

EPREUVE de Travaux Pratiques de Biologie

ENS : PARIS LYON CACHAN

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

MEMBRES DE JURYS : Olivier Hamant, Aurélie Hoppeler, Aurélie Marlin, Vincent Mirabet, Valérie Peris-Delacroix, Marie-Alix Poul

Les candidats passent 3 épreuves successives de 1h20 chacune. Chaque sujet est distribué en début d'épreuve et ramassé avant le début de l'épreuve suivante. Une petite pause de 2 à 3 minutes permet à l'équipe technique de débarrasser les paillasses et d'installer le nécessaire à l'épreuve suivante.

Les candidats disposent d'un temps de lecture (non comptabilisé) puis ils bénéficient au besoin de quelques précisions concernant l'épreuve et ils peuvent aussi poser leurs questions avant de débiter leur manipulation. La rédaction des réponses se fait directement sur les emplacements prévus sur le sujet. Des calculatrices (simples) sont fournies et imposées aux candidats.

Les candidats doivent donc prévoir de passer au moins 5 heures sur le centre d'examens.

L'objectif de cette épreuve est d'évaluer les connaissances des candidats dans différents domaines de la biologie. Le jury est particulièrement attentif à la qualité des observations, aux raisonnements et/ou l'analyse de leurs résultats et aux initiatives dont les candidats doivent faire preuve.

Cette année, 76 candidats ont concouru sur l'épreuve pratique de biologie. Les notes obtenues s'étalent de 2 à 17,5. La moyenne de l'épreuve a été de 10,56 avec un écart type de 3,76.

A noter : Les candidats sont concentrés sur leur copie, mais en oublient parfois de tenir compte des exigences orales du jury. Le jury apprécierait que des demandes simples réitérées plusieurs fois pendant l'épreuve, telles que le fait de mettre les noms sur les différentes feuilles des copies, soient respectées.

Epreuve de Biologie Végétale

L'épreuve de travaux pratiques de biologie végétale était axée sur l'observation quantitative d'un certain nombre de paramètres à plusieurs échelles, de l'organisme entier jusqu'à l'intérieur de la cellule.

Le biologiste du XXI^{ème} siècle étant amené à réaliser des modèles informatiques, il doit pouvoir collecter de telles quantifications pour faire des hypothèses (et donc des algorithmes) crédibles. Dans un premier exercice, les candidats devaient comparer les différences (en les quantifiant) entre une plantule sauvage et une plantule mutante cultivées *in vitro*. Aucun protocole n'était fourni pour conduire cette analyse. Dans un deuxième exercice, les candidats devaient réaliser une coupe histologique et sur la base de ces préparations, certaines données devaient être mesurées et/ou calculées. Enfin, un document couleur (immunolocalisation, croissance de tube pollinique...) était fourni pour permettre aux candidats d'analyser des structures intracellulaires. Les échelles n'étaient pas fournies. Pour les trois exercices, des questions très ciblées (quelle est l'identité de la structure X ; quelle est le diamètre de l'organe Y) étaient accompagnées de questions plus ouvertes permettant aux candidats les plus créatifs de se révéler (Quelle méthode avez-vous utilisé pour... ; Sur la base de ces images, proposez un scénario expliquant... ; Proposez une expérience pour tester votre hypothèse...).

Ex.1

La très grande majorité des candidats s'est contenté d'utiliser la loupe binoculaire (parfois sans allumer la lampe qui l'accompagnait) pour répondre au premier exercice. Pour trouver 10 différences et les quantifier, l'utilisation du microscope était pourtant absolument nécessaire, et son utilisation était fortement suggérée dans l'énoncé. Par ailleurs, le concept de mutant est parfois mal compris. En particulier, tous les mutants ne sont pas forcément homéotiques. Certains candidats ont proposé une conversion homéotique de la racine en tige (et réciproquement de la tige en racine) chez le mutant alors que l'hypothèse la plus parcimonieuse n'était évidemment pas celle-là. Si l'interprétation du rôle du gène sur la base du phénotype mutant est en général bien acquise, il est frappant de noter que le mot « gène » appelle quasi invariablement le mot « ARNm », comme si les deux mots, se suivant dans le cours, devenaient indissociables. Ici on posait une question ouverte, du type, « proposez une expérience complémentaire pour confirmer votre hypothèse sur la fonction du gène », et bien peu ont pensé à des mesures morphométriques plus poussées (taux de division cellulaire...), à des dosages hormonaux chez le mutant (pour l'élongation par exemple), et encore moins à l'utilisation de plantes surexprimant le gène concerné pour voir si le phénotype opposé serait observé. Enfin, des réponses trop souvent imprécises ont été fournies : « le gène G contrôle l'élongation cellulaire » dans quel sens ? « la feuille du mutant est plus petite que le sauvage » de combien ? « pour confirmer notre hypothèse, nous testerons la mutation sur d'autres plantules » pour avoir un effectif plus important ? pour voir si la mutation donne le même phénotype chez une autre espèce ? Dans le doute, le jury choisit toujours la réponse fautive, récompensant par défaut les candidats qui sont précis et concis.

Ex.2

L'exercice 2 était basé sur le calcul de dimensions d'organe, tissus et cellules à partir d'une coupe transversale et d'une coupe longitudinale.

Remarques liées à la méthodologie : Les candidats ont pour certains encore du mal à gérer leur temps, en effet les colorations permettaient de réaliser d'autres parties du sujet pendant les temps d'incubation, tous n'en ont pas profité. La mesure de grandeurs simples au microscope pose encore de très nombreux problèmes aux candidats, qui se satisfont souvent d'approximations grossières et n'utilisent pas le matériel fourni pour la mesure. A la demande sur la variabilité des données, deux candidats ont pensé à l'écart-type ou la variance, certains ont donné des bornes, la plupart n'ont pas su répondre. La moyenne et l'écart type sont des mesures de base d'une quantification standard, il serait bon que les candidats aient naturellement le réflexe d'utiliser les deux.

Remarques anecdotiques: les candidats ont tendance lors de l'appel du jury à confondre transversal et longitudinal. Curieusement, dans le même tableau sur deux lignes consécutives, on trouve parfois 0.07 mm suivi de 70 μm , ou autres mélanges d'unités.

Remarques plus gênantes : à mélanger les unités ou vouloir absolument utiliser les mètres ou millimètres, des candidats se trompent dans les calculs de plusieurs ordres de grandeur. Le jury a encore trouvé des volumes en mm^2 et des surfaces en mm. Il est impératif que les candidats n'aient aucune hésitation quant à ces grandeurs ! Même si le sujet n'avait pas vocation à tester les connaissances des candidats, le jury a été troublé de voir des coupes de limbe là où le pétiole était demandé. Le jury comprend la hantise des candidats à laisser des cadres vides, mais se serait passé de réponses à la question « comment calculer la moyenne de... » de la forme « pour calculer la moyenne, je mesure les valeurs et je fais la moyenne ».

Certains candidats ont encore du mal avec la lecture des sujets, puisque certains ont réalisé les calculs et les coupes, mais n'ont pas appelé le jury. La cohérence entre les résultats est elle-même quelquefois mal respectée, d'une coupe transversale à une coupe longitudinale certains candidats trouvent pour un même type cellulaire une différence d'un ou deux ordres de taille.

De la même manière, certains candidats parviennent à trouver des épaisseurs de parenchyme plus grandes que le diamètre de l'organe.

Ex. 3

L'exercice sur document a en général été bien compris. Les ordres de grandeur étaient souvent corrects. Quelques erreurs notables toutefois : un noyau cellulaire qui mesure 1,5 mm ou 10 nm devrait susciter l'étonnement du candidat ; un candidat qui jusque là avait relativement bien analysé le document, avec une échelle à la bonne taille, pense trouver un sac pollinique au milieu d'une cellule (c'était un nucléole). Le manque de précision est là encore un défaut fréquent : voir que la croissance du tube pollinique oscille, c'est bien ; donner la période et l'amplitude, c'est mieux (50% des candidats seulement ont répondu complètement). Quelques erreurs auraient pu être évitées avec un peu de bon sens : par exemple, on ne mesure pas le pH intracellulaire avec un pH mètre de paillasse.

Epreuve de Biologie Animale

La première partie du sujet de Biologie Animale était construite autour de l'étude des cellules sanguines et se développait en deux exercices.

Le premier exercice concernait l'analyse de frottis sanguins. Les candidats avaient à leur disposition une ou deux lames présentant un frottis sanguin fixé et coloré par la technique de May Grünwald-Giemsa. Il s'agissait d'effectuer une numération leucocytaire sur chaque lame. La première difficulté s'est présentée lorsqu'il leur a été demandé de regarder l'allure du frottis sur la lame et de proposer un protocole permettant d'effectuer correctement une formule leucocytaire. Beaucoup ont été déstabilisés par cette question, entraînant une perte de temps (aller-retour entre cette partie et la seconde), voire l'abandon de cet exercice. Peu de protocoles sensés ont d'ailleurs été proposés.

La réalisation de la numération nécessitait une utilisation appropriée du microscope. La formulation leucocytaire pouvait s'effectuer à l'objectif 40, même si l'objectif 100 était plus approprié afin de distinguer les différents leucocytes. Si de nombreux candidats n'ont pas eu de problème à régler le microscope, nous avons pu voir des comportements montrant une maîtrise aléatoire de l'instrument, voire dangereuse pour le matériel : utilisation de l'objectif 100 sans huile à immersion, utilisation de l'huile à immersion pour l'objectif 40...

Il s'agissait d'effectuer des formulations leucocytaires sur des frottis de sang normaux et/ou de sang de situations physiologiques particulières. Pour cela, les candidats avaient à leur paillasse 2 à 6 documents dont la liste était décrite dans l'énoncé. Parmi ces documents, il y avait au moins une description des différents leucocytes, photos à l'appui, ainsi, selon les sujets, qu'une description d'autres cellules pouvant être retrouvées dans le sang. Peu de candidats ont utilisé ces documents ou même se sont rendus compte qu'ils les avaient en leur possession. Le jury attire donc l'attention de futurs candidats sur la nécessité de regarder le matériel mis à disposition lors des cinq minutes de lecture de l'énoncé afin de pouvoir en tirer le meilleur parti possible.

De nombreux points ont été perdus dans la présentation des résultats : la moitié des candidats ayant répondu à la question n'ont, en effet, pas détaillé leur résultat, ni le calcul permettant son obtention. De plus, certains n'ont séparé les leucocytes qu'en trois classes sans citer les granulocytes, alors que cela était clairement indiqué dans l'énoncé.

Il est à noter que peu de candidats ont pensé à critiquer leurs résultats, alors que cela était demandé. Il est très étonnant que les candidats se satisfassent d'une formulation donnée en pourcentage, alors qu'elle a été établie en comptant 20 à 40 cellules.

Plusieurs candidats ont demandé du papier millimétré qu'ils ont placé entre la lame et la lumière, attitude sans doute induite par la lecture du rapport de l'année précédente, ce qui s'est avéré une erreur mettant en évidence un manque de réflexion dans la mesure où le résultat était demandé en valeur relative et non absolue.

Le second exercice de cette partie était basé sur des photographies de cellules sanguines, obtenues par différentes techniques de microscopie optique et électronique. Il s'agissait de discuter des techniques utilisées, d'identifier les cellules et de mettre en relation la structure et la fonction de ces cellules.

Cette partie a été plutôt réussie dans l'ensemble par ceux qui ont traité cette question. Les techniques sont bien connues par les candidats. Pour autant, les justifications n'ont pas toujours été très pertinentes : la microscopie électronique a souvent été citée sous le prétexte qu'il s'agissait d'une photographie en noir et blanc.

La deuxième partie du sujet de Biologie Animale portait de l'extraction d'appendices/organes de l'écrevisse ou du criquet.

Celle-ci a été bien réalisée et sa présentation était propre. Par contre, de nombreuses erreurs ont été commises dans le choix des appendices, traduisant une méconnaissance de la morphologie de l'écrevisse (maxillipèdes pris comme appendices portés par la tête, uropodes oubliés parmi les appendices locomoteurs...). Peu de candidats ont noté correctement sur leur feuille blanche l'orientation de la série d'appendices qu'ils y présentaient, ce qui était dommageable (il fallait en outre avoir présenté tous les appendices sur la même face). Le dessin d'observation a été globalement bien réussi, seuls les titres étaient rarement satisfaisants.

Une question amenait les candidats à réfléchir sur la relation structure/fonction des appendices ou organes qu'ils avaient extraits. La plupart des candidats proposaient une réponse correcte, mais souvent superficielle. Enfin, les réponses ont révélé un « vertébrocentrisme » désarmant, signe d'un manque de culture zoologique ou, du moins, d'observations de la vie courante. Cela a pu amener à lire dans de trop nombreuses copies que la tête d'un animal portait généralement un nez, des oreilles... et autres idées apparentées. C'est assez inquiétant chez des élèves par ailleurs de haut niveau.

Epreuve de Biologie Cellulaire et Moléculaire

Les sujets à dominante biochimie/biologie cellulaire portaient cette année sur les pigments bactériens.

Il s'agissait d'étudier la production de ces pigments dans différentes conditions et de déterminer, à la fin de l'épreuve, les plus favorables à la production d'un pigment donné. On faisait varier le temps de culture, la concentration en sels ou les sources carbonées présentes dans le milieu de culture ou encore l'intensité lumineuse. Les bactéries étudiées étaient *Pseudomonas aeruginosa*, qui produit les pigments pyocyanine et pyoverdine ou *Serratia marcescens* qui produit de la prodigiosine.

Dans une première partie, on demandait d'observer les cultures en milieu liquide et en milieu gélosé et de déduire, après avoir réalisé des étapes d'extraction et de centrifugation, la localisation subcellulaire probable du ou des pigments produits. Le jury attendait que le candidat sache schématiser précisément ses observations, utilise le vocabulaire adéquat (colonies bactérienne, culot, surnageant, solvant organique,...), et raisonne *a minima* sur la

répartition des couleurs (donc des pigments) après centrifugation pour faire l'hypothèse d'un pigment présent dans le corps bactérien (le cas de la prodigiosine) ou d'un pigment sécrété (le cas de la pyocyanine). Environ la moitié des candidats répond de manière rigoureuse et précise à cette question.

Dans une deuxième partie, on demandait au candidat de savoir raisonner sur des spectres d'absorption, fournis en annexe, pour choisir une longueur d'onde propice à la détermination de la concentration bactérienne par opacimétrie. Le principe de cette mesure, réalisée avec un spectrophotomètre, était décrit et l'on donnait le spectre obtenu avec une suspension bactérienne non pigmentée et le spectre d'une solution pure des pigments à étudier. Le choix de cette longueur d'onde a posé problème à de nombreux candidats (environ 75%) qui choisissent comme longueur d'onde d'étude celle où le pigment absorbe le plus alors qu'en choisissant cette dernière c'est la production de pigment additionnée à celle de biomasse et non la biomasse seule que l'on mesure. Cela est d'autant plus étonnant que les candidats disposaient également en annexe d'une table d'équivalences entre la concentration bactérienne et une unité de densité optique mesurée pour des longueurs d'onde comprises entre 500 et 650 nm afin de les conforter dans leur choix.

Enfin, dans une troisième partie, le candidat réalisait une extraction du pigment dans les différentes cultures et, disposant d'une solution étalon de pigment, il devait doser le pigment présent dans l'extrait réalisé par spectrophotométrie, à une longueur d'onde imposée (λ_{\max}). Les spectrophotomètres utilisés étaient des modèles à double faisceau (dont le principe était indiqué à chaque candidat, devant l'appareil), et l'on demandait de mesurer l'absorbance des extraits réalisés « contre une référence à choisir » par le candidat. Certains candidats (25% environ) sont désarçonnés par cette question : ils choisissent soit de l'eau distillée (alors que les milieux de culture sont visiblement colorés et peuvent donc éventuellement interférer avec les mesures), ou la solution étalon de pigment qu'ils baptisent alors « solution de référence » montrant ainsi que le principe de cette mesure n'a pas été compris. A la fin de l'étude, le candidat devait raisonner sur les résultats obtenus et en conclure sur les conditions de culture favorisant une production de biomasse ou de pigment, qui ne sont pas toujours les mêmes.

Globalement, le jury est satisfait du déroulement de l'épreuve, les candidats savent pour la majorité, manipuler des pipettes automatiques (leur fonctionnement est cependant systématiquement précisé en début d'épreuve) dont l'usage est fréquent dans cette épreuve depuis quelques années. Certains candidats exposent leurs observations, proposent et argumentent leurs hypothèses de manière claire, vont au bout de l'épreuve en sachant effectuer les calculs simples demandés (à base de règle de 3).

Au final, quelques conseils aux candidats pour préparer cette épreuve : le jury valorise la clarté et la rigueur des propos, la capacité à organiser son temps (qui permet de traiter l'essentiel du sujet), le soin. Ainsi, même si le candidat obtient des résultats aberrants, la qualité de son raisonnement est prise en compte.