

CONCOURS G2E

**BIOLOGIE 1**

Durée : 1 heure 30

---

**Les calculatrices programmables et alphanumériques ne sont pas autorisées.**

**L'usage de tout ouvrage de référence et de tout document est strictement interdit.**

**Si, au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il en fait mention dans sa copie et poursuit sa composition en expliquant clairement les raisons des initiatives qu'il a été amené à prendre.**

**Le candidat doit respecter les notations de l'énoncé et préciser, dans chaque cas, la numérotation de la question posée.**

**Il n'est pas nécessaire de rédiger une introduction et une conclusion.**

**Si nécessaire, le candidat peut découper et coller les documents du sujet.**

**Les réponses doivent être claires et précises, associées à des raisonnements rigoureux et à des conclusions justifiées.**

---

## **QUELQUES ASPECTS DE LA BIOLOGIE ET DU MÉTABOLISME DES LEVURES**

### **1. Observations des levures**

Divers colorants sont compatibles avec la vie des cellules et peuvent donc être utilisés pour mettre en évidence des structures dans les levures et y détecter certains phénomènes biologiques.

Les **documents 1a et 1b page 8** présentent deux photographies d'une levure (*Saccharomyces cerevisiæ*) observée au microscope optique juste après ajout de rouge neutre (t =0 – document 1a) et après 20 minutes de coloration (t =20 minutes - document 1b).

Le **document 1c page 8** présente la photographie d'une levure (*Saccharomyces cerevisiæ*) observée au microscope optique après coloration au lugol (eau iodée).

Le **document 1d page 8** présente la photographie d'une levure (*Saccharomyces cerevisiæ*) observée au microscope optique sans coloration.

**1.1. Légender le document 1a. Comparer les documents 1a et 1b et conclure.**

**1.2. Nommer la molécule de réserve présente dans les levures mise en évidence par les granulations brunes observées sur le document 1c. Schématiser sa formule développée, en précisant son monomère et la nature précise des liaisons entre monomères. Indiquer une autre cellule eucaryote mettant en réserve cette même molécule.**

Après incubation de levures (*Saccharomyces cerevisiæ*) dans un milieu liquide complet pendant 24 heures à 25°C, celles-ci sont transférées, à t=0, dans une solution isotonique de tampon citrate contenant du sorbitol et une enzyme : la  $\beta$ -glucuronidase et à une température de 35°C.

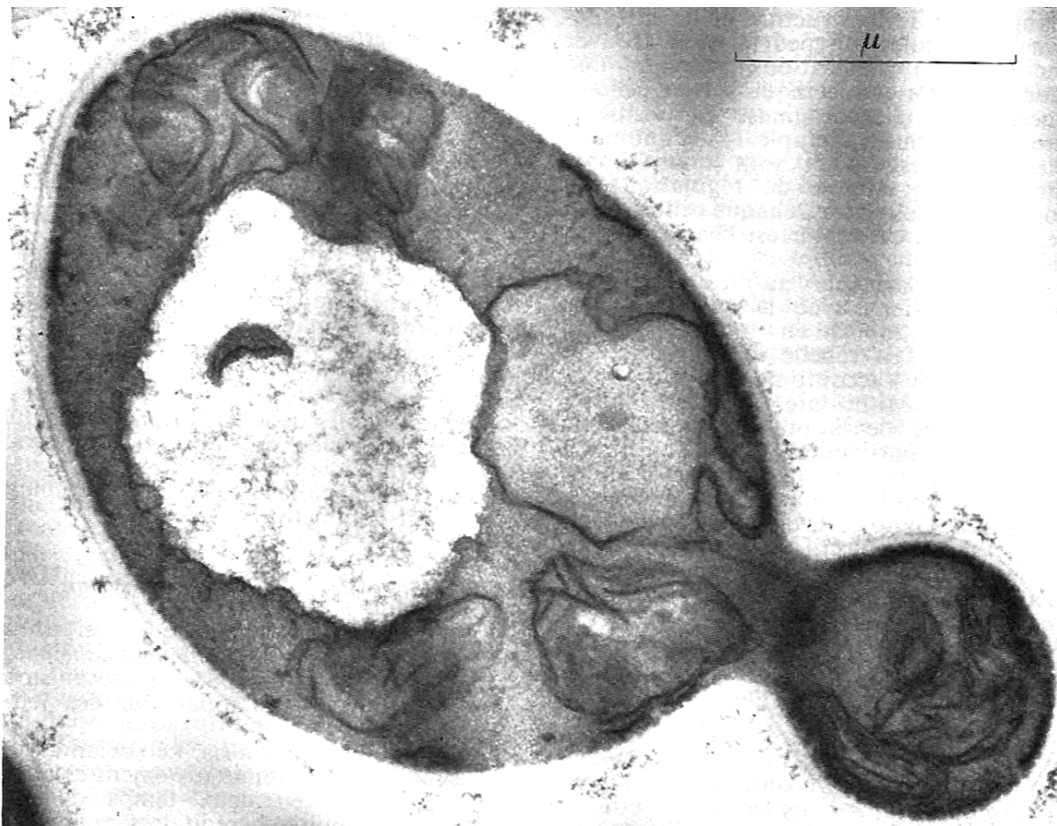
A t=0, puis à t=20 minutes et à t=60 minutes, les levures sont observées au microscope électronique à transmission (**document 1e page 9**).

- 1.3. Expliquer les modifications observées sur les microphotographies 1, 2 et 3 du document 1e. En déduire le rôle de la  $\beta$ -glucuronidase.
- 1.4. Donner un nom aux cellules obtenues à partir des levures observées sur la microphotographie 3 du document 1e. Avec quel autre type de cellules eucaryotes pourrait-on obtenir ces cellules ? Par quelles enzymes devrait-on remplacer la  $\beta$ -glucuronidase ?
- 1.5. Qu'observerait-on si on ajoutait de l'eau distillée à la préparation observée sur la microphotographie 3 du document 1e ? Expliquer brièvement pourquoi.

## 2. Multiplication et numération des levures

On cultive des levures (*Saccharomyces cerevisiæ*) dans un milieu complet, bien oxygéné à l'aide d'un bulleur d'aquarium, pendant 24 heures à 25°C. Un échantillon de cette « **solution mère** » est alors prélevé et observé au microscope électronique à transmission ; cette observation est donnée par le **document 2a**.

**Documents 2a** : Observation au MET d'une levure (*Saccharomyces cerevisiæ*)  
**Grossissement** : x35 000 - D'après *Encyclopaedia Universalis*, M. Besson, 1981



### 2.1. Coller et légenter le document 2a.

Quel est le nom de cette forme particulière de division cellulaire ? Donner un autre type de reproduction observable lorsque les conditions du milieu deviennent défavorables chez *Saccharomyces cerevisiæ*.

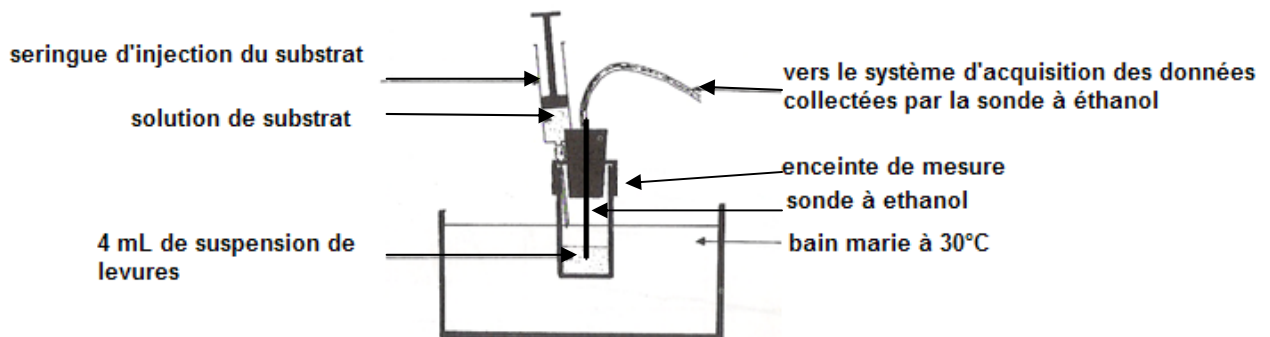
On prélève 1mL de la « **solution mère** » observée dans le document 2a que l'on ajoute dans 99 mL d'eau physiologique. On homogénéise par agitation douce cette nouvelle solution, puis, à l'aide d'une pipette Pasteur, on transfère une goutte de cette nouvelle solution dans la cupule d'une lame Kova. On observe aussitôt le carré central de la grille de la lame Kova : **document 2b page 10**.

**2.2. A partir de cette observation et sachant que la grille d'une lame Kova correspond à un volume de  $1 \mu\text{l}$ , que la grille comporte 9 cases, que chaque case comporte 9 carrés et que le fabricant préconise un facteur multiplicatif de 1,1 ; calculer le nombre de levures contenues dans  $1 \mu\text{l}$  de la solution mère. Pourquoi le fabricant préconise-t-il un facteur multiplicatif de 1,1 ?**

### 3. Métabolisme des levures : étude de la fermentation

Des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) sont mises en suspension dans un tampon phosphate de pH = 6,2 et on fait buller du  $\text{N}_2$  dans la suspension afin d'en éliminer le maximum d' $\text{O}_2$ . Puis on transfère 4mL de cette suspension dans une enceinte de mesure dans laquelle plonge une sonde à éthanol reliée à un système informatique d'acquisition de données. Cette sonde a été préalablement étalonnée avec des solutions d'éthanol de concentration connue (**document 3a**).

**Document 3a : Schéma du montage expérimental permettant le suivi de la fermentation alcoolique des levures** *Modifié d'après TP de biologie des levures, D. Pol, 1996, Ellipse*



A l'aide de la seringue d'injection, on ajoute dans l'enceinte de mesure une solution de glucose à  $1 \text{ mmol.L}^{-1}$  et on suit la production d'éthanol au cours du temps. La même expérience est ensuite réalisée avec 4 autres solutions de glucose de concentrations croissantes. L'ensemble des résultats est juxtaposé sur le **document 3b**.

**Document 3b : Résultats expérimentaux du suivi de la fermentation par des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) de 5 concentrations de glucose**

*Modifié d'après TP de biologie des levures, D. Pol, 1996, Ellipse*

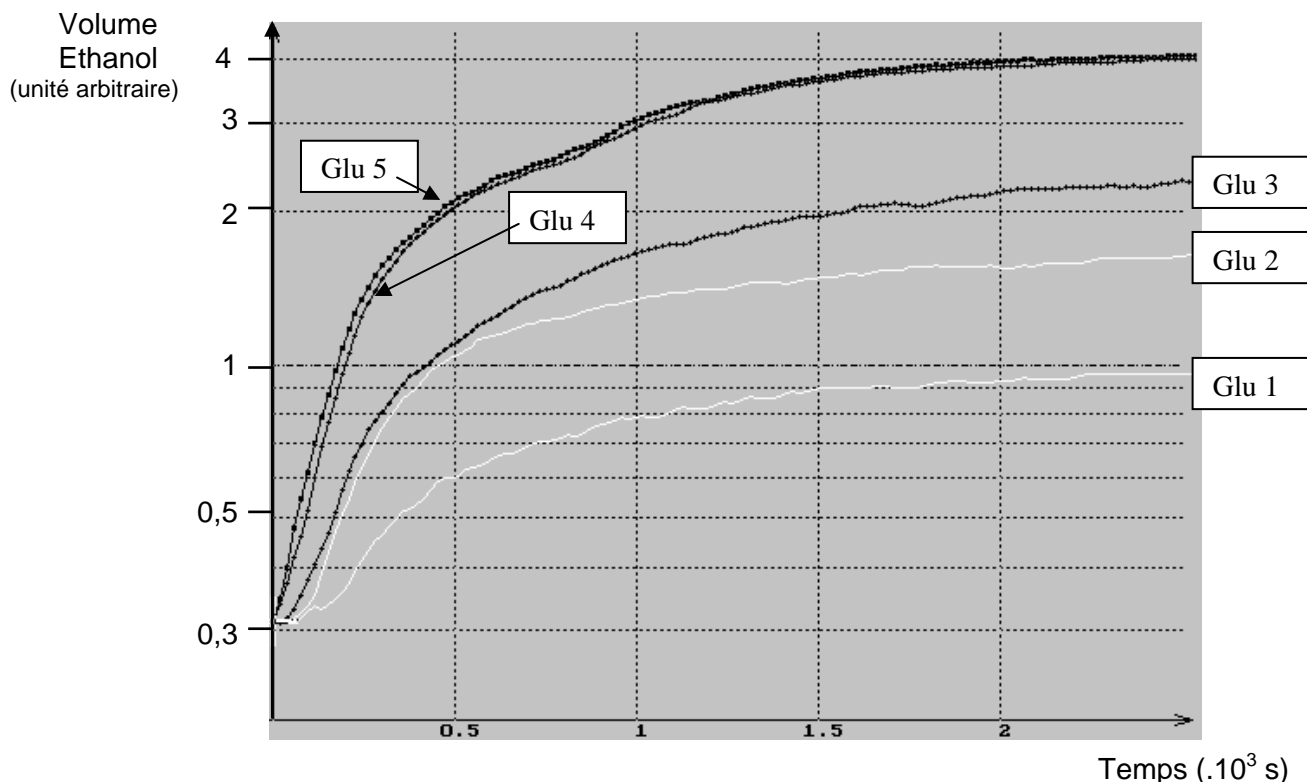
Graphique Glu 1 : [Glucose] =  $1 \text{ mmol.L}^{-1}$

Graphique Glu 2 : [Glucose] =  $5 \text{ mmol.L}^{-1}$

Graphique Glu 3 : [Glucose] =  $12,5 \text{ mmol.L}^{-1}$

Graphique Glu 4 : [Glucose] =  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$

Graphique Glu 5 : [Glucose] =  $150 \text{ mmol.L}^{-1}$



**3.1. Comparer les 5 graphiques obtenus donnés par le document 3b. Que peut-on déduire de la quasi superposition des courbes Glu 4 et Glu 5 ?**

**3.2. La fermentation du glucose par les levures est suivie, dans ces manipulations, grâce à une sonde à éthanol. Quel autre type de sonde classique pourrait-on utiliser ? Justifier par une réaction biochimique précise votre réponse.**

A l'aide de la seringue d'injection, on ajoute cette fois dans l'enceinte de mesure une seule solution de glucose à  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  et on suit la production d'éthanol au cours du temps. La même expérience est ensuite réalisée avec une solution de saccharose à  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  puis de maltose à  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$ , puis avec de galactose à  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  puis de lactose à  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  et enfin d'amidon. L'ensemble des résultats est juxtaposé sur le **document 3c**.

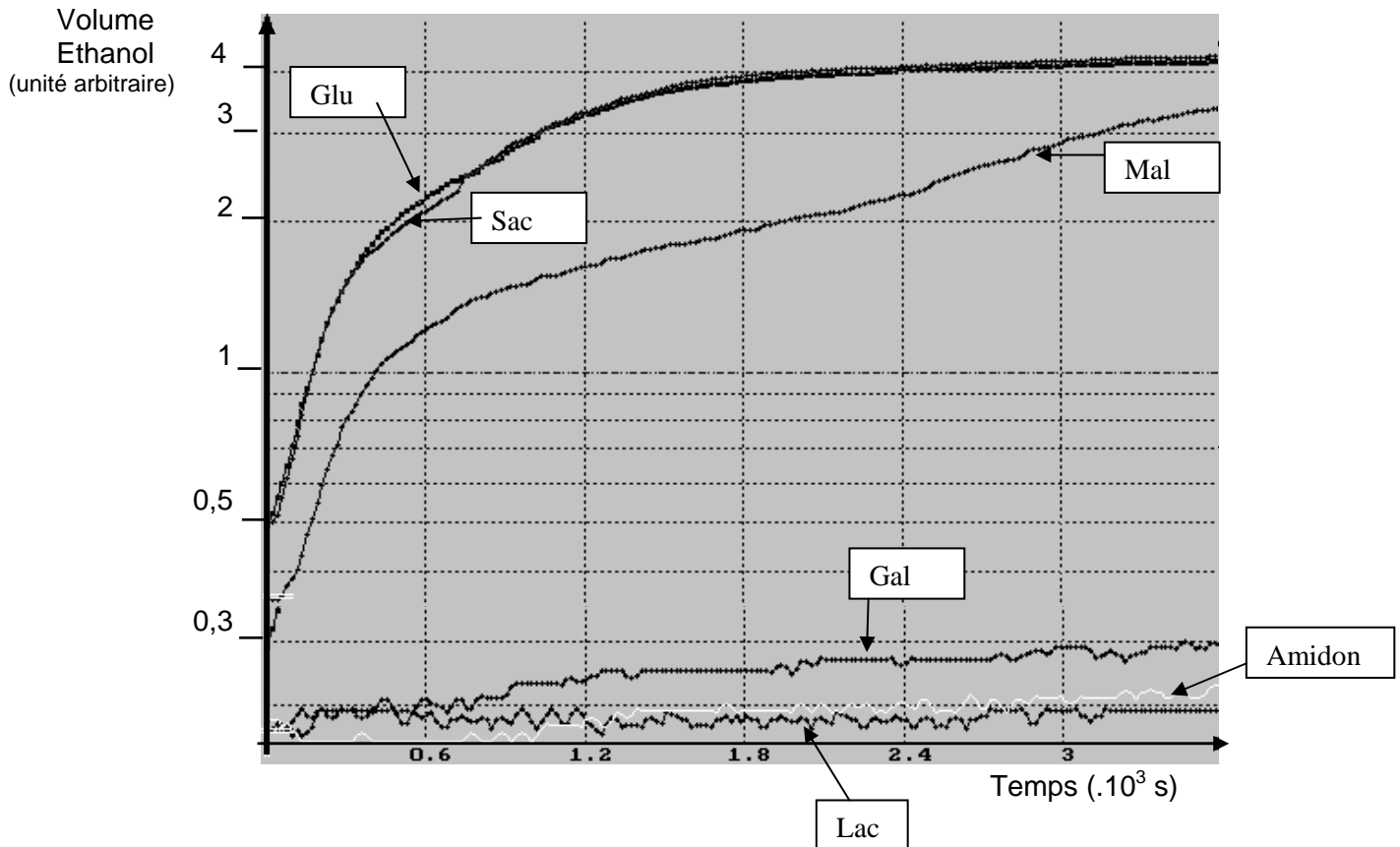
Il faut noter que, malgré tout le soin apporté à la réalisation des solutions et au nettoyage de l'enceinte de mesure, des traces des glucides successifs peuvent être encore finalement présentes.

**Document 3c : Résultats expérimentaux du suivi de la fermentation par des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) de 6 glucides**

Modifié d'après TP de biologie des levures, D. Pol, 1996, Ellipse

Graphique Gal : [Galactose] = 100 mmol.L<sup>-1</sup>  
Graphique Sac : [Saccharose] = 100 mmol.L<sup>-1</sup>  
Graphique Mal : [Maltose] = 100 mmol.L<sup>-1</sup>

Graphique Ami : empois d'amidon  
Graphique Lac : [Lactose] = 100 mmol.L<sup>-1</sup>  
Graphique Glu : [Glucose] = 100 mmol.L<sup>-1</sup>



**3.3.1. Comparer les graphiques Glu, Sac, Mal, Lac et Amidon obtenus et donnés par le document 3c. Conclure. Le cas du galactose (Gal) est abordé plus loin.**

**3.3.2. Quel problème dans l'utilisation industrielle de la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*), les résultats obtenus pour le maltose et l'amidon mettent-ils en évidence ? Comment ce problème est-il résolu ?**

A l'aide d'une bandelette destinée à mesurer la glycémie, on teste la solution de saccharose au cours de l'expérience précédente à  $t = 1,8 \cdot 10^3$  s : le test est positif.

Dans un second temps, à la fin de l'expérience, cette solution de saccharose est diluée au dixième puis passée sur un filtre ne laissant passer que les éléments dont la taille est inférieure à 1  $\mu\text{m}$ . On ajoute alors au filtrat obtenu 5 mL d'une nouvelle solution pure de saccharose ; le tout est placé au bain marie à 30°C pendant 20 minutes puis on teste la solution avec une nouvelle bandelette : le test est de nouveau positif.

**3.4. Quelle est l'enzyme mise en évidence par ces deux expériences ? Quelle réaction catalyse-t-elle ? Pourquoi cette enzyme est-elle aussi appelée invertase ? Cette enzyme est-elle cytosolique ou extracellulaire ? En déduire l'existence ou non d'un transporteur membranaire du saccharose ? du glucose ? du fructose ?**

A l'aide de nouvelles bandelettes destinées à mesurer la glycémie, on teste la solution de maltose au cours de l'expérience précédente (document **3c**) à  $t = 1,8 \cdot 10^3$  s : le test est négatif.

Dans un second temps, à la fin de l'expérience, cette solution de maltose est diluée au dixième puis passée sur un filtre ne laissant passer que les éléments dont la taille est inférieure à  $1 \mu\text{m}$ . On ajoute alors au filtrat obtenu 5 mL d'une nouvelle solution pure de saccharose ; le tout est placé au bain marie à  $30^\circ\text{C}$  pendant 20 minutes puis on teste la solution avec une nouvelle bandelette : le test est de nouveau négatif.

**3.5. Quelle enzyme recherche-t-on chez la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*) par ces deux expériences ? Quelle réaction catalyse-t-elle ?**

***Cette enzyme est-elle cytosolique ou extracellulaire ? En déduire l'existence ou non d'un transporteur membranaire du maltose ? Justifier votre réponse.***

**3.6. Formuler deux hypothèses pour expliquer le graphique Gal obtenu et donné par le document 3c.**

Des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) sont préalablement cultivées, en suspension dans un tampon phosphate de  $\text{pH} = 6,2$ , bien agité et aéré, en présence de **glucose (milieu A** : ajout de glucose à  $300 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) ou en présence de **galactose (milieu B** : ajout de galactose à  $300 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).

Après 24 heures, on fait buller du  $\text{N}_2$  dans la suspension afin d'en éliminer le maximum d' $\text{O}_2$ . Puis on transfère 4 mL du **milieu A** dans l'enceinte de mesure utilisée dans les expériences précédentes (document **3a**). A l'aide de la seringue d'injection, on ajoute cette fois dans l'enceinte de mesure une solution de **galactose** à  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  et on suit la production d'éthanol au cours du temps.

La même expérience est ensuite réalisée avec le **milieu B**.

Pour les **milieux C et D** les protocoles sont identiques, respectivement, au **milieu Glu** et au **milieu Gal**, de l'expérience du **document 3c**.

L'ensemble des résultats est juxtaposé sur le **document 3d page 7**.

**3.7. Comparer les graphiques 1, 2, 3 et 4. Conclure sur le rôle du glucose puis du galactose sur la fermentation du galactose.**

***En déduire laquelle des deux hypothèses formulées dans la question 3.6. peut être validée.***

Le **document 3e page 7** présente les mécanismes d'induction des enzymes et transporteur intervenant dans le métabolisme du galactose chez *Saccharomyces cerevisiae*.

**3.8. A partir des informations apportées par le document 3e, préciser comment le galactose influencerait sa propre fermentation.**

**3.9. A partir des informations apportées par le document 3e, préciser comment le glucose influencerait la fermentation du galactose.**

## **4. Fermentation des levures : bilan**

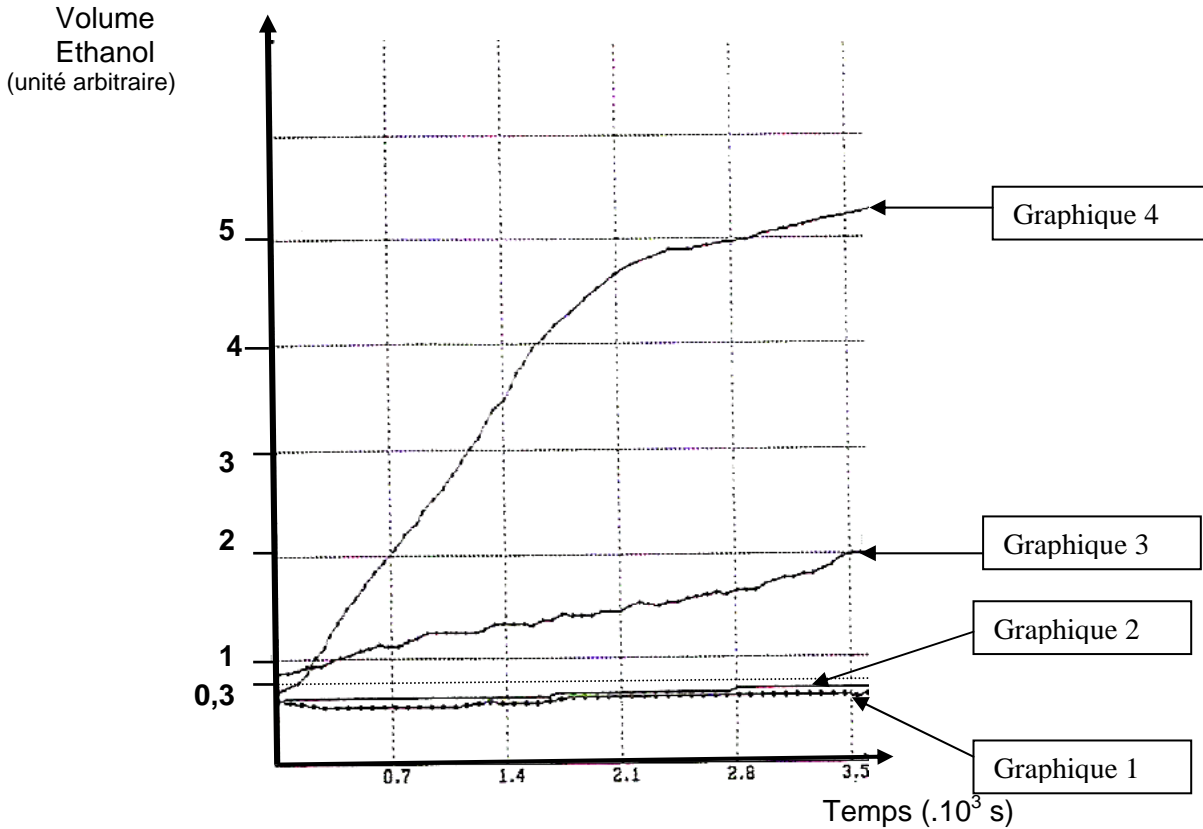
**4.1. Rappeler les sucres fermentescibles par *Saccharomyces cerevisiae* mis en évidence tout au long du sujet.**

***Réaliser un schéma bilan présentant leur pénétration dans la levure de bière et précisant, pour chaque sucre fermentescible, laquelle des étapes conduisant du glucose à l'alcool permet leur incorporation dans la voie de fermentation.***

**Document 3d : Résultats expérimentaux du suivi de la fermentation par des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) du glucose et du galactose après pré-culture ou non avec du glucose ou du galactose**

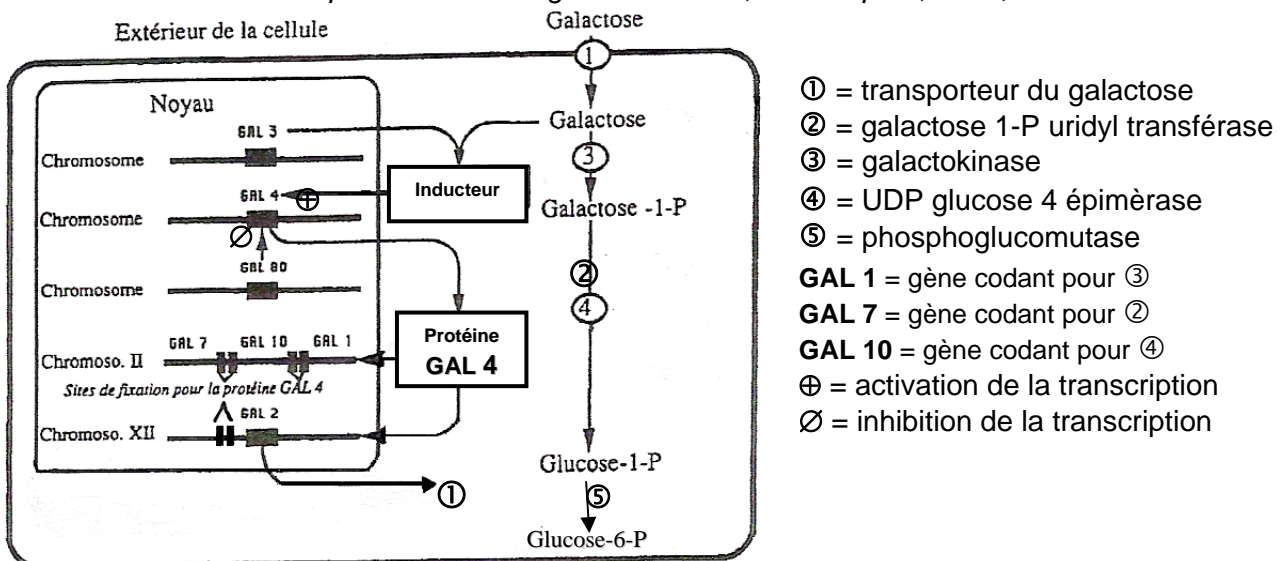
Modifié d'après TP de biologie des levures, D. Pol, 1996, Ellipse

- Graphique 1 : Milieu D (galactose sans pré-culture avec glucose ou galactose).
- Graphique 2 : Milieu A (galactose après pré-culture avec glucose).
- Graphique 3 : Milieu B (galactose après pré-culture avec galactose).
- Graphique 4 : Milieu C (glucose sans pré-culture avec glucose ou galactose).



**Document 3e : Les mécanismes d'induction des enzymes et transporteur intervenant dans le métabolisme du galactose chez *Saccharomyces cerevisiae***

Modifié d'après Biotechnologie des levures, J.P. Larpent, 1991, Masson



# BIOLOGIE 1

## Documents 1a :

Observation au microscope optique de levures (*Saccharomyces cerevisiæ*) après coloration au rouge neutre à  $t = 0$ .

Grossissement : x1200



OD ©

## Documents 1b :

Observation au microscope optique de levures (*Saccharomyces cerevisiæ*) après coloration au rouge neutre à  $t = 20$  min.

Grossissement : x1200



OD ©

## Documents 1c :

Observation au microscope optique de granulations brunes dans des levures (*Saccharomyces cerevisiæ*) après coloration au Iugol (eau iodée).

Grossissement : x1200



OD ©

## Documents 1d :

Observation au microscope optique de levures (*Saccharomyces cerevisiæ*) sans coloration.

Grossissement : x1200



OD ©



**Documents 1e** : Observation au microscope électronique à transmission d'une culture de levures (*Saccharomyces cerevisiæ*) incubée dans un milieu liquide complet puis transférée dans une solution isotonique de tampon citrate contenant du sorbitol

et une enzyme : la  $\beta$ -glucuronidase (à Température = 35 °C)

(1) : à t = 0

(2) : à t = 20 minutes

(3) à t = 60 minutes

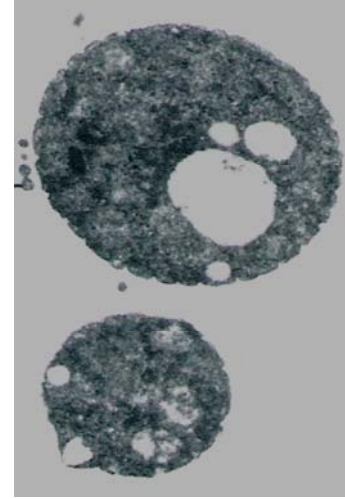
Modifié d'après *Kinetic and morphological observations on Saccharomyces cerevisiæ*  
S. Darling, mai 1969, *Journal of Bacteriology*



(1) MET x10000



(2) MET x10000



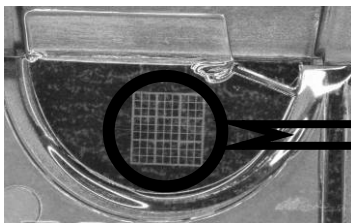
(3) MET x10000

**Document 2b** : Observation au microscope optique à travers la grille de comptage d'une goutte de culture de levure (*Saccharomyces cerevisiæ*) déposée dans une lame Kova

(1) : Lame Kova vide (loupe x8)

(2) : Les neuf cases d'une grille d'une lame Kova vide (loupe x25)

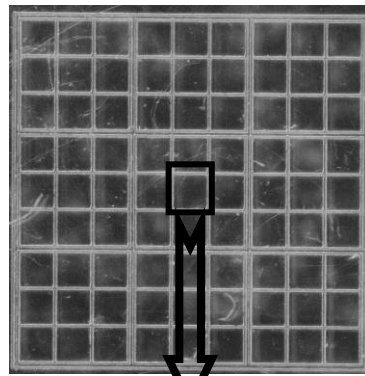
(3) : Observation des levures dans le carré central de la case centrale de la grille d'une lame Kova (microscope optique x400)



(1) OD ©

5.

OD © (2)



OD © (3)

