

Préparation à l'agrégation SVT, TP Blanc secteur B
2010

Épreuve de spécialité B

Nom :

Prénom :

La totalité du document doit être rendu à la fin de l'épreuve

« De l'œuf à la grenouille »

Durée totale : 3 heures

EXERCICE 1 : ovocyte et fécondation

durée indicative : 15 min

notation : 10 points

EXERCICE 2 : développement embryonnaire

1) Embryologie descriptive

durée indicative : 15 min

notation : 20 points

2) Embryologie expérimentale

durée indicative : 35 min

[notation : ± 1 pt sur le total]

EXERCICE 3 : développement post-embryonnaire

durée indicative : 40 min

notation : 35 points

EXERCICE 4 : structures respiratoires des amphibiens adultes

durée indicative : 30 min

[notation : ± 1 pt sur le total]

EXERCICE 5 : analyse histologique

durée indicative : 20 min

notation : 20 points

EXERCICE 6 : reconnaissances : dans la mare

durée imposée : 15 min

notation : 15 points

total : 100 points ramérés sur 10 [± 2]

Les 10 min restantes sont utilisables pour une relecture générale

EXERCICE 1 : OVOCYTE ET FECONDATION

Le **document 1** représente un ovocyte II d'amphibien. Après avoir orienté et légendé le document, vous préciserez le type d'œuf dont il s'agit et le développement qui en résulte.

A quel(s) phénomène(s) assiste-t-on lors de la fécondation chez les Amphibiens ? (répondre dans le **cadre A**)

EXERCICE 2 : DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

1) Embryologie descriptive

Les **documents 2 et 3** représentent des coupes d'embryons d'amphibien à différents stades de développement. Après avoir donné un titre à ces documents, vous préciserez le type de coupe, l'orientation et vous les légenderez, en indiquant si possible les mouvements cellulaires.

2) Embryologie expérimentale

1. Le **document 4** reprend une expérience réalisée par Nieuwkoop en 1969 : la calotte animale d'une blastula de xénope est greffée soit au blastomère végétatif dorsal (BVD) soit aux blastomères végétatifs latéral et ventral (BVV et BVL). Les assemblages ainsi réalisés sont mis en culture et la destinée des cellules est observée. Que pouvez-vous déduire des résultats obtenus ? (réponse **cadre B**)

2. Dans l'expérience suivante (**document 5**), Spemann et Mangold (1924) ont greffé laèvre dorsale d'une jeune gastrula de triton dans la zone marginale ventrale d'un embryon receveur au même stade de développement. Cela aboutit à l'obtention de deux embryons siamois. Interprétez cette expérience (réponse **cadre C**).

Quel lien pouvez-vous faire avec l'expérience précédente ? (réponse **cadre D**)

3. Des ARNm codant pour la molécule chordine sont injectés dans un œuf fécondé de xénope. Lorsque l'embryon est parvenu au stade blastula, la calotte ectodermique est prélevée et mise en culture (**document 6**). L'expérience est alors divisée en trois lots. Dans le premier, on laisse évoluer les explants de calotte ectodermique. Dans le deuxième on ajoute dans le milieu de culture, la protéine BMP4 à la concentration de 1 nM. Enfin dans le troisième lot, on ajoute à nouveau la protéine BMP4 à la concentration de 10 nM.

Quelle est l'action de ces molécules sur les cellules ectodermiques ? (**cadre E**)

Comment pouvez-vous relier cela avec l'expérience précédente ? (**cadre F**)

4. Définissez ce qu'est un gène homéotique (**cadre G**)

Le **document 7** illustre la transcription de gènes homéotiques (gènes Hox) d'un chromosome de xénope. Quel principe fondamental du fonctionnement de ces gènes illustre ce document ? (**cadre H**)

EXERCICE 3 : DEVELOPPEMENT POST-EMBRYONNAIRE

1. Le **document 8** illustre l'évolution d'un organe au cours du développement de la larve d'un amphibien. Le **document 9** est une observation en balayage montrant l'évolution de l'iode détectée aux mêmes périodes (flèches noires) dans l'organe en question.

Quel est cet organe ? En quoi intervient-il dans le développement post-embryonnaire des amphibiens ? (**cadre I**)

2. Le **document 10** est une coupe sagittale représentant l'évolution des relations entre deux régions du diencéphale, l'hypothalamus (région I) et l'hypophyse (région II), au cours du développement d'une larve d'amphibien.

Après avoir défini les différentes phases du développement (phases 1, 2 et 3), vous expliquerez l'évolution des relations entre les régions I et II (**cadre J**).

3. Le **document 11** présente l'évolution de la concentration de 3 molécules dans le plasma au cours des mêmes trois phases de développement de cette larve.

Quelles sont ces trois molécules ? Quels sont leurs rôles respectifs ? (**cadre K**)

4. Suite à vos précédentes conclusions, vous présenterez un schéma récapitulatif simple expliquant le déterminisme du développement post-embryonnaire chez les amphibiens (**cadre L**).

5. Les **documents 12 et 13** illustrent l'un des changements intervenant lors du passage de la larve à la grenouille.

Interprétez le document 12 (**cadre M**).

Quel phénomène physiologique le document 13 illustre-t-il ? Qu'en déduisez-vous, en rapport avec le mode de vie des animaux ? (**cadre N**)

EXERCICE 4 : STRUCTURES RESPIRATOIRES DES AMPHIBIENS ADULTES

Dissection d'une grenouille adulte :

Vous mettrez en évidence les **structures respiratoires** de l'animal. Vous appellerez un intervenant une fois votre dissection terminée afin d'être noté.

Vous ferez un dessin d'observation légendé de votre dissection (**cadre O**).

EXERCICE 5 : ANALYSE HISTOLOGIQUE

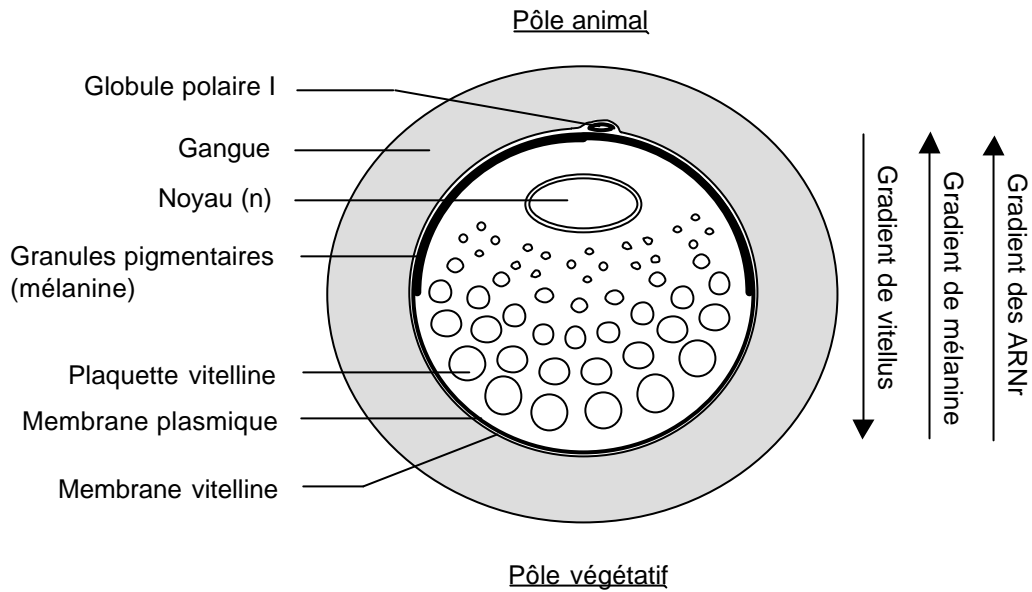
Réalisez une observation soignée de la coupe proposée, traduite par un dessin légendé (**cadre P**) et concluez par un commentaire (**cadre Q**).

EXERCICE 6 : RECONNAISSANCES : DANS LA MARE

Donnez les noms vernaculaires et scientifiques ainsi que la position systématique des échantillons qui vous sont proposés. Vous indiquerez, au besoin, le type de développement et de stade auquel vous avez à faire (**remplir directement le tableau situé à la fin de ce document**).

Document 1

Structure d'un ovocyte II d'amphibien



Cadre A

L'œuf rencontré chez les amphibiens est un type HETEROLECITHE : réserves vitellines peu nombreuses et réparties de manière hétérogène dans le cytoplasme. L'axe pôle animal-pôle végétatif est donc défini dès l'ovogenèse.

Il en résulte un développement INDIRECT. La faible quantité de ressources énergétiques disponibles et l'absence de lien avec l'organisme maternel entraînent un développement embryonnaire de courte durée, aboutissant à la larve, appelée têtard chez les amphibiens, dont l'organisation est différente de celle de l'imago. Lors du développement post-embryonnaire, la MÉTAMORPHOSE permettra le passage de la larve au juvénile.

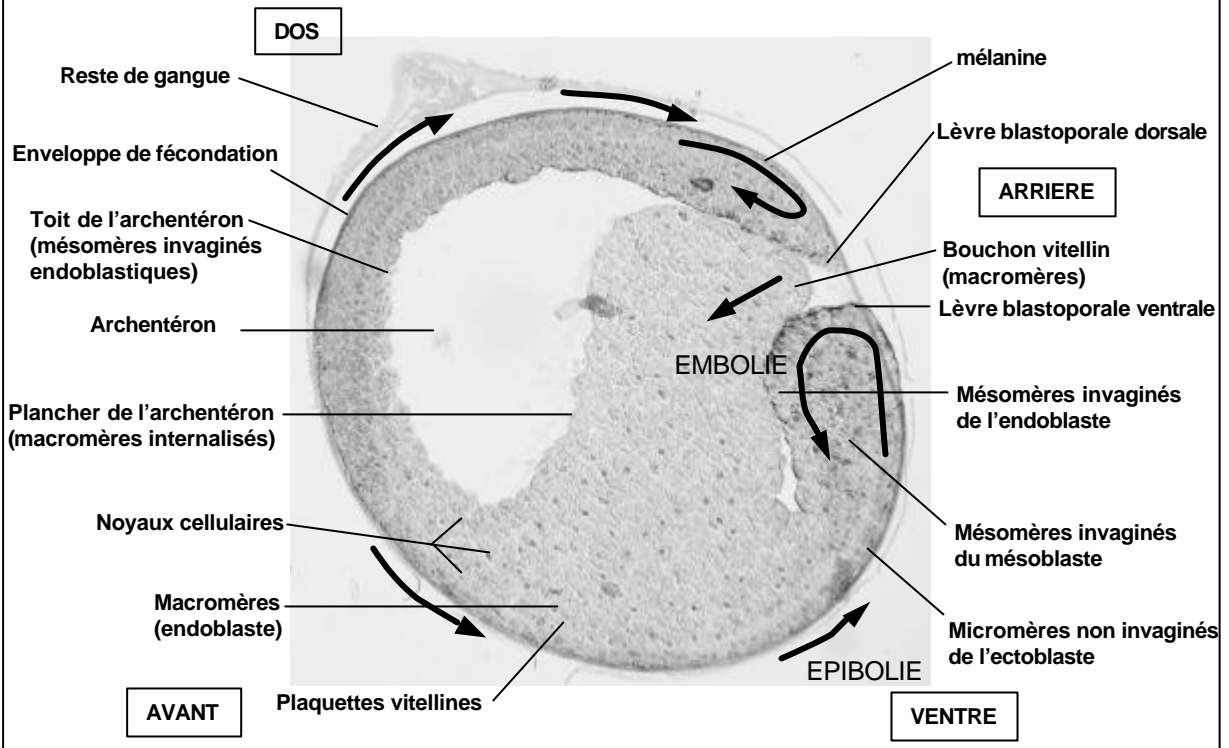
Lors de la fécondation (externe) chez les amphibiens, qui entraîne la fin de l'ovogenèse et l'émission du second globule polaire, on assiste à deux phénomènes :

- une ROTATION D'ORIENTATION : la membrane vitelline jusqu'alors accolée à la membrane plasmique de l'ovocyte s'en décolle et prend le nom d'enveloppe de fécondation. Elle définit ainsi un espace, l'espace périvitellin dans lequel baigne l'œuf fécondé. Celui-ci, flottant librement dans le liquide périvitellin va alors s'orienter naturellement selon la gravité terrestre. Le pôle végétatif, plus lourd, sera orienté vers la terre, et le pôle animal à l'opposé.

- une ROTATION DE SYMÉTRISATION : le cytoplasme cortical situé au pôle animal et contenant les granules pigmentaires subit, sous l'effet de la pénétration du spermatozoïde, une rotation d'environ 30°, délimitant une région partiellement dépigmentée appelée croissant gris, définissant la région dorsale de l'embryon. La polarité dorso-ventrale est donc déjà établie et l'œuf passe d'une symétrie axiale à une symétrie bilatérale.

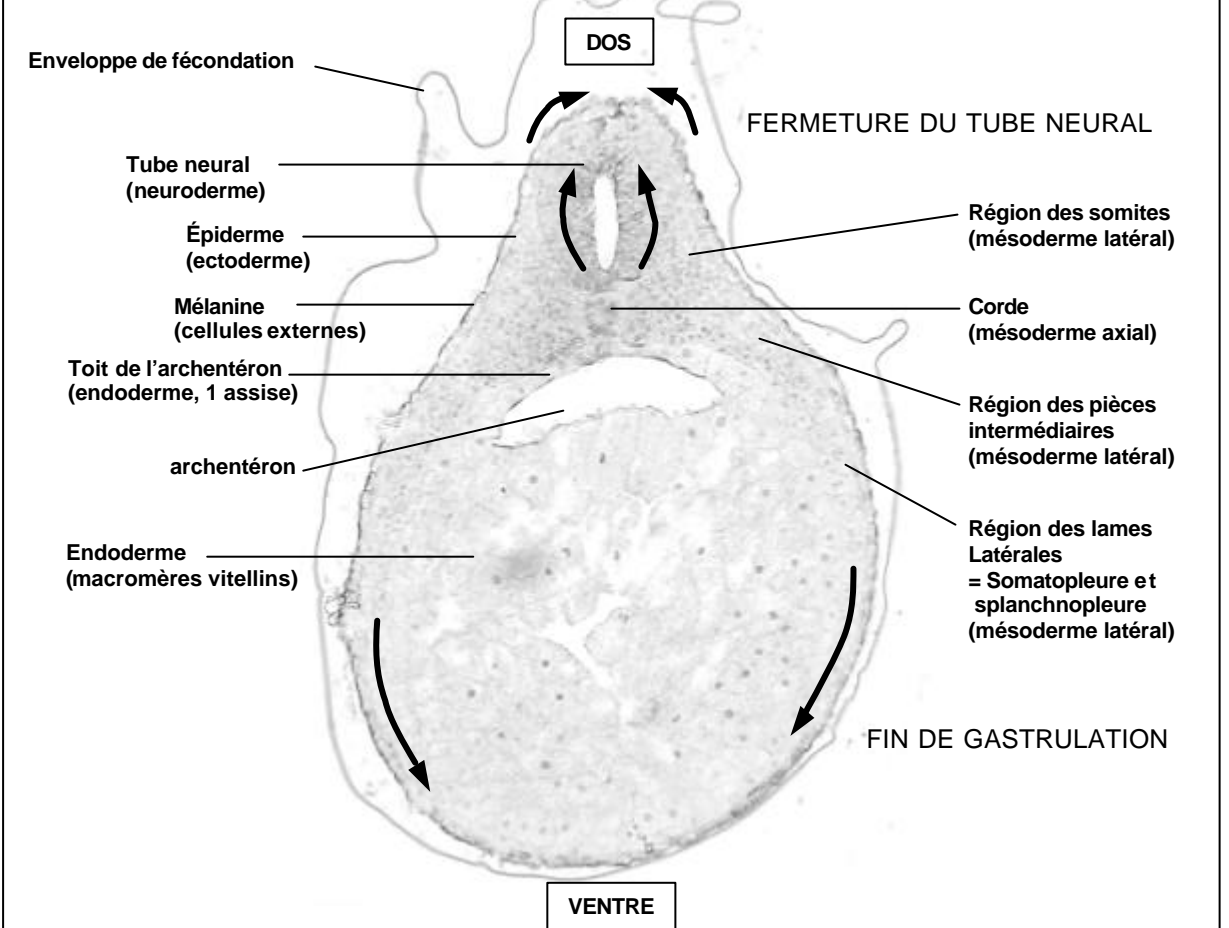
Document 2

COUPE SAGITTALE DE GASTRULA ÂGÉE DE GRENOUILLE

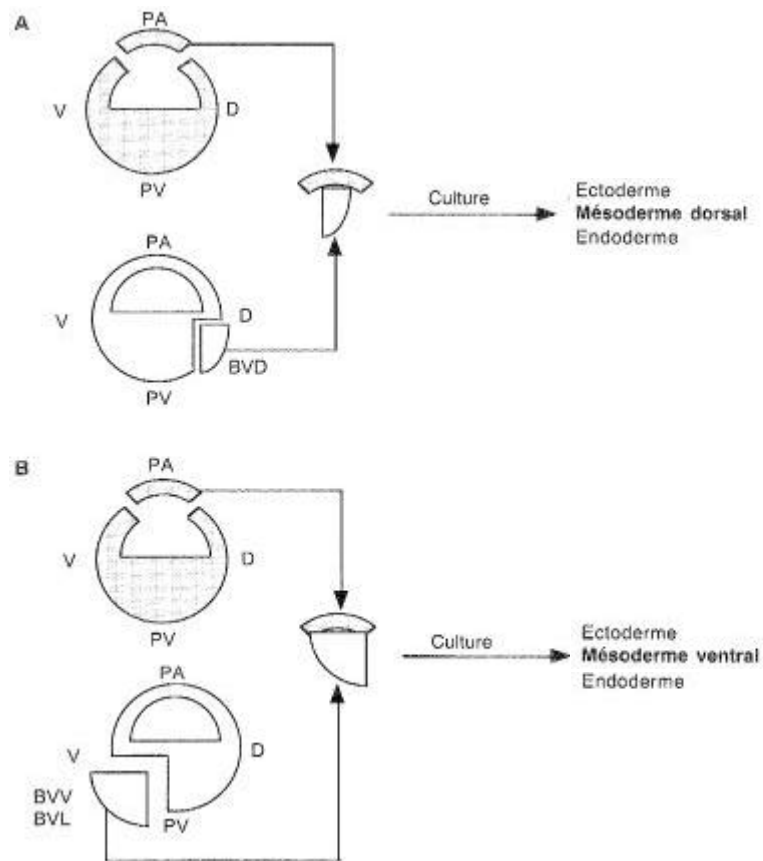


Document 3

COUPE TRANSVERSALE DE NEURULA ÂGÉE DE GRENOUILLE



Document 4



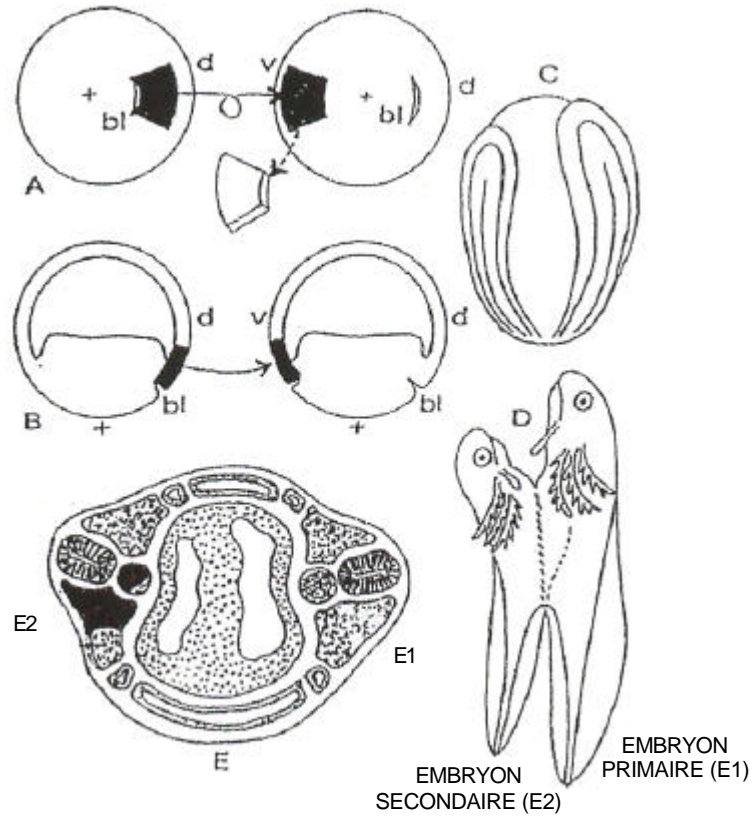
Cadre B

L'expérience de Nieuwkoop présentée dans ce document démontre que l'induction mésodermique naît des interactions entre l'endoderme végétatif et l'ectoderme animal pendant la période de clivage. Compte tenu de leurs positions géographiques respectives, on comprend pourquoi le mésoderme apparaît dans la zone marginale chez un embryon normal. En fait, ce sont les cellules de la zone marginale qui fournissent l'ensemble du mésoderme. Quant à l'ectoderme du pôle animal, ou calotte ectodermique, s'il est normalement destiné à évoluer en épiderme et neuroderme, l'expérience de Nieuwkoop montre également qu'il est néanmoins compétent pour former du mésoderme pendant la période de clivage.

Au stade 32 cellules, les blastomères sont désignés en fonction de leur position suivant les axes de symétrie (animal/végétatif et dorso/ventral). Les blastomères végétatifs dorsaux induisent du mésoderme à caractère dorsal, les blastomères végétatifs ventraux et latéraux induisent du mésoderme à caractère ventral. Cela s'explique par l'existence de signaux inducteurs différents. La zone de l'hémisphère végétatif dorsal (zone du croissant gris) induisant le mésoderme à caractère dorsal est appelée centre de Nieuwkoop.

[Signaux inducteurs du mésoderme : FGF (Fibroblast Growth Factor) et TGF β (Vg1 et activine) – produits par les blastomères végétatifs (à p. d'ARNm maternels), + VegT, agissent à distance sur des récepteurs membranaires présents dans les cellules de la zone marginale ; induisent du mésoderme ventral. Les domaines de répartition de FGF/TGF β et de la β -caténine se superposent dans la région dorso-végétative = centre de Nieuwkoop. En synergie avec la β -caténine, FGF/TGF β induisent l'expression des gènes nodal. On a donc un gradient d'expression de nodal dans la zone marginale, décroissant du bord dorsal au bord ventral. Là où nodal est fortement exprimé : mésod. dorsal, là où son expression est faible : mésod. ventral, intermédiaire : mésod. latéral.]

Document 5



A, B : principe de la greffe (bl : blastopore ; + : pôle végétatif) ; à gauche, l'embryon donneur, à droite l'embryon receveur. (A : vue externe ; B : coupe). C, D : deux stades de développement ultérieur en vue externe de l'embryon greffé. E : Coupe effectuée au niveau des deux embryons siamois en D ; les parties dessinées en noir de l'embryon secondaire sont issues directement des cellules de la lèvre dorsale greffée.

Cadre C

L'expérience de Spemann et Mangold démontre qu'au stade gastrula, la greffe de la lèvre dorsale du blastopore d'un embryon donneur sur la face ventrale d'un embryon receveur, aboutit à la formation d'un second axe embryonnaire (formation d'un second tube nerveux, corde, somites), c'est-à-dire à deux embryons siamois.

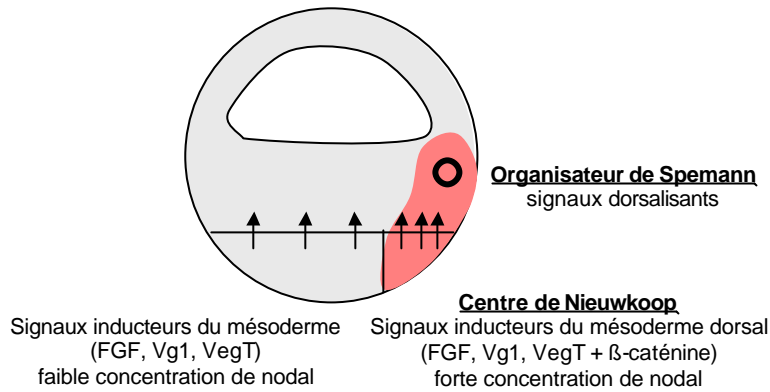
Les cellules de la lèvre dorsale du blastopore greffée ont provoqué deux phénomènes :

- elles ont induit les tissus ventraux de l'hôte à modifier leur destinée ventrale pour former du tissu neural et du mésoderme dorsal (corde et somites) ;
- elles ont organisé les tissus du donneur et de l'hôte en un embryon secondaire possédant clairement des axes A/P et D/V

La lèvre blastoporale dorsale possède donc des fonctions dorsalisantes (mésoderme et ectoderme), elle constitue l'organisateur de Spemann

Cadre D

Le centre de Nieuwkoop, organisateur de la blastula, induit, par émission d'un ensemble de signaux, la formation de l'organisateur de Spemann, qui, à son tour, émet des signaux à fonction dorsalisante.



Document 6

	KERATINE	N-CAM*
Culture seule	-	+
+ BMP4 (1nM)	+	+/-
+ BMP4 (10 nM)	+	-

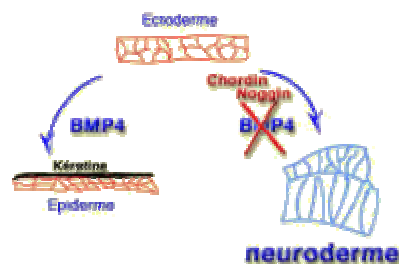
* N-CAM : neural-cell adhesion molecule

Cadre E

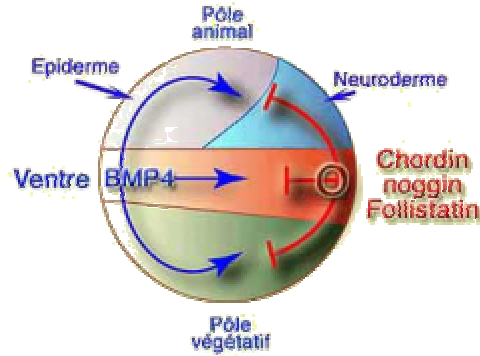
Les cellules ectodermiques de l'embryon sont à l'origine de deux tissus : le neuroderme et l'épiderme. Les signaux inducteurs dorsaux de l'organisateur de Spemann induisent l'évolution de l'ectoderme en neuroderme, tandis que l'absence de ces signaux induit la différenciation de l'ectoderme en épiderme.

L'épiderme des Tétrapodes est caractérisé par la formation de kératine dans ses couches superficielles, tandis que les N-CAM sont spécifiquement exprimées par les cellules neurales.

Les résultats montrent qu'en culture isolée, l'ectoderme seul en présence de chordin exprime la N-CAM et est donc sur la voie de la neuralisation. Si on rajoute la protéine BMP4 à la concentration de 1nM, on obtient un mélange d'expression neurale (expression de la N-CAM) et d'épiderme (expression de la kératine). Enfin, si on rajoute BMP4 à la concentration de 10nM, on rétablit la destinée épidermique des cellules ectodermiques (expression de la kératine).



Cadre F



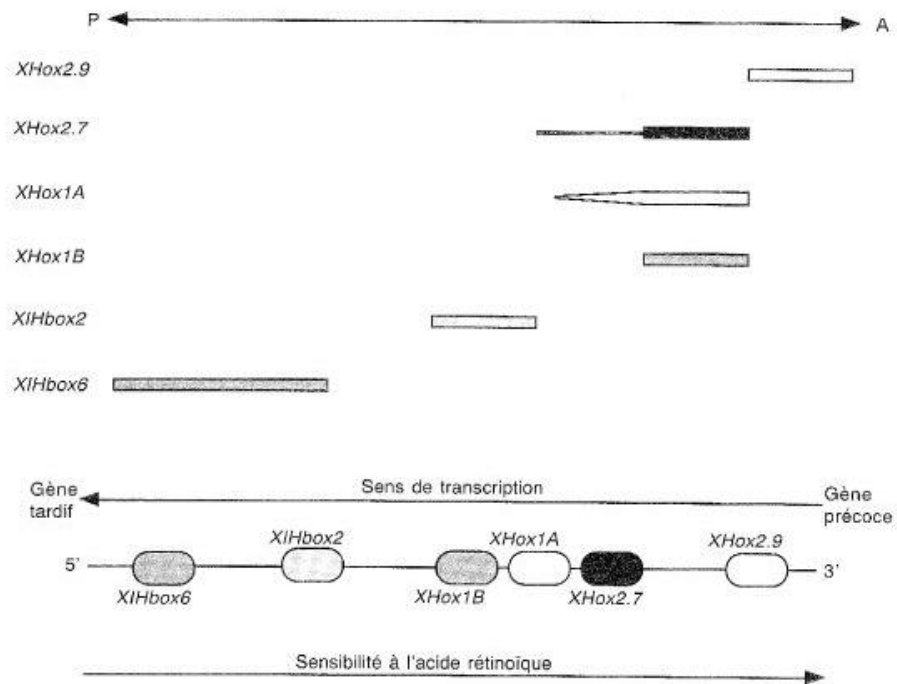
D'une manière générale, la molécule BMP4 maintient un rôle ventralisant dans l'ensemble de l'embryon (flèches bleues). Dès que l'organisateur de Spemann est induit, il produit des molécules diffusibles (chordin, mais aussi noggin, follistatin) qui reconnaissent BMP4, s'y lient et inhibent sa fonction dans l'environnement immédiat (flèches rouges), c'est-à-dire la région dorsale.

Voir : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/CoursPCEMDEUG/index.html>

Cadre G

Les gènes homéotiques codent pour des protéines (homéoprotéines) qui sont des facteurs de transcription. Ils possèdent une séquence de 180 nucléotides appelée homéoboîte ou homéobox qui code pour un fragment de 60 acides aminés appelé homéodomaine. Cette région se fixe sur l'ADN pour activer d'autres gènes de régulation ou des gènes de structure. L'homéodomaine est très conservé au cours de l'évolution.

Document 7



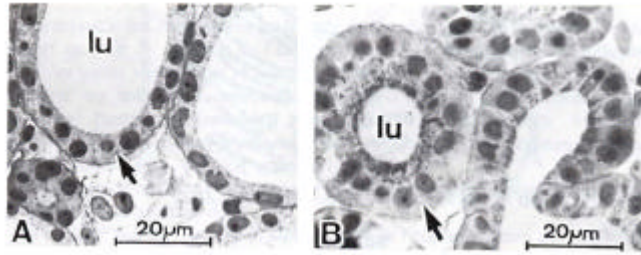
(A : antérieur ; P : postérieur)

Cadre H

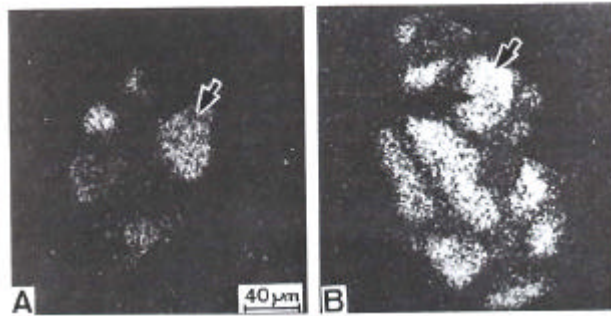
Les gènes homéotiques sont impliqués dans la mise en place de la polarité antéro-postérieure des axes embryonnaires. Comme illustré sur le document ci-dessus, ils respectent le double principe de colinéarité spatiale et temporelle : les gènes situés le plus en 3' sur le chromosome s'expriment les premiers dans le temps (gènes précoces) et dans l'espace (région antérieure).

Les gènes XHox (Xenopus homeobox) sont exprimés par les cellules du neuroderme. Ils possèdent une sensibilité variable à l'acide rétinoïque en fonction de leur position. L'acide rétinoïque, libéré par l'organisateur de Spemann est donc une substance morphogénétique participant à la régionalisation antéro-postérieure de l'embryon : lors des processus induits par l'organisateur de Spemann, une quantité variable d'acide rétinoïque entrerait dans les cellules axiales, suivant leur position selon l'axe céphalo-caudal, ce qui activerait de façon sélective les gènes homéotiques.

Document 8



Document 9



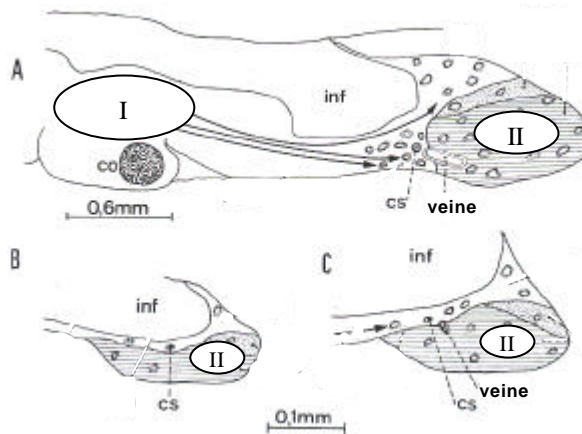
Cadre I

L'organe présenté dans les documents 8 et 9 est la thyroïde, responsable de la synthèse des hormones thyroïdiennes, hormones principales agissant dans la métamorphose des amphibiens. Ces hormones (T3 et T4) sont issues de l'hydrolyse de la thyroglobuline iodée, produite par les thyrocytes, processus nécessitant la fixation d'ions iodure I⁻.

Sur les deux documents, la photo A représente la thyroïde d'un individu qui est au stade de PREMETAMORPHOSE (période de croissance de la larve, sans modification notable de son organisation). A ce stade, la thyroïde est composée d'un faible nombre de follicules, dont l'épithélium est mince. Les thyrocytes qui constituent cet épithélium sont faiblement actifs, ce qui est démontré par la faible quantité d'iode fixée à leur niveau.

Sur les photos B, l'individu montre au contraire une plus grande densité de follicules thyroïdiens dont l'épithélium est sensiblement plus épais : les thyrocytes, dont l'activité est maximale, fixent avec intensité l'iode, permettant ainsi la synthèse de thyroglobuline iodée, qui sera ensuite déversée dans la lumière folliculaire et représente la forme de stockage des hormones T3 (triiodothyronine) et T4 (étraiodothyronine = thyroxine). Cet individu est en pleine métamorphose, on parle de CLIMAX METAMORPHIQUE.

Document 10



A : PHASE 3 ; B : PHASE 1 ; C : PHASE 2
cs : capillaire sanguin ; co : chiasma optique ; inf : infundibulum

Cadre J

Phase 1 : prémétamorphose – croissance larvaire

pas de relation hypothalamo-hypophysaire

Phase 2 : prométamorphose – début des transformations : débute par l'allongement des pattes postérieures

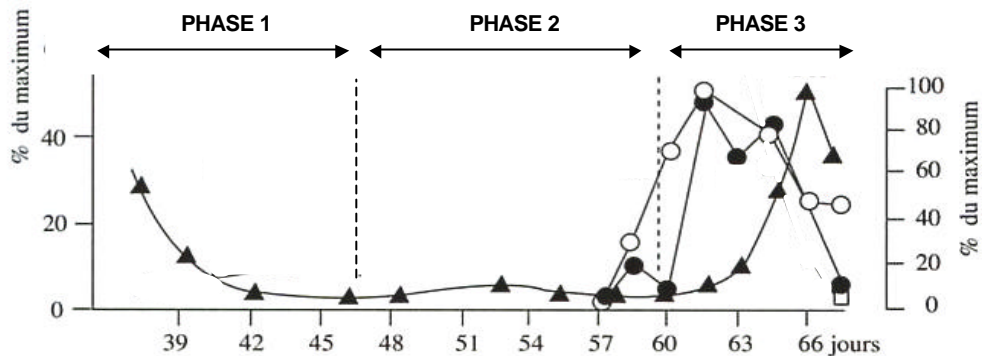
début de capillarisation entre l'infundibulum et l'hypophyse, dans la zone entourant la veine porte hypothalamo-hypophysaire

Phase 3 : climax métamorphique – accélération et intensification des transformations : débute à l'émergence des pattes antérieures

mise en place d'un réseau capillaire dense = éminence médiane, permettant le passage de neurosécrétions hypothalamiques vers l'hypophyse.

[Au moment du climax métamorphique, l'hypothalamus va ainsi pouvoir venir stimuler l'activité de l'hypophyse, grâce à la libération dans l'éminence médiane d'un TRF (= Thyrotropin Releasing Factor). L'hypophyse stimulée va à son tour sécréter la TSH (= Thyroid Stimulating Hormone), activant la thyroïde.]

Document 11



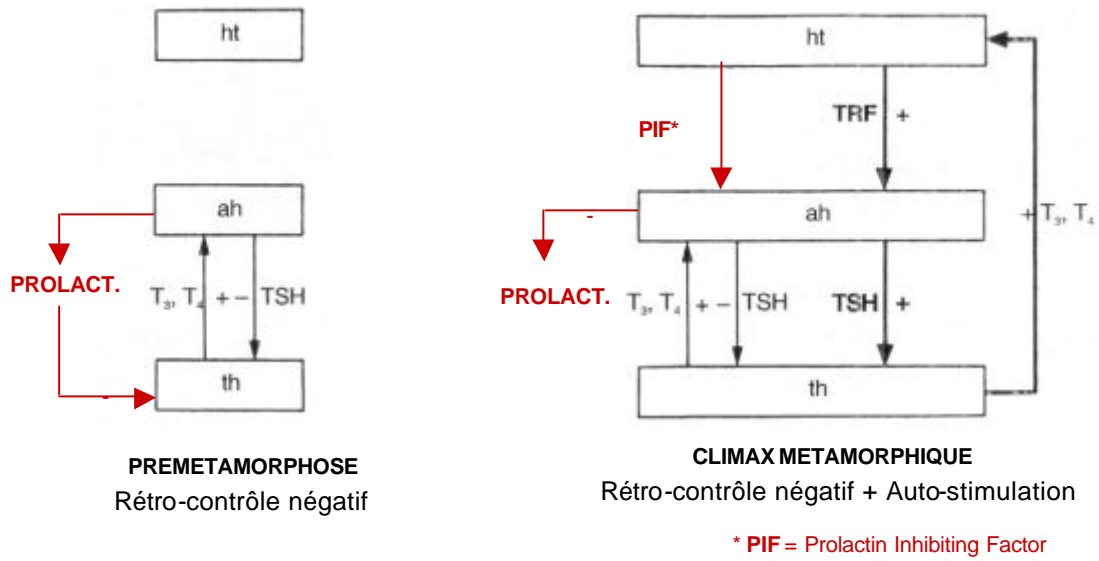
Cadre K

▲ Prolactine : hormone adénohypophysaire. Rôle dans la stimulation de la croissance larvaire et l'inhibition de l'activité thyroïdienne à la prémétamorphose (phase 1), rôle de régulation à la fin du climax lors du passage à la vie terrestre (phase 3).

○ T3 : hormone thyroïdienne agissant directement au niveau du génome des cellules-cibles, dont la synthèse débute en prométamorphose (phase 2) et s'intensifie de manière très nette lors du climax.

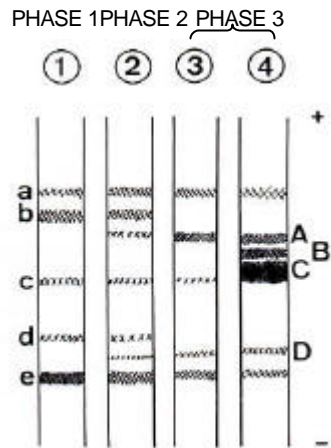
● T4 : même origine et rôle que la T3, mais hormone moins active, peut être transformée en T3 dans les cellules cibles par une monodésiodinase (5'D).

Cadre L

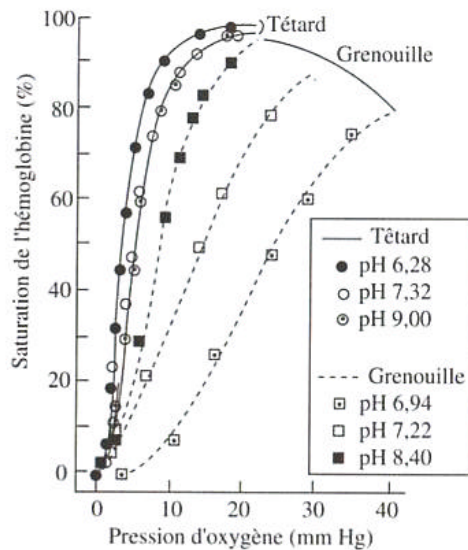


Document 12

Séparation électrophorétique d'hémoglobines en solution chez *Xenopus laevis* au cours des différentes phases du développement. Les profils 3 et 4 représentent deux périodes de la phase 3 (1 et 4 semaines)



Document 13



Cadre M

L'électrophorèse est une technique de séparation des différents constituants d'une solution. Elle conduit à l'apparition de bandes dont le nombre, la position et l'importance sont directement reliées à la quantité et la qualité des molécules présentes.

Sur le document proposé, on différencie 5 hémoglobines larvaires (phase 1 - préM), représentées par les bandes a à e. Au cours de la métamorphose (phase 2 - proM et phase 3 - climax), ces bandes s'amenuisent ou disparaissent et sont progressivement remplacées par 4 autres bandes (A, B, C, D). Il y a donc au moment de la métamorphose remplacement de la totalité des hémoglobines larvaires par des hémoglobines adultes.

Cadre N

Le document représente le degré de saturation en oxygène de l'hémoglobine en fonction de la quantité d'oxygène présente dans le milieu et en fonction du pH, à deux stades de développement différents, chez le têtard et chez la grenouille.

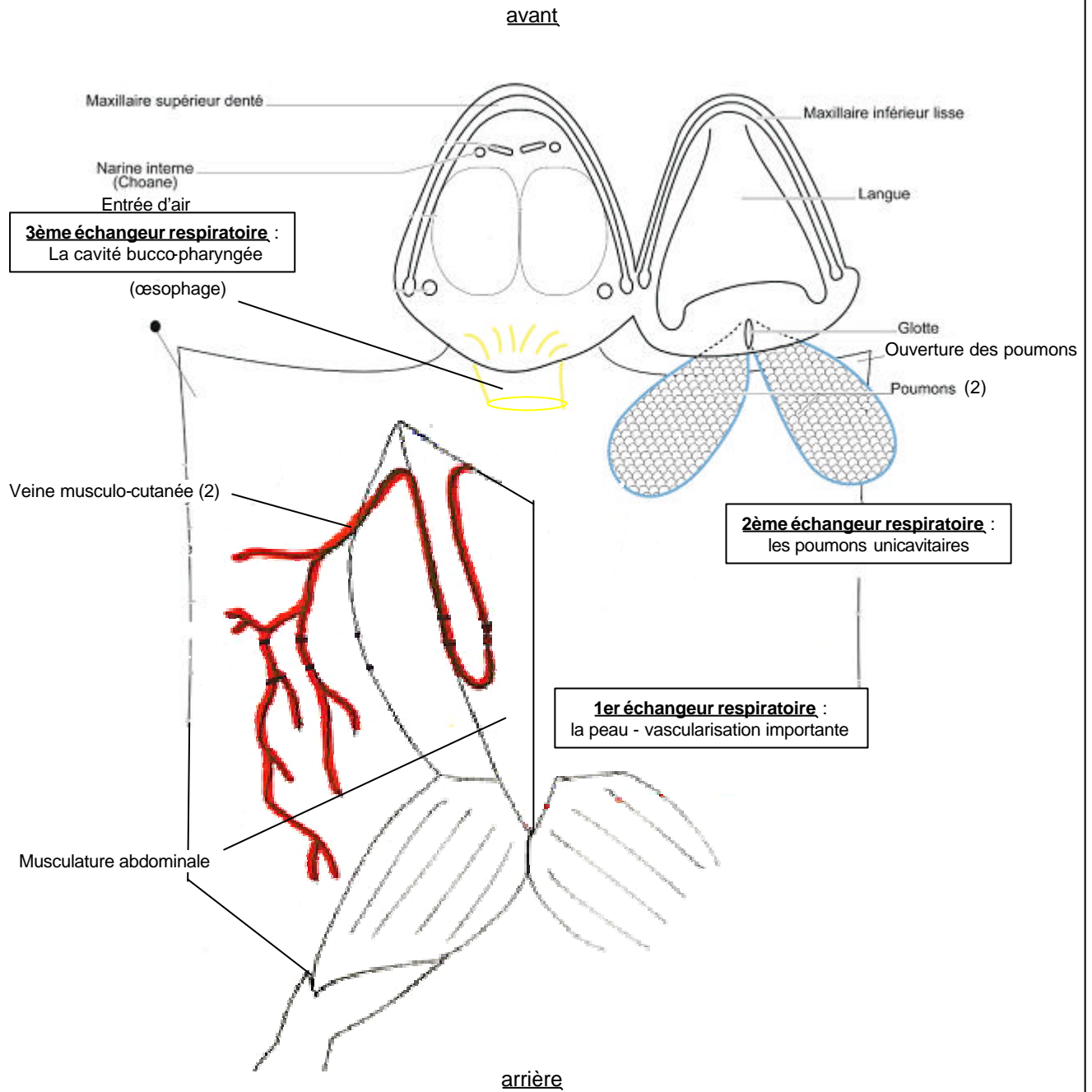
Ce document met en avant deux phénomènes :

-Quels que soient la pression en oxygène et le pH du milieu, l'affinité de l'hémoglobine larvaire pour l'oxygène (~96-98% pour PO max) est toujours supérieure à celle de l'hémoglobine adulte (de 75 à 95% pour PO max). Ceci est à relier au fait que l'oxygène est en concentration beaucoup plus faible dans le milieu aquatique par rapport au milieu aérien (0,72% d'O₂ dans l'eau vs. 20,95% d'O₂ dans l'air, i.e. 30 fois moins à pression égale).

-Chez le têtard, l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène est indépendante du pH, tandis qu'elle varie en fonction du pH chez l'adulte = effet BOHR. Plus le pH sanguin devient acide (i.e. PCO₂ augmente), moins l'hémoglobine a d'affinité pour l'oxygène : elle va donc relarguer de l'oxygène dans le sang, et ainsi aider au rétablissement du pH. [Ce système n'existe pas chez les larves qui, vivant en milieu aquatique, ont une plus grande facilité à relarguer le CO₂ en excès -car beaucoup plus soluble dans l'eau que dans l'air-, par rapport aux juvéniles et adultes vivant en milieu aérien]

Cadre O

Structures respiratoires d'une grenouille, vue ventrale

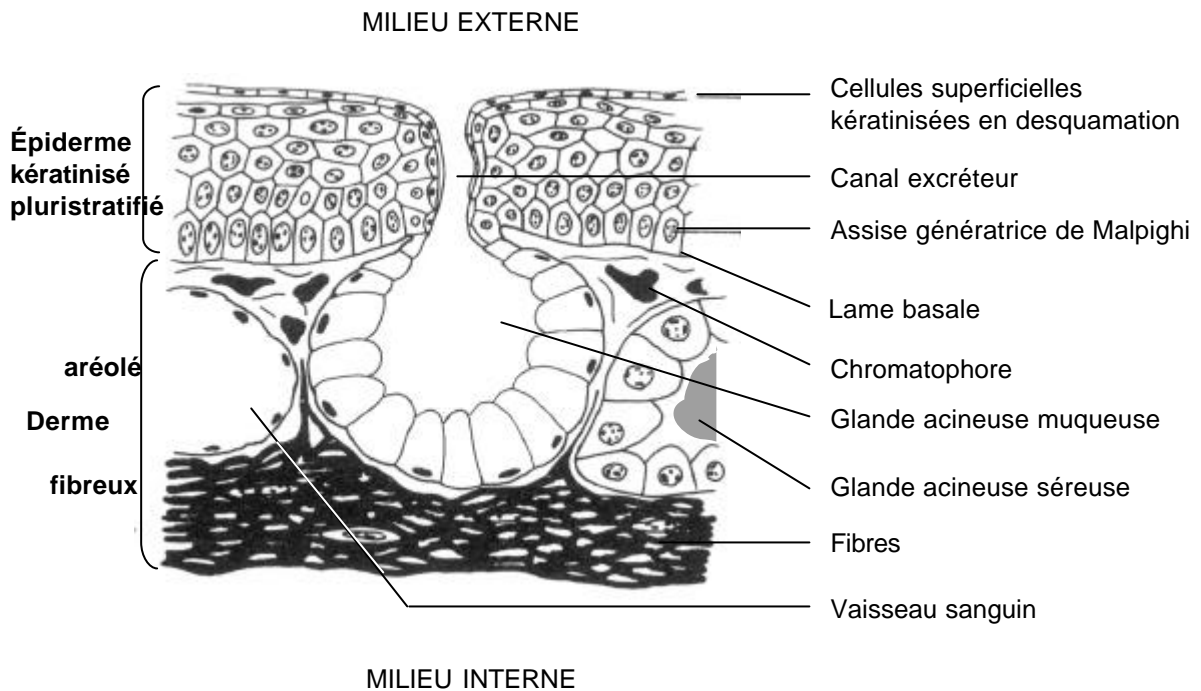


- Vertébrés
- Ostéichthyens
- Sarcoptérygiens
- Tétrapodes
- Lissamphibiens
- Batraciens
- Anoures

Rana sp.

Cadre P

Coupe transversale du tégument de grenouille



Cadre Q

La lame proposée représente une coupe transversale de tégument d'amphibien. Le tégument est formé par l'association de deux tissus d'origine différente : l'ÉPIDERME (épithélium superficiel) d'origine ectodermique et le DERME (tissu conjonctif profond) d'origine mésodermique. Chez les vertébrés, l'épiderme est toujours PLURISTRATIFIÉ.

Les amphibiens possèdent une peau lisse (pas de phanères) maintenue en permanence humide par l'abondante sécrétion des glandes muqueuses déversant le mucus à la surface de la peau par un canal excréteur. Un autre type de glande cutanée est également observé, les glandes séreuses, pouvant sécréter du venin notamment. L'épiderme des amphibiens est également caractérisé par l'apparition d'une KÉRATINISATION des couches superficielles (caractéristique des Tétrapodes). Cette kératinisation est peu prononcée chez les amphibiens (rarement plus d'une assise cellulaire en desquamation) mais permet de *diminuer les pertes en eau par évaporation* lors du passage de la vie aquatique à la vie terrestre au moment de la métamorphose. Bien qu'imparfaite ici, la kératinisation de l'épiderme amorcée chez les amphibiens *annonce la conquête du milieu terrestre* par les vertébrés Amniotes (Sauropsidés et Mammifères).

Le derme est caractérisé par la grande quantité de fibres (collagène et élastine) présentes (surtout au niveau du derme dense profond), permettant de maintenir l'eau à ce niveau. Il présente des chromatophores et on y trouve des vaisseaux sanguins en quantité importante.

Le fait que la surface de l'épiderme soit maintenue humide, associé à une faible kératinisation permettant le maintien des échanges gazeux et la grande capillarisation du derme fait de la peau des amphibiens un ÉCHANGEUR RESPIRATOIRE TRÈS EFFICACE et essentiel pour l'individu.

Rq : l'hypoderme est de type lacunaire (riche en sinus lymphatiques) chez les amphibiens, ce qui explique qu'il ne soit pas présent sur la coupe.

EXERCICE 6 : reconnaissance

ECH. N°	Nom scientifique et vernaculaire	Position systématique	Type de développement Stade (éventuellement)
1	Notonecte <i>Notonecta glauca</i>	Hexapode – Ectognathe – Paranéoptère - Hétéroptère	Paurométabole Imago
2	Planorbe <i>Planorbarius corneus</i>	Mollusque – Gastéropode – Pulmoné – Basommatophore	Dévpt. Direct Adulte
3	Moustique <i>Culex pipiens</i>	Hexapode – Ectognathe – Oligonéoptère – Diptère Nématocère	Holométabole Larve vermiforme eucéphale
4	Planaire blanche <i>Dendrocoelum lacteum</i>	Lophotrochozoaire – Plathelminthe – Turbellarié - Triclade	Généralement direct chez les planaires, parfois indirect Compté bon dans les 2 cas
5	Libellule, Æschne <i>Aeschna sp.</i>	Hexapode – Ectognathe – Paléoptère – Odonate – Anisoptère	Hémimétabole Larve
6	Dytique <i>Dytiscus marginalis</i>	Hexapode – Ectognathe – Oligonéoptère – Coléoptère	Holométabole Larve campodéiforme
7	Aselle / cloporte d'eau <i>Asellus aquaticus</i>	Euarthropode – Mandibulate – Pancrustacé - Isopode	Dévpt direct
8	Phrygane <i>Phrygaena sp.</i>	Hexapode – Ectognathe – Oligonéoptère – Trichoptère	Holométabole Larve campodéiforme
9	Sangsue <i>Hirudo medicinalis</i>	Lophotrochozoaire – Eutrochozoaire –Annélide – Achète	Dévpt direct
10	Grenouille <i>Rana sp.</i>	Vertébré – Tétrapode – Lissamphibien – Batracien – Anoure	Dévpt indirect Larve (têtard)