

# **EPREUVE TRAVAUX PRATIQUES DE BIOLOGIE**

**ENS : PARIS – LYON - CACHAN**

*Durée : 4h*

*Coefficients : PARIS 12 - LYON 6 - CACHAN 8*

**MEMBRES DE JURYS : Y. BASSAGLIA, S. HEUSSER, M.-A POUL, J.-M. RICORT**

**M. ROUX, G. TCHERKEZ, R. THOMAS**

Les travaux pratiques se sont déroulés les 21, 22 et 23 juin dans les locaux du Département de Biochimie l'ENS Cachan, avec le concours du personnel technique de ce dernier.

## **Objectifs**

Les examinateurs désiraient apprécier les capacités des candidats à :

- organiser leur travail
- manipuler dans le respect des protocoles fournis
- observer en utilisant les outils courants du biologiste (loupe binoculaire, microscope...)
- manipuler en réalisant des montages microscopiques simples, des coupes fines, des prélèvements et dilutions de solutions
- analyser
- calculer
- traduire leur étude en schémas ou graphiques exacts, soignés, correctement légendés, titrés, munis d'une échelle
- rédiger un commentaire scientifique précis, logique, méthodique et concis

A côté de manipulations classiques, le jury propose des manipulations plus originales faisant appel à des notions théoriques connues des candidats même si les manipulations proprement dites sont nouvelles.

## Organisation des sujets

La gestion du temps était laissée à l'appréciation des candidats en dehors de contraintes techniques telles que le temps de disponibilité de coupes histologiques précisé au début de l'épreuve. Quinze minutes ont été laissées aux candidats pour lire le sujet avant le début de l'épreuve de quatre heures.

L'épreuve comportait trois parties, l'une à dominante biologie animale et cellulaire, une autre à dominante biologie végétale et cellulaire, enfin une autre à dominante biochimie, indépendantes, et qui rapportaient un nombre identique de points et auxquelles on conseillait donc d'attribuer le même laps de temps.

## Commentaires

### 1. Dominante biologie végétale et cellulaire

Cette partie comportait cette année l'étude intégrée d'une famille végétale (*Brassicacées*, *Solanacées* ou *Liliacées*) aux différents niveaux d'organisation et à différentes échelles. Le choix était laissé au candidat de réaliser les observations, manipulations et analyses proposées à sa convenance et d'appeler l'examineur quand il le souhaitait pour faire évaluer sa préparation.

A côté de rares et relativement bonnes prestations, un certain nombre reste bien faible au regard de ce qui était attendu. Outre les difficultés à gérer le temps imparti, les trois exercices ont en effet été souvent mal traités, ce qui nous amène à préciser quelques règles élémentaires relatives aux travaux pratiques :

#### 1.1 Analyse florale

Cet exercice a certainement été le plus mal traité, avec une avalanche de fleurs dépecées et collées telles quelles sur la copie. Ainsi n'est-il pas inutile de rappeler que :

- L'analyse florale est un inventaire des verticilles de la fleur, méthodique (commençant par le calice puis progressant vers le gynécée) et traduit au fur et à mesure par des notes concises qui s'expriment au travers d'une formule florale, d'un diagramme, et d'une coupe longitudinale. Les symboles et leur présentation dans la formule florale ne sont que trop rarement respectés.

- le diagramme est la projection de plusieurs coupes transversales pratiquées au niveau de chaque verticille. La partie la plus négligée, voire oubliée, est la coupe transversale de l'ovaire avec la figuration exacte des loges carpellaires, de la placentation et des ovules.

- La coupe longitudinale passe par l'axe ou le plan de symétrie. Le soin apporté à hachurer les zones sectionnées traduit la compréhension. Diagramme et coupe longitudinale doivent bien évidemment être en accord complet.

## **1.2 Coupe histologique**

On ne soulignera jamais assez la nécessité de bien lire l'énoncé ! Si un schéma d'ensemble est demandé, rappelons qu'il ne comporte pas de cellules mais seulement des figurés conventionnels. Ceci ne veut point dire qu'il doit être approximatif : forme de l'organe, reconnaissance, importance relative et limites des divers tissus doivent être rigoureuses.

Concernant les petits montages microscopiques, la notation tient compte des qualités classiquement demandées dans les manipulations de biologie cellulaire, à savoir : de la qualité du montage, de la finesse des coupes ou du prélèvement, de l'utilisation judicieuse des colorants proposés. Si la réalisation des montages a globalement été réussie, la traduction en un dessin d'observation a fréquemment été très approximative.

## **1.3 Analyse de photographies en MET**

Il était fourni un papier calque de manière à réaliser un schéma exact (« caricaturant » les structures essentielles à observer) en un minimum de temps. Certains candidats ont réalisé le calque puis par des moyens divers l'ont reporté sur la copie, menant ainsi à une perte de temps et de précision importante !

Beaucoup de candidats reconnaissent les structures cellulaires principales. Cependant l'approche logique visant à tirer les conclusions est largement imparfaite et il y a encore trop fréquemment des erreurs grossières d'interprétation.

## **2. Dominante biologie animale et cellulaire**

Cette partie était cette année intitulée : Quelques aspects de la reproduction chez les animaux.

Un premier exercice consistait à observer et trier une population de drosophiles selon deux caractères phénotypiques. Connaissant le génotype d'un des parents, les candidats devaient déduire le génotype du 2<sup>nd</sup> parent ainsi que certaines propriétés de la transmission de ces caractères, notamment si les allèles mutants étaient récessifs ou dominants, et s'il y avait ou non une liaison au sexe. Les candidats devaient également proposer un croisement permettant de lever une éventuelle ambiguïté.

Un second exercice consistait en l'étude d'une coupe histologique panoramique de l'appareil génital de la Souris mâle, colorée selon la technique du trichrome de Masson modifié.

Les candidats devaient légender un croquis de la coupe et proposer un titre ainsi qu'une échelle

pour celui-ci. Une brève interprétation était également attendue. Enfin, un dessin de détail d'une région définie était demandé, soigneusement annoté.

## 2.1 Génétique

Le tri des drosophiles a pu poser quelques difficultés, notamment car le caractère mutant des ailes (forme recourbée) était parfois confondu avec l'angle des ailes avec le corps – il n'en a pas été tenu rigueur, et pour limiter l'impact d'une erreur de ce type, les candidats devaient vérifier auprès de l'examineur que leurs observations étaient correctes, afin de ne pas raisonner sur une répartition des phénotypes erronée. Trois remarques s'imposent :

- 1) plusieurs candidats n'ont pas appelé l'examineur, se pénalisant ainsi fortement en cas d'erreur d'observation ;
- 2) une séparation des différents phénotypes au fur et à mesure facilitait la détection d'erreurs éventuelles une fois le premier tri terminé ;
- 3) trouver une répartition très irrégulière n'étonnait que peu des candidats se trompant dans l'observation, alors que cela débouchait sur un exercice de génétique manifestement fort complexe – en fait incompatible avec les hypothèses simplificatrices précisées dans l'énoncé.

Selon les séances et la difficulté du tri, il y avait ou non ambiguïté dans la liaison au sexe / la position du gène sur la partie commune / différentielle entre les chromosomes X et Y. Aucun candidat n'a détecté cette ambiguïté lorsqu'elle existait. Malgré cela, tous les candidats arrivant à ce stade de l'exercice ont proposé un ou plusieurs croisements. A nouveau trois remarques méritent d'être formulées :

- 1) proposer un croisement qui ne fait que confirmer un résultat déjà acquis ne répondait pas à la question ;
- 2) proposer un croisement n'a de sens que s'il est explicite sur les mouches devant être croisées et
- 3) sur la descendance attendue.

## 2.2 Etude histologique

L'identification des tissus et organes présents dans la coupe histologique a posé de nombreux problèmes (confusions entre tissus musculaire et adipeux, tissus musculaire et conjonctif, poil et vaisseau sanguin, spermiducte et tube séminifère, glande de Cowper et moelle épinière...). De la même manière à l'échelle cellulaire, de multiples erreurs ont été notées (confusion entre cellules épithéliales prismatique et pavimenteuse, cellule musculaire lisse et fibroblaste, cellules de Leydig et de Sertoli, spermatide et spermatogonie...). Les difficultés rencontrées par les candidats face à l'analyse de la coupe histologique peuvent s'expliquer par une observation trop peu attentive de celle-ci, une méconnaissance des caractéristiques des tissus animaux ou de la structure des organes. Si la confusion entre épидидyme et spermiducte peut être tout à fait compréhensible, les méprises sur les vaisseaux sanguins ou le tégument le sont beaucoup moins. La réalisation d'observations approfondies des préparations histologiques figurant au programme devrait permettre d'améliorer considérablement les résultats, l'expérience faisant visiblement défaut à certains candidats qui examinent la préparation histologique lame orientée vers l'objectif et lamelle vers l'éclairage.

Pour ce qui concerne l'interprétation de la coupe histologique proposée, rappelons qu'une diagnose doit être conduite et rédigée de manière rigoureuse. Il s'agit de faire état des observations

effectuées, les arguments développés permettant de construire progressivement une conclusion quant à la nature de la coupe (organes présents, type de coupe et le cas échéant position systématique de l'organisme). Il n'est pas forcément utile de tenter de démontrer que la coupe est réalisée chez un animal métazoaire triploblastique (surtout si les arguments évoqués se limitent à la présence de cellules différenciées et de tissus !), en revanche il est important de justifier l'identification des testicules par exemple. Souvent absent, le commentaire de la coupe consiste encore fréquemment en un simple énoncé de la conclusion, sans aucune justification, alors qu'il devrait être l'occasion d'explicitier les légendes du croquis. Ce type d'exercice nécessite que le candidat mobilise ses connaissances théoriques et pratiques, en l'occurrence concernant l'anatomie de la Souris, pour analyser la préparation histologique correctement.

Enfin, le dessin de détail a donné lieu à des prestations généralement moyennes. En guise de dessin, les candidats réalisent le plus souvent des schémas qui ne correspondent pas à la coupe qu'ils observent, mais plutôt à une illustration mémorisée (dès lors que la structure à dessiner a fait l'objet d'une figure dans un cours). Leur taille trop réduite n'autorise pas une représentation fidèle des détails importants comme l'évolution des contenus nucléaires dans les tubes séminifères ou les expansions apicales des cellules de l'épithélium de l'épididyme. Les proportions des structures sont rarement respectées (épaisseurs relatives des différentes tuniques, dimensions relatives des cellules et des noyaux...) et le trait manque de fermeté, de régularité. Ici encore, il est souhaitable que la qualité du compte-rendu des observations sous forme de représentation graphique fasse l'objet d'un entraînement.

Au final, des erreurs surprenantes ont été relevées concernant l'identification de la coupe (coupe de Planaire, coupe de Gastéropode), le déroulement de la méiose (spermatogonie en première division de méiose) ou encore les conclusions (la présence de globules rouges est caractéristique des Vertébrés), laissant à penser que certains candidats ne maîtrisent pas divers aspects de la discipline.

Parmi les problèmes récurrents, celui de l'échelle s'est à nouveau posé. Après avoir examiné des *Drosophiles* de quelques millimètres, certains candidats ont interprété la coupe histologique de plus d'un centimètre comme étant réalisée dans des testicules de *Drosophile* ! Nombre d'entre eux identifient des vaisseaux capillaires ou des cellules sur le croquis, représentation dont le grossissement variait d'un facteur 10 à 20 ! Corrélativement, les échelles graphiques qu'ils proposent sont souvent fantaisistes et ne correspondent pas au facteur de grossissement qu'ils fournissent. Signalons à ce propos que les échelles graphiques d'une dimension voisine de celle de la coupe sont abusives et que l'indication conjointe d'un grossissement et d'une échelle graphique n'est pas nécessaire. Si cette dernière est réalisée, elle doit être cohérente et rigoureuse avec une précision concernant la nature du grossissement (de l'observation ? de la figure ?).

Il convient de souligner que l'habillage des représentations graphiques, qu'elles soient fournies ou réalisées par le candidat, doit permettre au lecteur de comprendre l'organisation de la coupe et de connaître sa nature. Outre le titre et l'échelle, les légendes et leur disposition sont importantes. La hiérarchisation est un moyen de proposer des légendes complètes, rendant compte de l'agencement des structures.

De la même manière, les candidats doivent porter une grande attention au soin et à la présentation de leur copie. Les traits de rappel, comme les échelles graphiques, doivent être tirés à la règle. L'écriture doit être lisible, et s'ils utilisent un crayon à mine graphite, celui-ci doit être correctement taillé.

De manière générale, ces consignes commencent à être prises en compte. Des efforts restent néanmoins à faire du point de vue de la forme comme du fond pour qu'observation, commentaire et représentation graphique soient totalement satisfaisants.

# Dominante biochimie

L'exercice à dominante biochimie nécessitait des connaissances théoriques et pratiques dans les domaines de la biologie et de la chimie. Cette année, les sujets étaient centrés sur la réalisation et l'analyse du fractionnement d'échantillons biologiques (sérum, lait) par une technique chromatographique (chromatographie d'exclusion ou chromatographie échangeuse d'ions). On recherchait et/ou dosait alors dans les fractions obtenues la présence de différents composés d'intérêt par des techniques colorimétriques (protéines totales, albumine, immunoglobulines ou encore lactose) et l'on pouvait conclure quand à l'efficacité de la méthode utilisée.

Si, dans l'ensemble, les manipulations sont correctement effectuées, le jury regrette le manque d'organisation de nombreux candidats. Ce manque d'organisation rendait la réalisation complète de l'exercice pratiquement impossible dans le temps recommandé, soit 1 heure et 20 minutes. Notamment, alors que toutes les indications pratiques expérimentales étaient données, il est toujours étonnant de constater que les candidats, au lieu de suivre ces consignes, se lancent parfois dans des manipulations hasardeuses et chronophages.

Alors que l'exercice paraissait élémentaire, les membres du jury ont constaté avec surprise la difficulté que représentait pour certains le recueil de fractions de 1 ou 2 mL sans avoir à leur disposition de tubes gradués. Peu de candidats ont eu le réflexe de graduer eux-mêmes les tubes à hémolyse mis à leur disposition en effectuant un tube de référence contenant le volume adéquat. La notion de recueil de fractions n'est elle-même pas toujours bien comprise. Certains candidats laissent couler l'intégralité de l'éluat dans un bécher puis prélèvent alors des volumes identiques qu'ils répartissent dans les différents tubes !!!

Les manipulations, comme tous les ans, prévoyaient l'usage de micropipettes. Même si le fonctionnement ces dernières est systématiquement expliqué en début d'épreuve, le jury constate qu'un candidat novice dans leur utilisation hésite parfois longuement et de ce fait perd un temps précieux. Le jury pense donc qu'il serait judicieux que les établissements scolaires se dotent d'un jeu de pipettes automatiques afin de préparer efficacement leurs candidats à l'épreuve pratique.

Bien souvent, les candidats n'utilisent pas le matériel mis à leur disposition. Dans le cas présent, peu de candidats ont compris et utilisé une série de tubes déjà préparée aidant à effectuer une dilution. Bien pire, dans de très nombreux cas, ces tubes, remplis d'un volume fixe d'eau, ont été utilisés pour effectuer le recueil des fractions sortant de la colonne; et ceci, sans que la notion de dilution des échantillons prélevés n'interpelle les candidats.

Comme tous les ans, de nombreux candidats n'hésitent pas à indiquer dans leur copie des valeurs d'absorbance négatives défiant ainsi toutes les lois de la physique.

## **Conclusion générale**

La rigueur attendue des candidats pour la réalisation des exercices doit également apparaître dans l'expression écrite. De façon surprenante à ce niveau, le jury constate que l'orthographe et la syntaxe des candidats empire d'année en année à tel point que certaines copies nécessitent une lecture phonétique pour être comprises !

Cela est d'autant plus dommageable lorsque les termes mal orthographiés appartiennent au vocabulaire biologique courant ; c'était notamment le cas des noms des pièces florales. Le vocabulaire employé doit être correct (confusion entre sérum et sang, spermatocyste, spermatogonine, membrane du testicule, spermatides I et II, canal defférent avec cellules de garde...). L'orthographe doit être maîtrisée, en particulier pour les termes scientifiques (intersticielle, sémminifère, spermatozoïde, cellules mioïdes, coupe transversalle ou transversal, ancéphale...) et les règles de la grammaire respectées (gamète est ainsi un terme masculin, les noms et adjectifs s'accordent au pluriel...). En outre, les abréviations non conventionnelles doivent être bannies (CT). Des phrases comme "il permet de déterminer quand est-ce que l'albumine est diluée" pourraient être dorénavant sanctionnées.

Au final, la moyenne des notes obtenues par les 78 candidats qui se sont présentés aux épreuves pratiques de Biologie est de 10,20 sur 20, les notes minimale et maximale étant respectivement de 3,5 et 19 sur 20.

Les rapports successifs se ressemblent terriblement et l'on ne redira jamais assez que les qualités demandées s'apprennent progressivement en classe préparatoire et qu'il suffit de les panacher judicieusement : connaissances de bases, réflexes pratiques, gestion du temps et ... bon sens !