

BIOLOGIE
Épreuve sur documents

Durée : 1 heure

Merci de composer sur des copies distinctes de celles utilisées pour le sujet de synthèse.

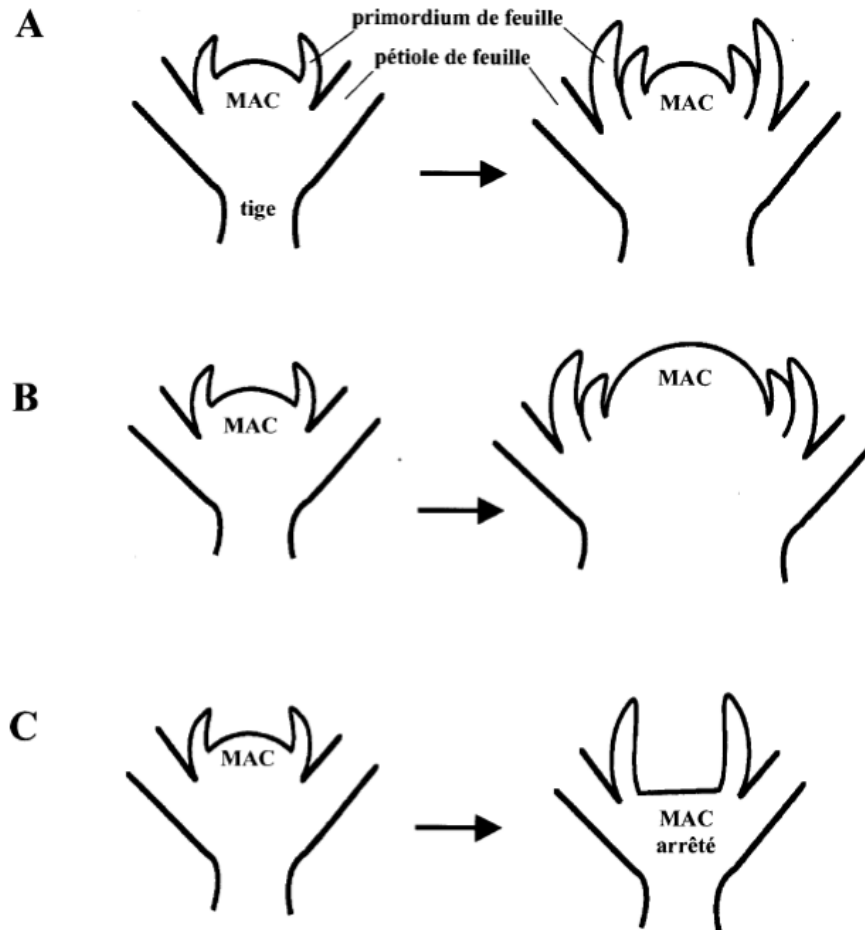
**Interventions de gènes et interactions géniques lors du contrôle du développement du méristème apical
caulinaire (d'après ENS 2004)**

L'usage de la calculatrice, d'abaques et de tables est interdit pour cette épreuve.

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

Diverses mutations affectant des gènes qui contrôlent le développement du MAC (méristème apical caulinaire) ont été isolées. Certaines de ces mutations affectent l'initiation de nouveaux primordiums d'organes alors que d'autres affectent le maintien de l'activité du MAC. Les phénotypes de certains mutants sont présentés dans le document I.1 ci-dessous.

Document 1



Comparaison du développement du MAC chez la plante sauvage et chez différents mutants homozygotes d'*Arabidopsis thaliana*. Les schémas de droite représentent les mêmes plantes à un stade plus avancé de leur développement.

(A) Plante sauvage.

(B) Mutant homozygote *clv1* ou *clv3*. La mutation inactive le gène *CLAVATA1* (*CLV1*) ou *CLAVATA3* (*CLV3*). Les MAC de ces mutants produisent un nombre plus important de feuilles que les MAC des plantes sauvages.

(C) Mutant homozygote *wus*. La mutation inactive le gène *WUSCHEL* (*WUS*). Chez ce mutant, de nouveaux MAC et méristèmes floraux sont produits continuellement.

- 1) D'après le document 1, proposez une hypothèse sur le rôle des gènes *CLAVATA* (1 ou 3) et *WUSCHEL*.

Document 2

Tableau 2. Index mitotique dans le MAC du mutant *clv3* d'*Arabidopsis thaliana*. Le diamètre de la base du méristème *clv3* est de 82 μm . Les nombres entre parenthèses correspondent aux marges d'erreur standards.

Zones méristématiques	Nombre de méristèmes ^a	Nombre de cellules ^a	Nombre de mitoses ^a	Index mitotique
Couche L1				
Domaine A	50	434	8	1,8 % (0,5)
Domaine B	50	553	10	1,8 % (0,6)
Domaine C	50	664	27	4,1 % (0,8)
Domaine D	50	638	32	5,0 % (0,8)

^a En raison du faible nombre de cellules par domaine, les mesures des nombres de cellules et de mitoses ont été effectuées sur 50 méristèmes.

- 2) Comparez les index mitotiques entre les domaines chez le sauvage et le mutant. Quels sont les résultats significatifs ? Qu'en déduisez-vous quant au rôle du gène *CLV3* ?

Afin de mettre en évidence d'éventuelles interactions entre les gènes *WUS* et *CLV* dans le méristème sauvage, les phénotypes de doubles mutants ont été analysés et comparés aux phénotypes des simples mutants. De telles analyses permettent de dégager des relations d'épistasie entre gènes. Un gène est dit épistatique par rapport à un autre lorsque le produit d'expression du premier exerce un effet activateur ou inhibiteur sur l'expression du second. Pour cela, différentes lignées de mutants homozygotes *wus*, *clv1* et *clv3* présentant tous des allèles non fonctionnels, ont été croisées et les phénotypes des fleurs des doubles et simples mutants analysés. Les résultats sont présentés dans le tableau 3

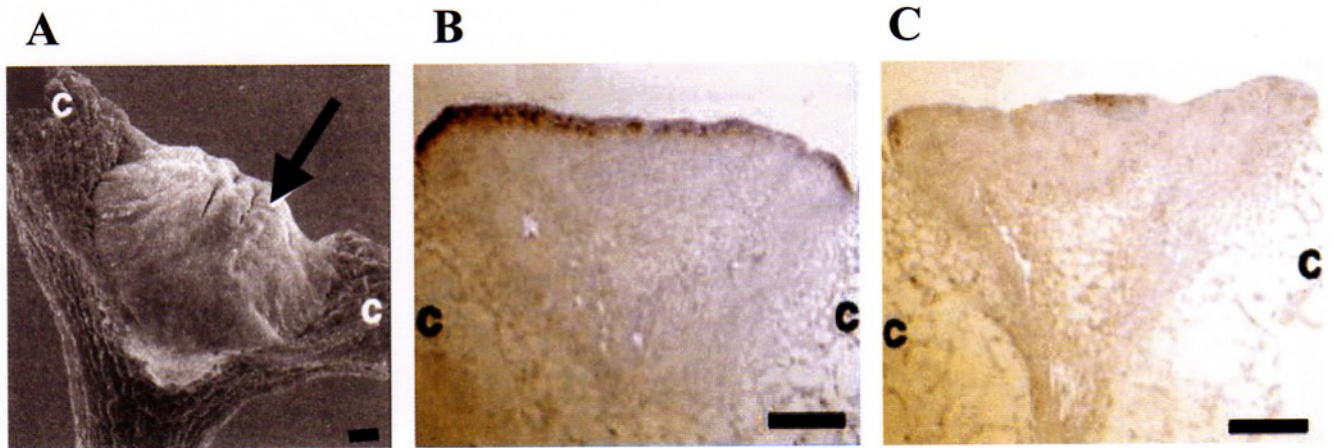
Tableau 3. Nombres moyens d'organes floraux par fleur analysée chez les plantes sauvages d'*Arabidopsis thaliana*, chez les simples mutants *wus* et *clv*, et chez les doubles mutants *wus clv*. Les nombres entre parenthèses correspondent aux marges d'erreur standards.

Plante	Nombre de fleurs analysées	Nombres d'organes floraux			
		Sépales	Pétales	Etamines	Carpelles
sauvage	10	4,0 (0,0)	4,0 (0,0)	6,0 (0,0)	2,0 (0,0)
<i>wus</i>	8	4,0 (0,0)	4,0 (0,0)	1,0 (0,1)	0,0 (0,0)
<i>clv1</i>	10	4,9 (0,7)	4,6 (0,7)	9,3 (1,0)	4,5 (0,9)
<i>wus clv1</i>	29	4,0 (0,0)	4,0 (0,0)	1,1 (0,2)	0,0 (0,0)
<i>clv3</i>	10	4,4 (0,7)	4,5 (0,5)	8,7 (0,8)	5,4 (1,0)
<i>wus clv3</i>	18	4,0 (0,0)	4,0 (0,0)	0,9 (0,2)	0,0 (0,0)

- 3) Analysez les résultats pour les simples mutants. Que concluez-vous sur le rôle des gènes *CLV* et *WUS* ?
- 4) Analysez les résultats pour les doubles mutants. Existe-t-il une relation épistasique entre *WUS* et *CLV* ? Si oui, précisez votre réponse.

Afin de préciser la fonction du gène WUS, des plantes transgéniques (P_{ANT} -WUS) surexprimant le gène WUS ont été réalisées. Au bout de deux semaines de développement, le phénotype du MAC des plantes transgéniques a été analysé et les ARNm du gène *CLV3* ont été détectés par hybridation *in situ*. Les résultats sont présentés sur le document 3.

Document 3



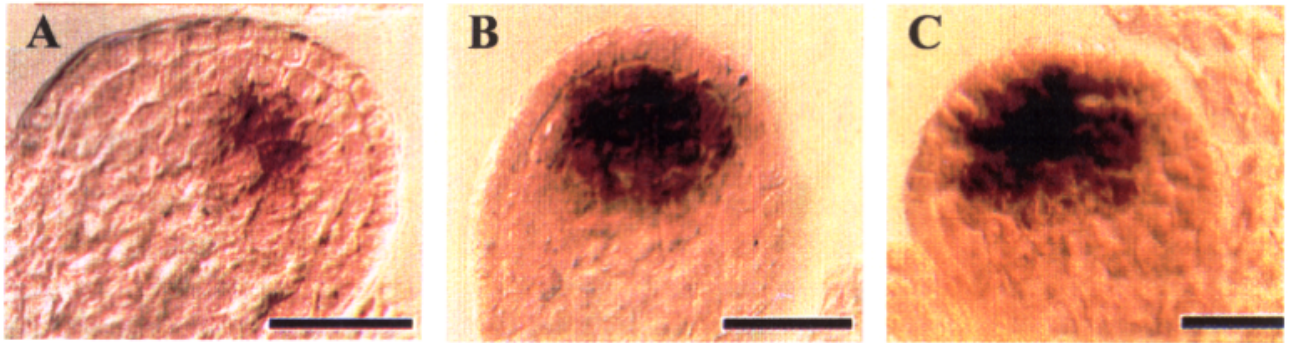
Profils d'expression des ARNm du gène *CLV3* chez les plantes transgéniques P_{ANT} -WUS et les plantes sauvages d'*Arabidopsis thaliana*, obtenus par hybridation *in situ* sur des coupes longitudinales. Les cellules exprimant le gène *CLV3* sont marquées en brun. c = cotylédon ; barre = 100 μ m.

- (A) Plante transgénique P_{ANT} -WUS de deux semaines. La flèche montre une masse de cellules méristématiques qui s'est formée à la place d'une feuille.
- (B) Détection des ARNm du gène *CLV3* dans le MAC de plante transgénique de deux semaines.
- (C) Détection des ARNm du gène *CLV3* dans le MAC de plante sauvage de deux semaines.

- 5) Rappelez le principe de la technique de l'hybridation *in situ*.
- 6) Que déduisez-vous alors de ces résultats ?

Afin de poursuivre la détermination des interactions entre les gènes WUS et CLV, l'expression des ARNm du gène WUS a été analysé dans les méristèmes floraux chez les mutants *clv1* et *clv3*, par une technique d'hybridation *in situ*. Ces profils d'expression sont présentés dans ce document II-4 ci-dessous.

Document 4



Profils d'expression des ARNm du gène *WUS* dans les méristèmes floraux d'*Arabidopsis thaliana*, obtenus par hybridation *in situ* sur des coupes longitudinales. Les cellules exprimant le gène *WUS* apparaissent en brun. Barre = 20 μ m.

(A) Plante sauvage.

(B) Mutant *clv1*.

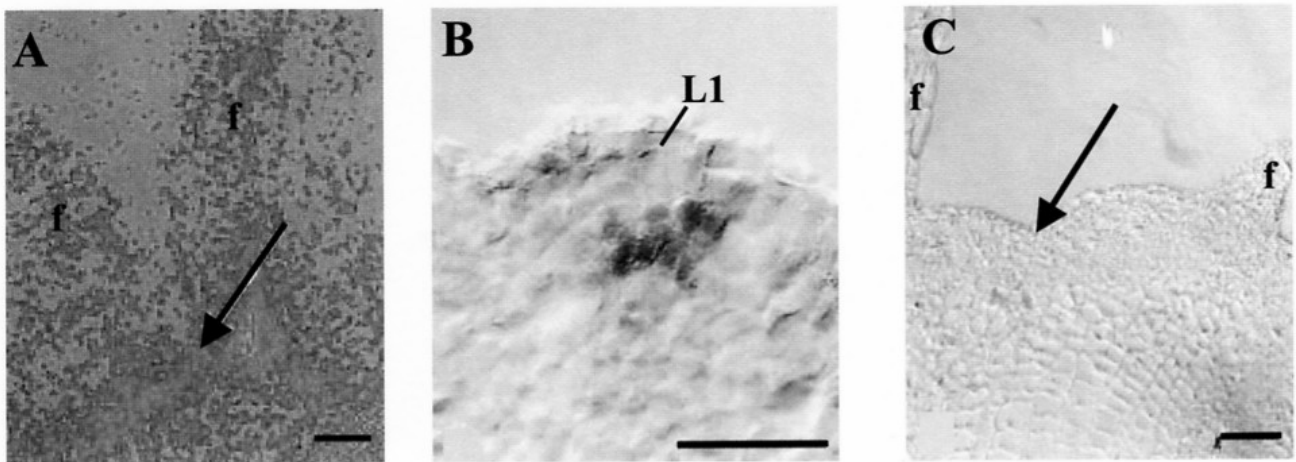
(C) Mutant *clv3*.

- 7) Commentez les résultats obtenus. Peut-on préciser la relation épistasique entre les gènes ?

Par ailleurs des plantes transgéniques (P_{35S} -CLV3) exprimant de façon continue et anormalement importante le gène *CLV3* ont été obtenues. Ces plantes présentent un MAC qui initie la formation de premières feuilles, mais qui s'arrête précocement de fonctionner. L'expression du gène *WUS* a été analysée dans les MAC de ces plantes. Les résultats sont présentés dans le document 5.

Le transgène P_{35S} -CLV3 a également été introduit dans le mutant *clv1* d'*Arabidopsis thaliana*. Les plantes transgéniques obtenues expriment une quantité élevée d'ARNm *CLV3* et présentent le même phénotype que les mutants *clv1*.

Document 5



Profils d'expression des ARNm du gène *WUS* dans les MAC arrêtés de plantes transgéniques P_{35S} -CLV3 d'*Arabidopsis thaliana*, obtenus par hybridation *in situ* sur des coupes longitudinales. Les cellules exprimant le gène *WUS* sont marquées en foncé. f = primordium de feuille ; flèche = MAC arrêté ; barre = 20 μ m.

- (A) Expression du transgène *CLV3* chez une plante transgénique. Les cellules exprimant le transgène apparaissent en foncé
- (B) Expression du gène *WUS* dans le MAC d'une plante sauvage.
- (C) Expression du gène *WUS* dans le MAC arrêté d'une plante transgénique.

- 8) Commentez les résultats pour le mutant surexprimant CLV3. Est-ce en accord avec vos conclusions précédentes ?
- 9) Comment expliquez-vous les résultats obtenus sur le double mutant P_{35S} -CLV3 / CLV1 ?
- 10) Concluez votre étude par un schéma montrant les relations entre ces gènes.

1) D'après le document 1, proposez une hypothèse sur le rôle des gènes <i>CLAVATA</i> (1 ou 3) et <i>WUSCHEL</i>. Les mutants <i>clv</i> ayant un MAC hypertrophié, on peut en déduire que ces gènes exercent un rôle inhibiteur sur le développement du MAC. Le mutant <i>wus</i> ayant un MAC dont l'activité s'arrête, on peut en déduire que ce gène exerce un rôle indispensable dans le maintien de l'activité du MAC. D'autres MAC et des méristème floraux se mettant en place, le gène <i>WUS</i> peut être mis en cause dans l'inhibition de la mise en place d'autres méristèmes.	1 1
2) Comparez les index mitotiques entre les domaines chez le sauvage et le mutant. Quels sont les résultats significatifs ? Qu'en déduisez-vous quant au rôle du gène <i>CLV3</i> ? L'augmentation de l'index mitotique dans le domaine D du mutant <i>clv3</i> (5,0 % contre 4,8 % chez la plante sauvage) n'est pas significative au vu des marges d'erreur standards, mais on observe en revanche une diminution de cet index dans le domaine B (4,3 % à 1,8 %). Chez les mutants <i>clv3</i> la zone médiane caractérisée par un index mitotique de l'ordre de 1,8% assimilable à la zone centrale occupe une proportion plus importante du méristème car son rayon est égal à 0,5R au lieu de 0,25R. Les index mitotiques mesurés par ailleurs ne présentent pas de différences significatives. Cc : On en déduit que le gène <i>CLV3</i> exerce son action inhibitrice sur le développement du MAC en stimulant la transformation des « cellules de la zone centrale » en « cellules de la zone périphérique ».	1 1 1 1
3) Analysez les résultats pour les simples mutants. Que concluez-vous sur le rôle des gènes <i>CLV</i> et <i>WUS</i> ? Chez les mutants <i>wus</i> le nombre d'organes floraux initiés ne varie pas en ce qui concerne les sépales et les pétales et est réduit en ce qui concerne les pièces fertiles. On peut en déduire que <i>WUS</i> exerce une action augmentant le nombre de pièces fertiles. Chez les mutants <i>clv</i>, toutes les pièces florales augmentent en nombre. On peut donc supposer que les gènes <i>CLV</i> exercent une action réduisant le nombre de pièces florales.	2 2
4) Analysez les résultats pour les doubles mutants. Existe-t-il une relation épistasique entre <i>WUS</i> et <i>CLV</i> ? Si oui, précisez votre réponse. Les doubles mutants <i>wus.clv</i> présentent les mêmes résultats que les mutants simples <i>wus</i> chez lesquels on pourrait s'attendre à observer moins de pièces florales. Cc: Si lorsque le gène <i>WUS</i> est muté, on observe une absence d'effet des mutations <i>clv</i>, c'est que les gènes <i>CLV</i> sont déjà neutralisés. Le gène <i>WUS</i> paraît donc nécessaire à l'expression des gènes <i>CLV</i>. Le gène <i>WUS</i> exerce donc un effet épistasique activateur sur les gènes <i>CLV</i> (ou sur l'un avec répercussion sur l'autre).	2 1 2
5) Rappelez le principe de la technique de l'hybridation in situ Le principe de l'hybridation in situ consiste à révéler directement sur un tissu une molécule, ici l'ARNm de <i>CLV3</i>, à l'aide d'une réaction colorée.	1
6) Que déduisez-vous alors de ces résultats ? Chez les plantes surexprimant <i>WUS</i>, on constate un domaine d'expression de <i>CLV3</i> bien plus important que chez les	

plantes sauvages.	1
Cc : Ceci confirme l'effet activateur de WUS sur l'expression du gène CLV3.	1
7) Commentez les résultats obtenus. Peut-on préciser la relation épistasique entre les gènes ?	
Les mutants clv1 et clv3 expriment le gène WUS sur une zone plus grande.	1
Cc : On en déduit que les gènes CLV1 et CLV3 exercent un effet épistatique inhibiteur sur l'expression du gène WUS.	1
8) Commentez les résultats pour le mutant surexprimant CLV3. Est-ce en accord avec vos conclusions précédentes ?	
Chez l'individu transgénique surexprimant CLV3, on observe la disparition de la zone d'expression de WUS. Ceci confirme la conclusion précédente.	1
9) Comment expliquez-vous les résultats obtenus sur le double mutant P_{35S}-CLV3 / CLV1 ?	2
Les effets similaires des mutations des 2 gènes suggèrent une intervention en chaîne des 2 gènes. Il n'y pas de différence entre le phénotype des simples mutants clv1 et des doubles mutants P35S-CLV3/CLV1. La mutation clv1 se traduit par l'absence d'effet de la surexpression de CLV3.	
Conclusion : C'est donc CLV3 qui agit sur CLV1 (et non l'inverse) et CLV3 exerce un effet épistatique positif sur CLV1	1
10) Concluez votre étude par un schéma montrant les relations entre ces gènes.	4
WUS exerce effet + sur CLV3 qui exerce effet + sur CLV1 qui exerce effet – sur WUS	