal dioïque. Compte tenu de la pigmentation du végétal et de la constitution des éléments reproducteurs, on pouvait normalement conclure qu'il s'agissait d'éléments illustrant la reproduction chez une Fucale... On insistera encore une fois sur la nécessité d'une conclusion cohérente prenant en compte toutes les observations.

- Partie Biochimie

L'exercice à dominante biochimie exploitait des connaissances théoriques glanées à la fois dans les enseignements de biologie et de chimie.

Les sujets portaient sur l'analyse de pigments présents dans des couples de végétaux. Selon le sujet, le candidat comparait des germinations de maïs maintenues à la lumière ou à l'obscurité, deux algues unicellulaires *Chlamydomonas sp.* et *Phaeodactylum sp.*, un poivron rouge et un poivron vert ou encore l'épinard et le chou rouge.

Pour chacun des sujets, il s'agissait dans une première partie d'extraire des pigments à partir des végétaux et de doser les chlorophylles par une méthode spectrophotométrique. Dans un deuxième temps, les pigments étaient séparés en deux étapes : une chromatographie de partage entre une phase aqueuse et une phase organique, puis une chromatographie en couche mince sur support de silice avec un solvant fortement apolaire. Enfin, on effectuait un spectre d'absorption d'un des pigments isolé qui devait être identifié à l'aide d'une galerie de spectres.

Les notions théoriques à maîtriser relevaient du principe de la spectrophotométrie et de la chromatographie (notions de polarité). Le mode d'utilisation des micropipettes, nouveau pour certains candidats, était précisé en début d'épreuve.

Dans l'ensemble, l'extraction des pigments n'a pas posé de problèmes majeurs aux candidats. On relève cependant quelques erreurs évitables avec un peu de bon sens : pesée à même la balance, sans tare, pipetage à la micropipette sans cône, mauvaise appréciation des volumes pipetés, non équilibrage des échantillons pour la réalisation de la centrifugation. La mesure d'une absorbance n'était pas maîtrisée par environ un tiers des candidats : il fallait penser à étalonner le spectrophotomètre avec le solvant d'extraction à chaque longueur d'onde de mesure, et à diluer l'échantillon (dans le solvant d'extraction) si nécessaire. L'estimation de la quantité de chlorophylle par masse de végétal initial à l'aide des formules approchées d'Arnon était demandée : seuls 10% des candidats ont pensé à prendre en compte le coefficient de dilution de l'échantillon, le volume d'extraction total et la masse de végétal de départ. Un quart des candidats n'a pas su déduire une concentration massique de la loi de Lambert-Beer à partir de l'absorbance, du coefficient d'absorption molaire et de la masse molaire

L'observation du partage des pigments dans deux phases a laissé perplexes certains candidats. La majorité a correctement identifié deux phases (une phase aqueuse inférieure et une phase organique supérieure) mais un grand nombre a confondu les qualificatifs aqueux, soluble, hydrophile, liquide et utilisé mal à propos l'adjectif « dense ». Quelques exemples : « les pigments sont solubles dans la phase liquide », « les pigments sont plus denses que la phase aqueuse ». La notion de partage entre deux phases, principe de la chromatographie de partage, n'est pas souvent comprise.

L'identification des pigments séparés par chromatographie sur couche mince de silice, a été en général correctement effectuée, tous les éléments étant donnés dans le sujet (polarité du solvant, polarité relative des familles de pigments, différence entre chlorophylles a et b), et le raisonnement pouvant être validé a posteriori par la lecture du spectre d'absorption d'un des pigments. Seuls 30% des candidats ont mené à bien toute la manipulation à cause principalement d'un défaut de planification.

- Partie Biologie cellulaire et animale

L'épreuve d'histologie consistait en la réalisation d'un test histochimique visant à mettre en évidence l'ADN et en la vérification de la spécificité du test. Deux lames prêtes à l'emploi étaient fournies aux candidats ainsi que le protocole précis de la manipulation. La réalisation d'une lame témoin n'était pas demandée spécifiquement, mais les questions posées dans le sujet, ainsi que la mise à disposition de deux lames d'un même organe, devaient conduire les candidats à cette réalisation.

Si le protocole a été le plus souvent correctement mis en œuvre, la majorité des candidats a fait subir en parallèle les mêmes étapes aux deux lames, le défaut de réalisation du témoin étant souvent à mettre sur le compte d'une lecture trop rapide ou d'une absence de lecture du sujet avant de

commencer l'expérience. Certains candidats ont demandé une troisième lame, ou bien indiqué dans le compte-rendu l'expérience témoin qu'il aurait fallu réaliser. Dans les deux cas, une lame témoin a été fournie aux candidats, pour qu'ils puissent interpréter le test. Des expériences témoins plus complexes ont été proposées. Si certaines étaient judicieuses, nombre d'entre elles étaient soit inadaptées, soit irréalisables.

Au terme de la confection des lames, une analyse histologique des préparations était demandée sous forme d'un croquis permettant d'appréhender l'organisation générale de l'organe coupé, d'un dessin de détail mettant en évidence la structure fine d'une région de cet organe et d'une brève interprétation raisonnée.

La lecture des copies amène plusieurs remarques :

- la distinction entre croquis et dessin de détail est souvent mal maîtrisée, avec des grossissements d'observation non adaptés, des confusions dans les échelles des représentations (tube séminifère interprété comme une cellule), des légendes mal venues (caractéristiques des cellules identifiées sur le croquis)
- le soin apporté aux représentations graphiques est encore insuffisant (rappelons que la taille des figures doit être suffisante, que le crayon doit être taillé, que les traits doivent être tirés à la règle, que les abréviations sont à bannir...)
- l'habillage des croquis et dessins mérite d'être plus rigoureux avec un titre complet, des légendes précises et hiérarchisées, une indication d'échelle ou de grossissement
- les représentations demandées doivent découler de l'observation des coupes et non refléter des connaissances plus ou moins mémorisées et habilement retracées sur le papier (capillaire représenté sur le croquis comme s'il était observé au microscope électronique à transmission, enveloppe nucléaire représentée dans une cellule en cours de division !)
- l'identification des structures observées est souvent erronée, que ce soit à l'échelle de l'organe, du tissu ou de la cellule.

Il est souhaitable que les candidats gardent à l'esprit que l'étude d'un objet biologique passe par son observation attentive, à différentes échelles et en utilisant le matériel adéquat, et qu'elle se traduit par un compte-rendu propre, soigné et rigoureux. Les connaissances acquises permettent de fonder l'analyse mais ne doivent en aucun cas se substituer à l'étude de l'objet.

Résultats

La note moyenne obtenue par les 78 candidats ayant composé en travaux pratiques de Biologie à la session 2003 est de 9,75. Les notes s'étalent entre 3 et 20/20, ce qui reflète des compétences et qualités très diversifiées.

Conclusion

Les résultats de l'épreuve de travaux pratiques de Biologie peuvent encore être améliorés grâce à :

- la lecture appliquée du sujet et des questions qu'il comporte, conduisant à des réponses adaptées et précises
- l'optimisation de la gestion du temps imparti et le respect des consignes données, permettant de traiter efficacement les exercices proposés
- la réalisation attentive des manipulations et des observations, autorisant une analyse approfondie et réfléchie.
- la mise en œuvre de compte-rendus rigoureux et soignés, exploitant au mieux les connaissances acquises au cours des deux années de classes préparatoires.