

## DS4. Éléments de correction Biologie

### Thème 1 : Dimorphisme sexuel et succès reproducteur

**Q1.** Les caractéristiques de chacune des phases sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractérisation du dimorphisme sexuel chez la saponaire officinale

	Phase mâle	Phase femelle
corollen	5 pétales blancs étroits et échanrés	5 pétales roses plus large
étamines	Au moins huit dressées ; anthères visibles	Sèches ; dépourvues d'anthères
stigmate	Non visibles	Deux visibles

**Q2.** En dépit de la proximité des médianes et de la dispersion des résultats, les tests statistiques démontrent que la **faible augmentation de la longueur des pétales chez la phase femelle** comparativement à la phase mâle (médiane de 15,5 mm pour les fleurs femelles contre 14,5 mm chez les mâles) est statistiquement significative. Ces résultats confirment l'existence d'un dimorphisme sexuel. Mais aucune différence significative n'est observée, ni lors de la phase mâle ni lors de la phase femelle, entre la condition « ombre » et « soleil ».

Pour le **diamètre apparent** de la corolle c'est une **diminution significative d'environ 20 %** qui est mise en évidence entre la phase mâle et femelle. Cette fois encore, la luminosité n'engendre aucune différence significative.

**Le dimorphisme sexuel est donc indépendant de la luminosité.**

**Q3a.** Les pétales de la fleur en phase mâle possèdent un indice de coloration faible (entre 0 et 0,1) (en accord avec la coloration blanche observée dans le document A). La fleur en phase mâle ne présente **pas de variation d'indice de coloration en réponse à la lumière.**

La fleur en phase femelle présente, à la lumière, un indice médian de coloration 4 à 5 fois plus élevé que la fleur en phase mâle (0,04 contre 0,22 ; différence significative a/c). Cet indice médian n'est que 0,15 à l'obscurité : **la coloration de la fleur en phase femelle est donc statistiquement plus importante au soleil.**

**Q3b.** Ces documents montrent un dimorphisme sexuel dans les **dimensions et la couleur des pétales.** La **lumière** renforce la coloration des pétales en phase femelle. On peut postuler que le dimorphisme des fleurs est un caractère qui a été maintenu par la sélection naturelle car il favoriserait l'hétérogamie. Peut-être que la couleur blanche des fleurs attire les pollinisateurs et les incite à se poser longuement sur les fleurs, ce qui les couvre de pollen.

**Q4.** Les fleurs mâles blanches M représentent 75 % des visites initiales quand elles sont confrontées aux fleurs femelles roses Fr (différence significative). Cette **attirance des fleurs mâles pour les insectes** peut résulter soit de la couleur de la fleur, soit de la forme de la corolle.

Quand les fleurs mâles sont confrontées à des fleurs femelles blanches, les taux de visites sont identiques, montrant que **la couleur blanche semble être un élément déterminant** pour l'attraction des pollinisateurs.

Enfin, quand les fleurs femelles blanches et roses sont confrontées, les fleurs blanches sont deux fois plus visitées que les fleurs roses (différence de répartition statistiquement significative) pour des formes identiques, ce qui **confirme que la couleur blanche joue un rôle déterminant pour l'attraction** des pollinisateurs.

Ainsi, les fleurs mâles sont plus visitées initialement que les fleurs femelles essentiellement en raison de leur couleur blanche ; ce comportement favorise, dans un premier temps, la prise en charge puis le transport du pollen par les insectes. Le pollen récolté peut ensuite être déposé sur des fleurs femelles, puisque le taux de visite associé aux fleurs colorées n'est pas nul : les deux types de fleurs sont toujours visitées.

Si les fleurs sont cultivées à l'ombre, on peut s'attendre à ce que la **pollinisation soit moins efficace** puisque les insectes ne pourront pas discriminer les fleurs mâles des fleurs femelles.

**Q5a.** Enlever les étamines au stade bouton floral permet d'éviter l'autopollinisation ; les fleurs étudiées présentent une **pollinisation croisée (ici entomophile)**.

**Q5b.** La pollinisation manuelle engendre une production de graines deux fois plus importante qu'en condition naturelle (30 contre 15 par fruit). Ceci démontre une limitation du succès reproducteur en condition naturelle probablement liée au mode de pollinisation par les insectes qui engendre une perte importante de pollen.

On n'observe aucune différence significative du nombre de graines obtenues entre ombre et soleil pour les conditions A et B. **La valeur sélective ne dépend pas de la luminosité** contrairement à ce qui avait été supposé à la question précédente.

**Q6.** Au soleil, on note une absence de corrélation (coefficient de corrélation proche de zéro) : la coloration des individus ne modifie pas le succès reproducteur, en effet le.

A l'ombre, le succès reproducteur des individus aux pétales peu colorés semble être plus important que celui des individus à pétales. Cependant le coefficient de corrélation étant très différent de -1, cette tendance n'est peut-être pas significative.

En résumé, une faible luminosité pourrait engendrer une différence de valeur sélective entre les plantes à fleurs femelles colorées ou non : **ces dernières pourraient alors se trouver sélectionnées.**

## Thème 2 : Anthocyanes et pigmentation des pièces florales

**Q7a.** Le pH des extraits de pétale est compris entre 5.4 et 6.

On peut répartir les plantes en 2 groupes, selon leur phénotype et le pH des extraits.

- pH égal à 5.4 ou 5.5 : plantes A (sauvage) à pétales rouges et mutants L, S et T, également rouges ; seul le mutant F a un pH faible et des fleurs rose pâle.
- pH supérieur à 5,8 : mutants blancs ou rose pâle, sauf pour D qui a des pétale rouges et blancs.

**Donc, sauf exception, un pH faible est associé à des pétales colorés en rouge, et un pH élevé à des pétales de couleur rose pâle, voire blancs.**

**Q7b.** Les produits des différents allèles du gène *an1* correspondent probablement à des protéines AN1 plus ou moins actives. Il pourrait s'agir d'une **protéine intervenant dans le contrôle du pH** cellulaire ou tissulaire, ou encore d'une **enzyme intervenant dans la voie de biosynthèse des pigments**.

**Q8.** Les mutations présentées touchent un domaine bHLH de fixation à l'ADN : la protéine AN1 pourrait donc être un **facteur de transcription**.

La protéine est tronquée au niveau de ce domaine pour le mutant *W211* (mutation par addition dans le gène causant l'apparition d'un codon stop). Cette protéine (plus courte) n'est donc pas détectée sur le *western blot*, au niveau auquel migre la protéine AN1 des plantes sauvages (*wt*) dans le 2<sup>ème</sup> puits du panneau 1. Pour les trois autres lignées mutantes, la protéine AN1 est détectée en moins grande quantité que chez les sauvages (peut être qu'une partie des protéines mutantes est détruite).

Le *northern blot* permet d'étudier le niveau d'expression du gène *dfr* codant une enzyme de biosynthèse des anthocyanes. L'ARNm transcrit du gène *gapdh* est un **témoin de charge**.

Le gène *dfr* est fortement transcrit chez le sauvage contrairement à *W211* chez qui il n'est pas transcrit du tout. En l'absence d'enzyme DFR, les anthocyanes ne sont pas synthétisés et les pétales du mutant sont blancs. L'absence d'expression de *dfr* chez *W211* suggère que **ce gène est normalement activé par le facteur de transcription AN1, ici absent**.

On note une expression croissante de *dfr* de *W211R3* à *W211R1*. On peut faire l'hypothèse que les variations d'expression de *dfr* chez ces mutants soient dues à une **fixation plus ou moins importante du facteur AN1 à l'ADN**, fonction des modifications de la séquence du domaine bHLH causant une perte de fonction de la protéine AN1. On peut aussi remarquer que les phénotypes des trois mutants *W211R3* (Q), *W211R2* (R) et *W211R1* (S) (pétales de couleur plus en plus foncée et proche de celle du phénotype sauvage) sont corrélés au niveau d'expression du gène *dfr* (croissant de Q, à R puis S).

**Q9.** On compare le phénotype macroscopique de fleurs de pétunia provenant de plants sauvages et mutants (perte de fonction pour la protéine PH5). Alors que les concentrations en anthocyanes sont

identiques, leurs couleurs respectives et les pH mesurés dans un broyat de pétales différent (fleurs roses à pH = 5,6 chez les sauvages et fleurs PH5 violettes à pH = 6,1 chez les mutants).

On en déduit que la **protéine PH5 a un effet sur le pH** des cellules de pétales, ce qui est cohérent avec le fait que ce soit probablement une ATPase à protons et que **la coloration des pétales dépend du pH**.

**Q10.** La protéine PH5-GFP semble avoir une localisation proche de celle de la protéine AHA2 spécifiquement localisée dans la membrane plasmique. Cependant elle entoure étroitement les anthocyanes (en rouge sur l'image de la 3<sup>e</sup> ligne) et borde intérieurement le noyau (en bleu sur la 2<sup>e</sup> ligne) : PH5 est donc localisée dans la **membrane de la vacuole**, ou tonoplaste.

**Q11.** Le même courant moyen est observé chez le témoin wt et avec PH1 (entre 550 et 600 u.a. ; pas de différence significative compte tenu des barres d'erreur). Son intensité est multipliée par environ 1,4 avec PH5, et doublée avec PH1 et PH5. Les protéines PH1 et PH5 agissent donc en **synergie**.

PH5 seule produit un **flux ionique** (sans doute de H<sup>+</sup>) à travers le tonoplaste ; ce flux est augmenté en présence de PH1, mais cette dernière seule n'a pas d'effets sur le courant mesuré.

PH1 et PH5 pourraient être les **deux sous-unités d'un complexe protéique**, PH5 assurant le transport ionique, et PH1 un rôle régulateur. Leur fonctionnement synergique assurerait ainsi une **accumulation de protons dans la vacuole, ce qui en diminuerait le pH**.

**Q12a.** L'ajout de CHX (inhibiteur de la traduction) deux heures après celui de DEX permet de bloquer la synthèse protéique après avoir permis la fixation d'AN1-GR sur ses gènes cibles.

– Si AN1 contrôle directement la transcription du gène PH1 (ou PH5), on s'attend alors à observer un niveau d'expression élevé de ce gène même en présence de CHX.

– Si AN1 contrôle indirectement l'expression du gènes PH1 (ou PH5), on s'attend alors à mesurer une expression nulle du gène en présence de CHX, car le(s) facteur(s) de transcription relai(s) ne peuvent pas être synthétisés.

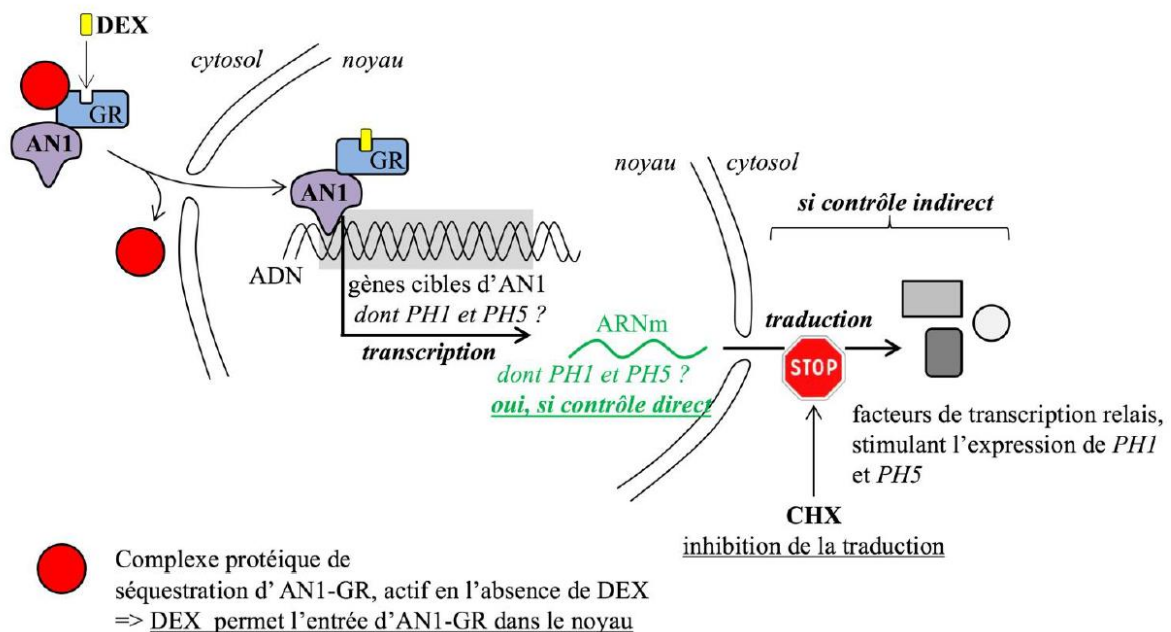


Schéma rapport du jury. Résultats attendus de l'expérience dans l'hypothèse d'un contrôle direct ou indirect de la protéine AN1 sur l'expression des gènes PH1 et PH5

**Q12b.** Les résultats expérimentaux montrent qu'en l'absence de transgène *35S:an1-GR* ou avec CHX mais sans ajout de DEX (témoins négatifs), il n'y a aucune expression de PH1 ni de PH5 : **la protéine AN1 active bien l'expression de ces deux gènes**.

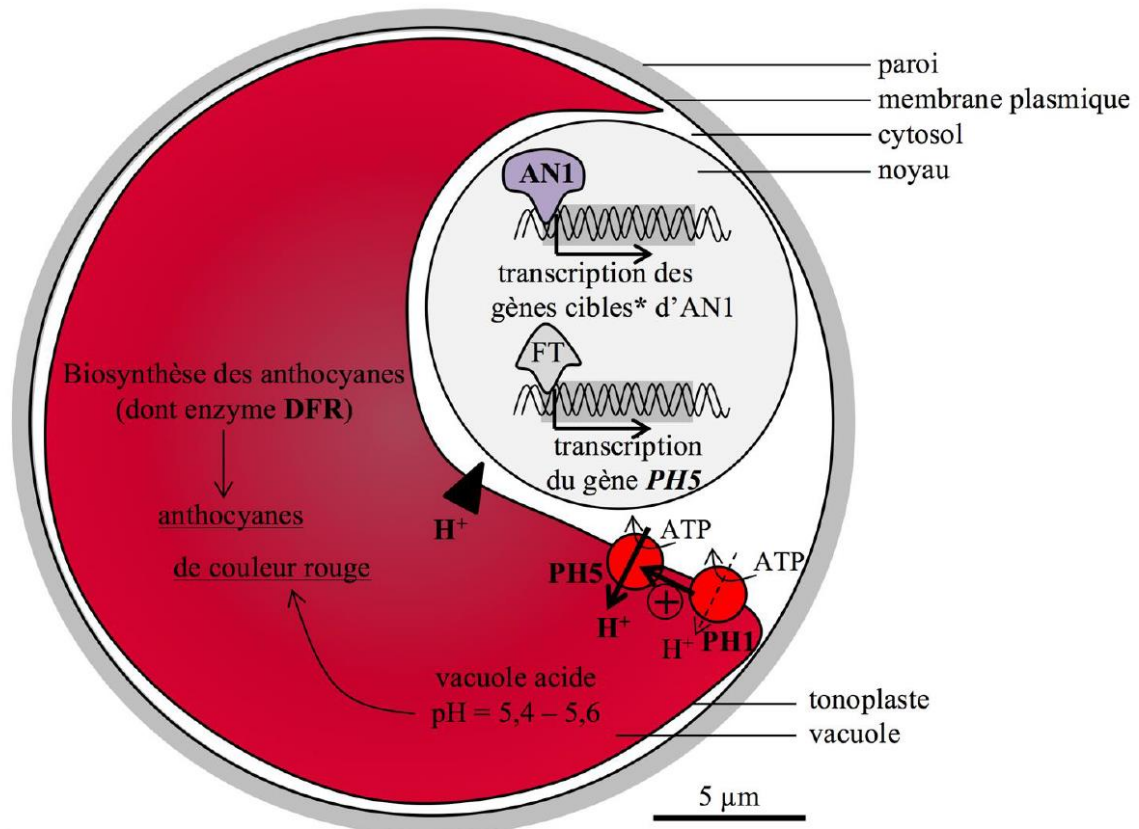
L'ajout de DEX dans le milieu d'incubation des boutons floraux transgéniques, restaure la transcription de PH1 et de PH5, mais avec des conséquences différentes lorsqu'on inhibe la traduction. Pour PH1, les taux d'expression moyens sont proches avec et sans CHX (les barres d'erreur, qui représentent

probablement la dispersion des résultats des trois répétitions de l'expérience réalisées, se recouper).  
Donc l'expression de *PH1* est activée directement par *AN1*.

Le taux d'expression moyen de *PH5* est divisé par plus de sept fois sous CHX, mais l'inhibition de la traduction n'annule pas totalement son expression. On peut en déduire que l'expression de *PH5* est soumis à un **double contrôle activateur par *AN1*, direct et indirect.**

**Q13.**

Rôles du gène anthocyanin1 dans le contrôle de la pigmentation des pétales du pétunia  
(schéma du jury)



\* dont ceux codant l'enzyme **DFR**, le transporteur **PH1** (et dans une moindre mesure **PH5**), ainsi que des facteurs de transcription relais (**FT**)