

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2022

SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Durée de l'épreuve : **3 heures**

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.
L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collègue » est autorisé.*

Dès que ce document vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce document comporte 12 pages numérotées de 1/12 à 12/12

Le candidat traite les questions selon les consignes en page 2.

Choix laissés aux candidats Session 2022

L'évaluation porte sur les six compétences indiquées dans la définition d'épreuve.
Les questions du sujet mobilisent ces compétences et permettent de les évaluer.
Pour certaines compétences repérées par des astérisques, un choix de questions à traiter est proposé au candidat.

Compétence *C1 :

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par un astérisque **Q1***, **Q2***, **Q3*** et **Q4***.

Compétence C2 :

La question **Q9** est obligatoire.

Compétence **C3 :

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par deux astérisques **Q5****, **Q7****, **Q13**** et **Q15****.

Compétence ***C4 :

Le candidat choisit quatre questions parmi les cinq questions identifiées par trois astérisques **Q6*****, **Q8*****, **Q10*****, **Q12***** et **Q14*****.

Compétence C5 :

Les questions **Q11** et **Q16** sont obligatoires.

Les astérisques identifient les compétences pour lesquelles un choix est proposé au candidat dans le tableau ci-dessous et chaque question concernée dans le sujet.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
*C1	C2	**C3	***C4	C5	C6
Analyser un document scientifique ou technologique	Effectuer des calculs nécessaires pour exploiter les documents	Interpréter des données de biochimie, de biologie ou de biotechnologie	Argumenter pour étayer un raisonnement scientifique	Rédiger ou élaborer une synthèse en mobilisant les concepts scientifiques et technologiques	Communiquer à l'écrit à l'aide d'une syntaxe claire et d'un vocabulaire scientifique ou technologique adapté
3 points	1 points	5 points	5 points	5 points	1 point

UTILISATION DE LA TOXINE DE *BACILLUS THURINGIENSIS* DANS L'AGRICULTURE

Les insecticides chimiques d'origine synthétique, destinés à lutter contre les insectes ravageurs des plantes cultivées, peuvent présenter une toxicité vis-à-vis d'êtres vivants non nuisibles comme les abeilles. Une alternative possible est l'utilisation d'un insecticide biologique d'origine naturelle à spectre d'action étroit : la toxine Bt, produite par la bactérie *Bacillus thuringiensis*.

Il existe deux stratégies utilisant la toxine Bt pour lutter contre des insectes ravageurs comme la pyrale du maïs :

- la première est exploitable en agriculture biologique. Elle s'appuie sur la pulvérisation sur les cultures ou dans la terre d'un produit phytosanitaire biologique contenant des bactéries *Bacillus thuringiensis* productrices de toxine Bt ;
- la seconde est possible en agriculture conventionnelle, non labellisée « agriculture biologique », dans de nombreux pays. Elle consiste en la culture de plants végétaux transgéniques exprimant la toxine Bt.

Partie I – Questionnement scientifique et technologique – (durée indicative 2 h 30)

Différents procédés technologiques sont mobilisés pour développer l'une ou l'autre des stratégies d'utilisation de la toxine Bt à des fins de production de pesticide d'origine biologique :

- sélectionner et cultiver à grande échelle des bactéries *Bacillus thuringiensis* productrices de toxine Bt ;
- produire des plantes exprimant la toxine Bt.

1. SÉLECTION ET PRODUCTION DE *BACILLUS THURINGIENSIS* À GRANDE ÉCHELLE

Bacillus thuringiensis est un bacille sporogène à Gram positif qui produit la toxine Bt principalement lors de la phase de sporulation. En raison de la structure de sa paroi, la spore ne fixe pas les colorants de la coloration Gram.

La production de *Bacillus thuringiensis* à grande échelle en bioréacteur en vue de sa commercialisation nécessite d'isoler préalablement une souche productrice à partir d'échantillon de terre. Le **document 1** présente le cycle de vie des bactéries sporogènes.

Q1*. **C1** Analyser le **document 1** pour identifier sur la copie les étapes 1 et 2 du cycle de vie des bactéries sporogènes.

Le **document 2** présente la procédure opératoire utilisée pour isoler *Bacillus thuringiensis* d'un échantillon de terre et les résultats obtenus après culture.

Q2*. **C1** Montrer que l'étape de chauffage de la suspension de terre à 80 °C pendant 15 min permet de sélectionner les formes sporulées des bactéries.

Q3*. **C1** Analyser les observations macroscopiques obtenues après 24 h d'incubation à 37 °C dans le milieu A pour étudier la pureté de l'échantillon de terre.

Q4*. **C1** Comparer les résultats obtenus dans les milieux A et B pour déduire le rôle de la L-sérine dans ce contexte.

Une souche de *Bacillus thuringiensis* isolée sur le milieu B est cultivée en bioréacteur. Le **document 3** présente l'allure de la courbe de croissance obtenue.

Deux prélèvements numérotés 1 et 2 sont effectués pour observation microscopique. Les résultats sont présentés dans le **document 4**.

Q5**. **C3** Identifier le prélèvement contenant la forme sporulée de *Bacillus thuringiensis* et proposer une hypothèse expliquant l'apparition des spores en lien avec la phase de croissance correspondante.

Q6***. **C4** Argumenter le choix de la phase de croissance au cours de laquelle la toxine Bt peut être récupérée.

2. MISE EN ÉVIDENCE DE LA PRODUCTION DE LA TOXINE Bt PAR LA MÉTHODE ELISA

La toxine Bt est extraite des bactéries obtenues dans les prélèvements 1 et 2. Le dosage de la toxine Bt se fait par une réaction antigène-anticorps selon la méthode ELISA. Le protocole de cette méthode est décrit dans le **document 5**.

Q7**. **C3** Réaliser un schéma de l'édifice moléculaire obtenu en présence de toxine Bt après ajout du substrat et incubation, en utilisant les symboles du **document 5**.

Q8***. **C4** Expliquer le rôle de l'ajout d'une solution d'acide sulfurique.

Les résultats expérimentaux du test ELISA sont présentés dans le **document 6**.

Q9. **C2** Déterminer l'équation aux valeurs numériques permettant de calculer les concentrations exprimées en $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de toxine Bt dans les prélèvements 1 et 2, et effectuer le calcul.

Q10***. **C4** Montrer que les résultats obtenus confirment que la production de toxine Bt se fait en même temps que la sporulation de *Bacillus thuringiensis*.

Q11. **C5** Présenter, sous forme d'un organigramme, les principales étapes de production de la toxine Bt à partir d'un échantillon de terre.

3. UNE ALTERNATIVE À LA CULTURE DU *BACILLUS THURINGIENSIS* : DES PLANTES PRODUCTRICES DE LA TOXINE Bt INSECTICIDE

L'efficacité du traitement phytosanitaire après pulvérisation dans les champs dépend des conditions environnementales. En effet, la pluie et les rayonnements ultra-violets neutralisent les effets du traitement. Plusieurs pulvérisations sont donc nécessaires sur chacune des cultures.

Pour pallier ce problème, d'autres entreprises agroalimentaires utilisent une stratégie faisant appel au génie génétique. Cette stratégie consiste en l'intégration du gène *Bt* dans le génome de certaines plantes, notamment du maïs, qui deviennent alors capables de produire la toxine Bt. Le gène *Bt* est porté sur un plasmide qu'on retrouve de façon naturelle dans la bactérie *Bacillus thuringiensis*.

Le **document 7** présente les différentes étapes de la production du maïs génétiquement modifié.

Q12*. C4** Argumenter le choix de l'enzyme de restriction EcoRI lors des étapes 2 et 3 dans le but d'obtenir le vecteur recombiné.

Q13.** **C3** Schématiser et légender le vecteur recombiné sur la copie.

Q14*. C4** Expliquer le rôle de l'ampicilline et de l'herbicide dans les milieux de culture.

L'analyse génétique de plusieurs colonies bactériennes obtenues à l'étape 6 révèle que certaines contiennent le vecteur de clonage « vide », c'est-à-dire sans le gène *Bt*.

Q15.** **C3** Formuler une hypothèse expliquant la possibilité de produire un vecteur de clonage « vide ».

Partie II – Question de synthèse – (durée indicative 30 min)

Le Conseil Scientifique du Patrimoine Naturel et de la Biodiversité (CSPNB) a expérimenté la pulvérisation directe de *Bacillus thuringiensis israelensis* entre 2007 et 2011 pour lutter contre les moustiques dans le Parc régional de Camargue.

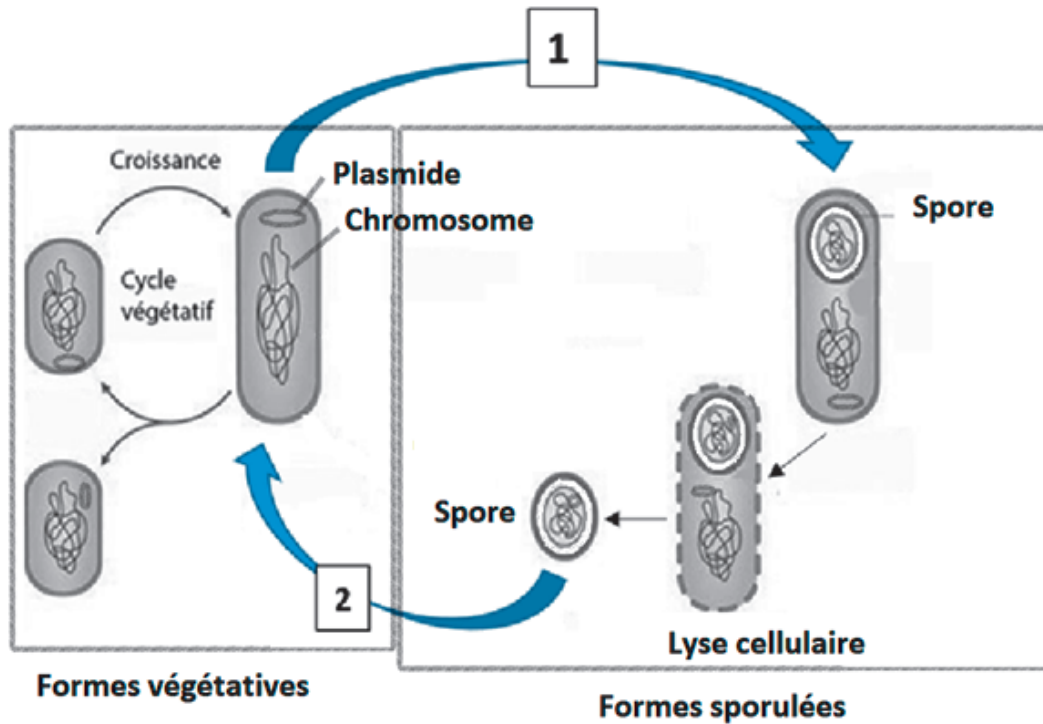
Le **document 8** présente le mode d'action direct du biopesticide *Bacillus thuringiensis israelensis* ainsi que les conclusions des études menées par le CSPNB.

L'avis du 23 novembre 2012 du CSPNB préconise de stopper l'utilisation du biopesticide.

Q16. C5 Développer un argumentaire expliquant à la fois la pertinence de l'expérimentation menée et l'avis négatif rendu par le CSPNB.

DOCUMENT 1 : Cycle de vie des bactéries sporogènes

La sporulation des bactéries se produit lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, par exemple lorsque les éléments nutritifs sont épuisés. Inversement, la germination des spores est spontanée lorsque les conditions environnementales deviennent favorables.



DOCUMENT 2 : Procédure pour isoler *Bacillus thuringiensis* à partir d'un échantillon de terre

Source : d'après Andrzejczak et coll., *Polish Journal of Microbiology*, 2008, Vol 57, N° 4, P 333-335

a - Procédure opératoire

- peser 1,0 g de terre séchée ;
- introduire la terre dans 9,0 mL d'eau physiologique stérile ;
- homogénéiser ;
- chauffer la suspension à 80 °C pendant 15 min ;
- étaler 0,10 mL de cette suspension à la surface de 2 milieux différents, A et B.

Les milieux sont incubés 24 h à 37 °C.

Remarque : Les formes végétatives de *Bacillus thuringiensis* sont détruites au-delà d'une température supérieure à 60 °C. En revanche, les formes sporulées et certaines autres bactéries du sol résistent à des températures supérieures à 80 °C.

b - Composition des milieux A et B

Milieu A Composition pour 1 L		Milieu B Composition pour 1 L	
Na ₂ HPO ₄ , 7 H ₂ O	6 g	Na ₂ HPO ₄ , 7 H ₂ O	6 g
KH ₂ PO ₄	3 g	KH ₂ PO ₄	3 g
NaCl	0,5 g	NaCl	0,5 g
NH ₄ Cl	0,5 g	NH ₄ Cl	0,5 g
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	24 mg	MgSO ₄ , 7 H ₂ O	24 mg
CaCl ₂	0,1 mg	CaCl ₂	0,1 mg
Glucose	10 g	Glucose	10 g
		L-sérine	0,2 mmol
Agar	15 g	Agar	15 g

c - Observations macroscopiques obtenues après 24 h d'incubation à 37 °C

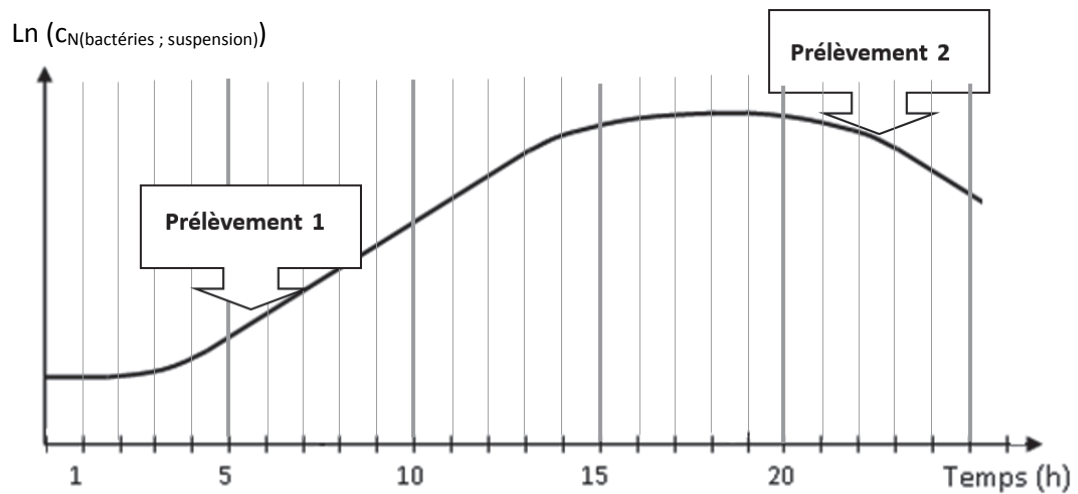
Milieu A : présence de plusieurs types différents de colonies présentant les caractéristiques suivantes :

- 4 mm, plate, crémeuse, surface rugueuse, bords irréguliers, caractéristique de *Bacillus thuringiensis* ;
- 5 mm, de type R, terne, sèche à bords irréguliers.


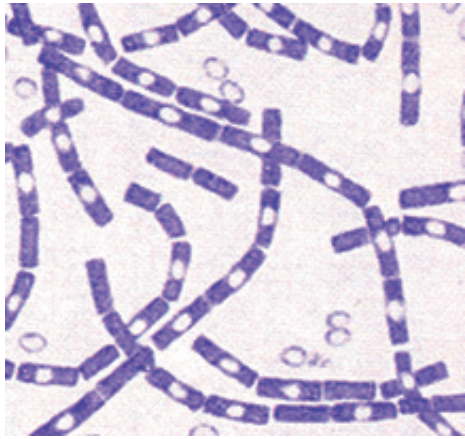
Milieu B : un seul type de colonies aux caractéristiques suivantes :

- 4 mm, plate, crémeuse, surface rugueuse, bords irréguliers, caractéristique de *Bacillus thuringiensis*.

DOCUMENT 3 : Allure de la courbe de croissance de *Bacillus thuringiensis* cultivé en bioréacteur



DOCUMENT 4 : Observations microscopiques des prélèvements 1 et 2

Prélèvement 1 après coloration Gram (observation au microscope optique, grossissement total x 1000)	Prélèvement 2 après coloration Gram (observation au microscope optique, grossissement total x 1000)
	


DOCUMENT 5 : Procédure de la méthode ELISA pour doser la toxine Bt

La technique immuno-enzymatique ELISA permet de doser des molécules présentes au sein d'échantillons biologiques complexes. Les prélèvements de culture seront préalablement centrifugés, la détection de la toxine Bt se fera dans le surnageant de centrifugation.


a - Réactifs utilisés




Cupule sensibilisée avec un anticorps anti-toxine Bt

 Anticorps anti-toxine Bt conjugué à la peroxydase

 Toxine Bt

 Substrat de la peroxydase incolore

 Produit coloré

b - Procédure opératoire

Échantillons	<ul style="list-style-type: none">- solution de toxine Bt (étalon de travail)- surnageant du prélèvement 1 dilué au 1/100- surnageant du prélèvement 2 dilué au 1/100
Protocole	<ul style="list-style-type: none">- introduire 100 μL d'échantillon ;- incuber 1 heure à 37 °C ;- vider les puits ;- laver les puits avec du tampon de lavage ;- introduire 100 μL d'une solution d'anticorps conjugué à la peroxydase dans chaque puits ;- incuber 30 minutes à 37 °C ;- vider les puits ;- laver les puits avec du tampon de lavage ;- introduire 100 μL d'une solution de substrat de la peroxydase dans chaque puits ;- incuber 30 minutes exactement à température ambiante à l'obscurité ;- ajouter une solution d'acide sulfurique à 1 mol·L⁻¹ (solution d'arrêt) dans chaque puits ;
Lecture	<ul style="list-style-type: none">- mesurer l'absorbance à 450 nm contre un blanc réactif réalisé avec le milieu de culture.

DOCUMENT 6 : Résultats expérimentaux du test ELISA

	Blanc réactif	Étalon	Surnageant du prélèvement 1 dilué au 1/10	Surnageant du prélèvement 2 dilué au 1/100
Absorbance à 450 nm	0,000	0,510	0,001	0,420

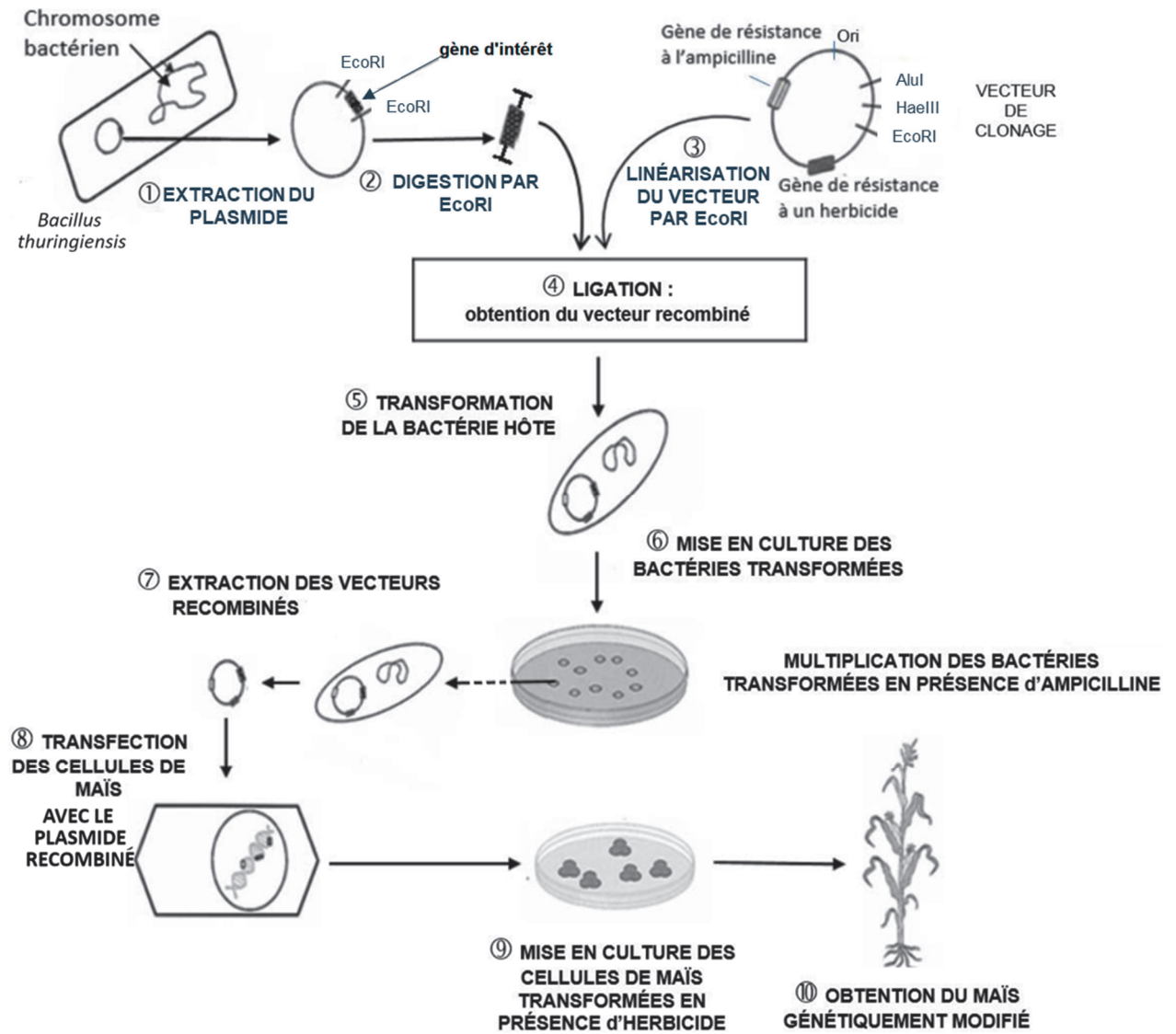
Données :

- $C_{\text{(toxine Bt ; étalon de travail)}} = 2,50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- La méthode est linéaire pour les valeurs d'absorbance $A_{450\text{nm}}$ comprises entre 0,000 et 1,200. Pour cette intervalle, l'absorbance mesurée à 450 nm est proportionnelle à la concentration en toxine Bt.
- Équation aux grandeurs pour déterminer la concentration en quantité de matière de la toxine Bt dans les prélèvements :

$$C_{\text{(toxine Bt ; prélèvement)}} = \frac{A_{450 \text{ nm ; prélèvement}}}{A_{450 \text{ nm ; étalon}}} \times C_{\text{(toxine Bt ; étalon de travail)}} \times Fd$$

Avec Fd : facteur de dilution

DOCUMENT 7 : Schéma d'une démarche de production de maïs transgénique résistant aux larves d'insectes



DOCUMENT 8 : Expérimentation de l'épandage direct de *Bacillus thuringiensis israelensis*

Mode d'action de *Bacillus thuringiensis israelensis*

Source du document : Baute, T. (ed), 2004. Guide du producteur : La lutte contre les ravageurs du maïs avec la technologie du maïs Bt. Deuxième édition. La coalition canadienne contre les ravageurs du maïs. Ridgetown, ON, 24 pp.

Au cours de la sporulation, la bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* produit des protoxines Bt sous forme de cristaux protéiques. Une fois ingérées par une larve d'insecte, les protoxines Bt sont hydrolysées par les protéases digestives, libérant les toxines Bt actives aux propriétés insecticides. L'activation des toxines s'effectue grâce au pH alcalin du système digestif des larves d'insectes. Les protéines Bt se lient alors à des récepteurs spécifiques sur les cellules de l'épithélium intestinal des larves. Ainsi, en quelques heures, la larve cesse de s'alimenter et la paroi de son estomac se perforé entraînant sa mort en 48 heures. Chez l'Homme, la protoxine Bt est inactivée par le pH acide de l'estomac.

Avis du Conseil Scientifique du Patrimoine Naturel et de la Biodiversité sur l'emploi du *Bacillus thuringiensis israelensis* dans la lutte « de confort » contre les moustiques dans le Parc naturel régional de Camargue (Extraits du rapport).

Source du document : DREAL Provence-Alpes Côte d'Azur, paca.developpement-durable.gouv.fr

Contexte

Au 1er septembre 2006, le Conseil général des Bouches-du-Rhône a commandité une campagne de démoustication expérimentale dans le Parc naturel régional de Camargue. Cette campagne a eu recours à la pulvérisation directe de la bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* pour tuer les larves d'insectes piqueurs comme les moustiques.

Études sur la biologie et l'écologie des espèces de la chaîne alimentaire

Des études scientifiques ont été menées entre 2007 et 2011 pour suivre diverses populations animales de la chaîne alimentaire en zone traitée et non traitée.

Ces études montrent que la bactérie *Bacillus thuringiensis israelensis* tue les larves de moustiques, mais aussi celles d'autres espèces qui sont consommées par une grande diversité d'espèces aquatiques et terrestres. Les espèces prédatrices telles que les libellules, les araignées et les oiseaux sont négativement affectées par l'emploi du biopesticide, notamment en raison du manque ou d'une modification de nourriture.

L'importance scientifique de conserver une Camargue exempte de traitements

Les connaissances actuelles en matière de biodiversité permettent d'avancer que la Camargue peut être :

1. Une barrière naturelle face à l'établissement de moustiques potentiellement transmetteurs de maladies émergentes.
2. Une réserve de moustiques non résistants aux méthodes de lutte biologique et chimique
Il est nécessaire de conserver des populations naturelles de moustiques non résistants aux traitements chimiques et biologiques afin d'éviter une évolution rapide des résistances au sein des populations. Jusqu'en 2006, ce refuge non démoustiqué était représenté par la Camargue. L'utilisation du *Bacillus thuringiensis israelensis*, auquel les moustiques peuvent parfaitement s'adapter et développer des résistances a commencé à « détruire » ce refuge vital.