

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2021

SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Mardi 8 juin 2021

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 20 pages numérotées de 1/20 à 20/20 :

- sujet 1 : page 3/20 à 10/20
- sujet 2 : page 11/20 à 20/20

Le candidat traite au choix un sujet parmi les deux sujets proposés.

Le candidat traite l'intégralité du sujet choisi et reporte le numéro du sujet choisi sur sa copie.

Parties du programme mobilisées dans chacun des sujets
--

L'évaluation s'effectue par compétences. La pondération des compétences est identique pour les deux sujets. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

Afin de faciliter le choix du sujet à traiter par le candidat, les parties essentielles mobilisées dans chacun des sujets sont indiquées ci-dessous.

SUJET 1 p 3/20 à 10/20

L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE

Biotechnologies (1ere) déterminer la concentration d'une biomolécule dans un produit biologique (dosage d'une biomolécule par spectrophotométrie)
 S1.1 Les principes généraux du métabolisme et rôle de l'adénosine triphosphate (ATP)
 T6 Détecter et caractériser les biomolécules (ELISA)
 T9.2 Amplification d'un fragment d'ADN par une technique de PCR
 L1.2.4 Évaluation des résultats expérimentaux

OU

SUJET 2 p 11/20 à 20/20

MISE EN PLACE D'UN SYSTÈME D'AQUACULTURE DURABLE

S1.1 Les principes généraux du métabolisme et rôle de l'adénosine triphosphate (ATP)
 S1.6 Cycle du carbone et de l'azote, microorganisme et environnement
 T4.1 Réaliser un dénombrement par numération directe au microscope
 T8.1 dosage d'un substrat par une méthode enzymatique en point final
 L1.2.4 Évaluation des résultats expérimentaux

COMPÉTENCES ÉVALUÉES

C1	C2	C3	C4	C5	C6
Analyser un document	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix	Élaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit
3 points	3 points	3 points	5 points	5 points	1 point

SUJET1

L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE

L'hémochromatose est une maladie génétique caractérisée notamment par une absorption intestinale excessive de fer, qui se traduit par une augmentation de la concentration sérique du fer et de la ferritine. Cette maladie est due à une mutation sur le gène *hfe* : la mutation G845A est retrouvée chez plus de 80 % des sujets atteints d'hémochromatose héréditaire. Sans traitement, la maladie évolue et risque de provoquer des atteintes graves, telles qu'une cirrhose, un diabète ou une cardiomyopathie, susceptibles d'entraîner un décès prématuré. Elle se développe préférentiellement chez les hommes à l'âge adulte. Certains individus, surtout des femmes, sont homozygotes pour la mutation mais ne développent pas de symptômes.

Un homme consulte son médecin généraliste pour les symptômes suivants : perte de poids, arthropathie et douleurs abdominales. En raison d'antécédents familiaux, le médecin suspecte un dérèglement du métabolisme du fer dont la cause pourrait être l'hémochromatose héréditaire.

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

L'objectif de cette étude est d'établir un lien entre les perturbations physiologiques, identifiées grâce aux différentes analyses effectuées, et la mutation.

Pour cela, plusieurs analyses sont réalisées :

1. un dosage spectrophotométrique du fer sérique ;
2. un dosage immunologique de la ferritine sérique ;
3. un test génétique diagnostique : la recherche de la mutation G845A du gène *hfe*.

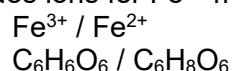
1. DOSAGE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU FER SÉRIQUE

Le **document 1** présente un extrait de la documentation technique fournie avec le coffret de dosage du fer sérique.

Q1. (C1) Établir les trois équations de réaction intervenant dans le dosage dans l'ordre chronologique à partir du principe exposé dans le **document 1**. Repérer, dans ces équations, le réducteur et le chromogène.

Q2. (C3) Expliquer pourquoi la mesure de l'absorbance du produit coloré permet de déterminer la concentration en fer recherchée.

La réduction des ions fer Fe^{3+} met en jeu des couples oxydant / réducteur suivants :



Q3. (C3) Présenter les deux équations de demi-réaction redox correspondantes puis établir l'équation bilan de la réduction des ions Fe^{3+} par l'acide ascorbique $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$.

Le **document 2** présente les résultats expérimentaux du dosage du fer dans le sérum du patient.

Q4. (C2) Calculer la concentration en quantité de matière en fer dans le sérum du patient, exprimée en $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

La concentration en masse du fer dans le sérum a été calculée, elle est de $4,53 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Q5. (C2) Retrouver la valeur de la concentration en masse du fer dans le sérum en effectuant le calcul à partir de l'équation aux valeurs numériques.

Q6. (C3) Exploiter le résultat de ce dosage.

2. DOSAGE IMMUNOLOGIQUE DE LA FERRITINE SÉRIQUE PAR TECHNIQUE IMMUNOENZYMATIQUE À DÉTECTION EN FLUORESCENCE

La ferritine est une protéine permettant de stocker le fer dans certains organes comme la rate, le foie et la moelle osseuse. Elle permet ainsi une mise en réserve du fer dans l'organisme. La ferritinémie (concentration en ferritine dans le sang) augmente en cas de surcharge en fer et représente ainsi une mesure complémentaire dans le diagnostic de la maladie. Pour le patient, le dosage de la ferritine sérique révèle une concentration en ferritine quatre fois supérieure à la concentration maximale de référence.

Le laboratoire utilise la technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) entièrement automatisée pour procéder au dosage de la ferritine sérique du patient.

Le **document 3** présente un extrait de la fiche technique.

Q7. (C3) Montrer, en identifiant l'antigène, que la liaison de l'antigène sur l'anticorps se produit dans le cône à l'issue de l'aspiration du contenu du puits n°1.

Q8. (C3) Expliquer le rôle des trois lavages successifs réalisés après l'ajout de l'anticorps anti-ferritine marqué avec l'enzyme phosphatase alcaline.

Q9. (C3) Schématiser sur la copie l'édifice moléculaire fixé à la surface du cône de prélèvement après l'étape du puits 8.

Q10. (C4) Expliquer le rôle du témoin négatif et proposer la composition du puits 1 pour réaliser ce témoin négatif.

Q11. (C4) Expliquer pourquoi le signal de fluorescence mesuré est d'autant plus élevé que la concentration en ferritine du sérum est élevée.

3. RECHERCHE DE LA MUTATION G845A DU GÈNE *HFE*

Le diagnostic définitif de l'hémochromatose chez le patient repose sur la réalisation d'un test génétique.

Le gène *hfe* code une protéine intervenant dans la régulation de l'absorption intestinale du fer. Une mutation du gène *hfe*, notée G845A, est retrouvée chez 80 % des sujets atteints d'hémochromatose.

La mutation G845A est située en position 845 du gène *hfe*. Elle correspond à la substitution d'une guanine (gène non muté) par une adénine (gène muté). Cela entraîne la substitution dans la protéine HFE d'un acide aminé cystéine (protéine non mutée) par un acide aminé tyrosine (protéine mutée) en position 282. Cette substitution est notée C282Y (C pour cystéine et Y pour tyrosine).

La mutation ponctuelle est recherchée par séquençage d'un fragment du gène *hfe* contenant le nucléotide 845. Avant l'étape de séquençage, ce fragment doit être amplifié par PCR dont le principe est exposé dans le **document 4**.

Q12. (C1) Préciser le rôle de chacune des trois étapes de la PCR.

Le résultat du séquençage montre que le patient est homozygote pour la mutation G845A.

Le **document 5** présente la séquence de la protéine HFE humaine non mutée.

Dans l'organisme, la protéine HFE est localisée dans la membrane des entérocytes. Le rôle de la protéine HFE est de limiter l'absorption intestinale du fer.

Q13. (C5) Montrer que la mutation C282Y présente dans la protéine HFE pourrait expliquer un changement de structure tridimensionnelle de cette protéine. Faire le lien avec le dosage du fer sérique constaté chez les patients atteints d'hémochromatose.

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

L'hémochromatose est une maladie génétique héréditaire, dont les symptômes se révèlent surtout à l'âge adulte. Dans de nombreux cas, elle est diagnostiquée trop tardivement pour prévenir efficacement des complications invalidantes.

Le **document 6** est un extrait de la brochure « Les tests génétiques à des fins médicales ».

Tout test de laboratoire réalisé en vue d'obtenir des informations sur certains aspects du statut génétique d'une personne est un test génétique ; il peut être diagnostique ou prédictif.

Q14. (C5) Exposer les raisons pouvant conduire à la réalisation d'un test génétique prédictif. Discuter des intérêts potentiels et des précautions à prendre.

DOCUMENT 1 — Sujet 1 : dosage du fer par le test Ferentest®

Principe

En milieu acide (pH 5,5) et en présence de guanidine (G), le fer sérique (sous forme Fe^{3+}) est libéré des protéines auxquelles il est combiné (P). Le fer ferrique (Fe^{3+}) est alors réduit par l'acide ascorbique en fer ferreux (Fe^{2+}). Ce dernier forme un composé coloré avec le Ferène-S (F). Ce composé coloré est dosé par spectrophotométrie à 593 nm.

Procédure opératoire

	Blanc réactif	Étalon	Dosage
Eau déminéralisée	200 μL	-	-
Étalon de fer	-	200 μL	-
Échantillon	-	-	200 μL
Réactif 1 (réducteur)	1 mL	1 mL	1 mL
Mélanger et attendre 5 minutes à 20-25 °C ou 37 °C			
Mesurer l'absorbance A1 à 593 nm contre le blanc réactif			
Réactif 2 (chromogène)	20 μL	20 μL	20 μL
Mélanger et attendre 10 minutes à 20-25 °C ou 5 minutes à 37 °C			
Mesurer l'absorbance A2 à 593 nm contre le blanc réactif			

Équation aux grandeurs

$$c_{(\text{Fer} ; \text{échantillon})} = \frac{(A2-A1)_{\text{échantillon}}}{(A2-A1)_{\text{étalon}}} \times c_{(\text{Fer} ; \text{étalon})}$$

Masse molaire du fer

$$M_{\text{fer}} = 55,8 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Concentration de la solution étalon en fer

$$c_{(\text{Fer} ; \text{étalon})} = 35,8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Valeurs de référence

	$\rho_{(\text{fer} ; \text{sérum ou plasma})} \text{ (mg} \cdot \text{L}^{-1})$
Hommes	0,31 – 1,67
Femmes	0,50 – 1,56

DOCUMENT 2 — Sujet 1 : tableau de résultats du dosage du fer

	Absorbance mesurée à 593 nm	
	A1	A2
Étalon de fer	A1	0,003
	A2	0,205
Échantillon de sérum du patient	A1	0,068
	A2	0,526

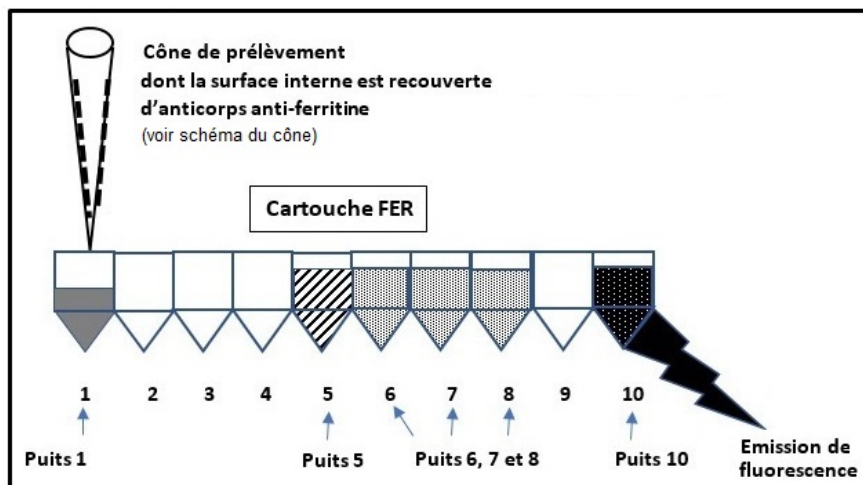
DOCUMENT 3 — Sujet 1 : extrait de la fiche technique VIDAS® pour le dosage de la ferritine par ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay)

Principe

Le principe de ce dosage associe la méthode immunoenzymatique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) à une étape de détection finale en fluorescence (ELFA).

Un cône à usage unique, monté sur un système d'aspiration et de refoulement, sert de phase solide pour la réaction immunologique. Les autres réactifs sont prêts à l'emploi et répartis préalablement dans des puits organisés en cartouche (appelé cartouche « FER ») pour l'automate.

La technique repose, pour chaque puits, sur une succession de cycles d'aspiration/refoulement des solutions contenues dans les puits de la cartouche « FER ». Lors de l'étape finale de révélation, la solution de substrat présente dans le puits 10 est aspirée dans le cône. L'enzyme phosphatase alcaline, fixée à l'anticorps anti-ferritine, catalyse la réaction d'hydrolyse du substrat générant un produit fluorescent. Dans un second temps, le produit de cette réaction est refoulé dans le puits 10. La fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

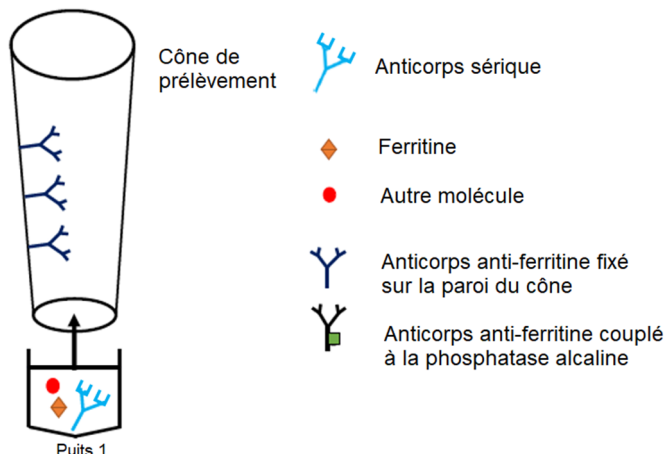


Puits 1 : contient le sérum
Puits 5 : contient une solution d'anticorps anti-ferritine marqué avec l'enzyme
Puits 6,7,8 : contiennent du tampon de lavage
Puits 10 : contient la solution de substrat de l'enzyme. Il sert aussi à récupérer le milieu réactionnel après réaction : le refoulement entraîne un arrêt de la réaction enzymatique.

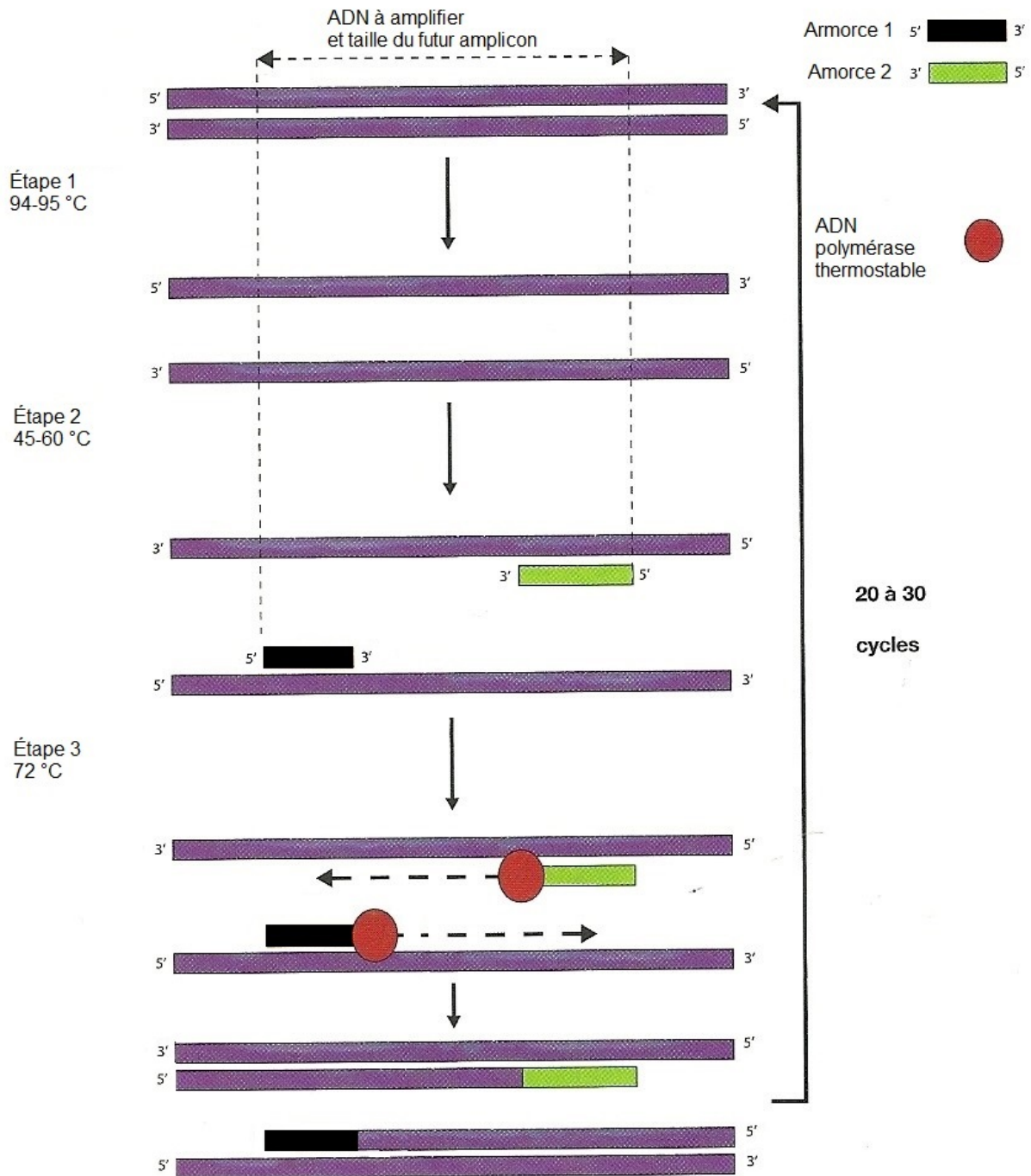
Les puits 2,3,4 et 9 sont vides et ne sont pas utilisés dans la procédure

Source adaptée : <http://www.jle.com>

Schéma du cône utilisé pour le dosage de la ferritine par technique ELFA



DOCUMENT 4 — Sujet 1 : les étapes de la technique de PCR (Réaction de polymérisation en chaîne)



Source : Biotechnologies Terminale, Casteilla

DOCUMENT 5 — Sujet 1 : séquence de la protéine HFE non mutée

10	20	30	40	50
MGPRARPALL	LLMLLQTAVL	QGRLLRSHSL	HYLFMGASEQ	DLGLSLFEAL
60	70	80	90	100
GYVDDQLFVF	YDHESRRVEP	RTPWVSSRIS	SQMWLQLSQS	LKGWDHMFV
110	120	130	140	150
DFWTIMENHN	HSKESHTLQV	ILGCEMQEDN	STEGYWKYGY	DGQDHLEFCP
160	170	180	190	200
DTLDWRAAEP	RAWPTKLEWE	RHKIRARQNR	AYLERDCPAQ	LQQLLELGRG
210	220	230	240	250
VLDQQVPPLV	KVTHHVTSSV	TTLRCRALNY	YPQNITMKWL	KDKQPMDAKE
260	270	280	290	300
FEPKDVLPNG	DGTYQGWTIL	AVPPGEEQRY	TCQVEHPGLD	QPLIVIWEP
310	320	330	340	
PSGTLVIGVI	SGIAVFVVIL	FIGILFIILR	KRQGSRGAMG	HYVLAERE

Positions des ponts disulfures

Cystéines C124-C187
Cystéines C225-C282

Chaque acide aminé de la séquence protéique est identifié par une lettre.

Les numéros et le découpage en blocs de 10 acides aminés aident à repérer la position des acides aminés dans la séquence.

DOCUMENT 6 — Sujet 1 : extraits de la brochure « Les tests génétiques à des fins médicales »- Conseil de l'Europe



Votre décision de faire un test génétique

Cette décision peut être difficile à prendre. C'est un choix personnel, dans le sens où chacun est libre de demander ou non un test génétique, mais aussi de connaître ou non les résultats du test. Il est donc important que vous ayez reçu des informations parfaitement claires et complètes, et que vous ayez pu poser toutes les questions que vous souhaitiez pour qu'il ne subsiste aucune zone d'ombre avant de prendre votre décision.

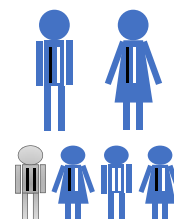
Un test génétique, pour chercher quoi ?

Il existe trois grands types de maladies résultant d'une mutation héréditaire, dont les maladies monogéniques.

Les maladies monogéniques résultent de l'altération d'un seul gène. La nature de la maladie dépend des fonctions assurées par le gène altéré. Tous les êtres humains possèdent deux allèles de chaque gène. Un allèle provient du père ; l'autre, de la mère. Ils sont situés sur chaque chromosome d'une même paire.

Certaines maladies monogéniques sont dues à l'altération d'un seul allèle. (...).

D'autres maladies monogéniques ne se manifestent que lorsque les deux allèles d'un gène sont altérés. C'est le cas de la mucoviscidose, maladie chronique qui affecte les poumons et le tube digestif. Quand un seul allèle est modifié, l'individu concerné n'est pas malade, mais porteur de la mutation. On dit qu'il est porteur (sain). Les porteurs ne présentent en général aucun symptôme, mais si deux porteurs ont un enfant ensemble, celui-ci a 25 % de risque d'hériter de deux exemplaires mutés du gène, et donc de développer la maladie. L'étude de l'arbre généalogique peut révéler alors l'existence d'un membre de la famille atteint.



Les différents types de tests génétiques

- **Les tests génétiques diagnostiques**
- **Les tests génétiques prédictifs :**

les tests génétiques prédictifs sont effectués sur des individus qui ne présentent aucun symptôme. Ils ont pour but de découvrir des altérations génétiques qui indiqueraient un risque de développer ultérieurement la maladie. Cette probabilité peut être extrêmement variable d'un test à l'autre. Dans de rares cas, le test génétique indiquera une haute probabilité de développement d'une maladie à un stade ultérieur de la vie. Dans la plupart des cas, le test n'apportera qu'une indication d'un risque d'apparition d'une maladie au cours de la vie, mais ne constituera pas un indicateur précis car, outre les facteurs génétiques, des facteurs environnementaux jouent aussi un rôle important. De tels tests prédictifs sont appelés tests de susceptibilité.

Les résultats d'un test génétique doivent être considérés comme des données à caractère personnel sensibles concernant votre « intimité biologique ». Ils sont donc confidentiels. Par ailleurs, il est vivement conseillé de se faire accompagner (conseil génétique) pour s'assurer de la compréhension correcte de la portée et des implications des résultats.

SUJET 2

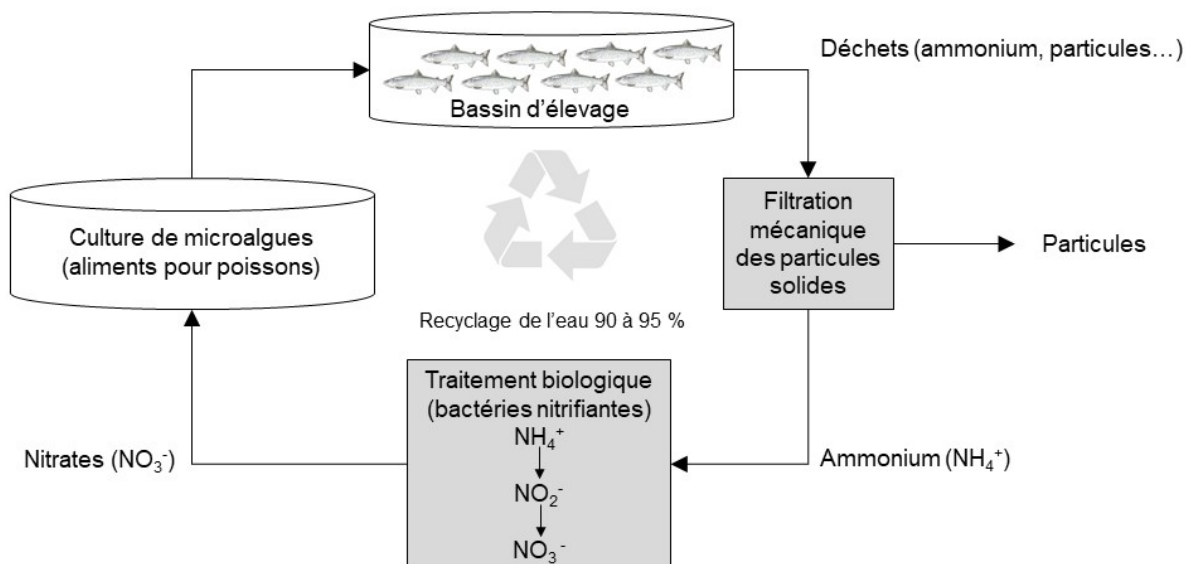
MISE EN PLACE D'UN SYSTÈME D'AQUACULTURE DURABLE

« Aquaculture multitrophique intégrée »

La pisciculture (élevage de poissons) intensive a un impact environnemental important lié entre autres à l'utilisation de farines animales comme base alimentaire des poissons d'élevage. En effet, l'utilisation en pisciculture de farines riches en protéines accentue la pollution nitratée. L'utilisation de microalgues comme aliments piscicoles représente donc une alternative écoresponsable à l'utilisation de farines de poisson.

Ainsi, un système d'aquaculture combinant pisciculture, système de filtration, traitement biologique et culture de microalgues permet :

- le recyclage de 90 à 95 % de l'eau ;
- une épuration naturelle de l'eau de pisciculture ;
- un gain économique par production directe d'un aliment pour poissons à base de microalgues.



Bactéries nitrifiantes intervenant dans le traitement biologique



(d'après: « Pisciculture en circuit recirculé » (France Agrimer) ; mai 2019)

Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)

L'objectif de ce sujet est d'expliciter la place des bactéries nitrifiantes dans un système d'aquaculture, de valider la microalgue *Chlorella* comme aliment piscicole et de contrôler l'équilibre du système d'aquaculture durable par le dosage de la teneur en ions nitrate dans l'eau du bassin piscicole.

1. NITRATATION CHEZ *NITROSPIRA*

La flore bactérienne associée au système d'aquaculture joue un rôle essentiel de biofiltration en dégradant les déchets organiques issus de l'élevage des poissons. En effet, les bactéries nitrifiantes transforment l'ammonium, issu des déchets produits par les poissons, en ions nitrate assimilables par les microalgues.

Afin de préciser le rôle joué par *Nitrospira*, bactérie appartenant à la flore bactérienne d'un système d'aquaculture durable, des études thermodynamiques ont été menées. Des travaux de recherche ont permis d'identifier les mécanismes de transformation des ions nitrite, puisés dans le milieu aquatique, en ions nitrate. Cette transformation, présentée dans le **document 1**, est réalisée par *Nitrospira*. Elle est associée à la production d'ATP, métabolite hautement énergétique.

Q1. (C1) Écrire l'équation de réduction pour chaque couple redox ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) et ($\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$) en identifiant l'oxydant et le réducteur de chaque couple.

Q2. (C1) Au niveau de la chaîne respiratoire de *Nitrospira*, identifier le donneur d'électrons et l'accepteur final d'électrons. En déduire l'équation-bilan de la réaction de nitratation.

Q3. (C2) D'après la loi de Nernst, calculer l'enthalpie libre standard $\Delta_r G^\circ$ de la réaction spontanée mise en jeu au cours de la nitratation par *Nitrospira*.

Q4. (C4) Montrer alors que la réaction de synthèse d'ATP est rendue possible par un couplage énergétique avec la réaction d'oxydoréduction impliquant les couples ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) et ($\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$).

Le **document 2** présente les différents types trophiques des organismes vivants.

Q5. (C3). Confirmer que la bactérie *Nitrospira* est de type trophique chimiolithotrophe.

2. ÉTUDE DE LA MICROALGUE *CHLORELLA*

La culture de microalgues, associée à la pisciculture, présente plusieurs atouts. Elle contribue à l'épuration des eaux d'élevage de poissons par l'élimination des nitrates, toxiques à forte concentration, et permet l'apport d'aliments de bonne qualité nutritionnelle pour les poissons.

Le choix de la microalgue *Chlorella* doit être validé par l'étude :

- de sa capacité à épurer l'eau de pisciculture ;
- de sa croissance en eau de pisciculture ;
- de sa qualité nutritionnelle pour les poissons.

2.1. Culture de *Chlorella* en eau de pisciculture

Le **document 3** présente la composition du milieu de culture « Bristol » et les conditions d'incubation d'une culture de *Chlorella*.

Q6. (C4) Sachant que les *Chlorella* cultivent sur le milieu de « Bristol », montrer que ces microalgues peuvent éliminer le nitrate dans l'eau de pisciculture tout en se multipliant.

Les microalgues *Chlorella* peuvent être produites à faible coût en bassins ouverts. Afin de limiter le développement des algues naturellement présentes dans l'eau d'élevage des poissons et favoriser la prolifération des *Chlorella*, une concentration minimale en *Chlorella* de $4 \cdot 10^4$ cellules par mL doit être respectée dans le bassin de culture.

Une culture de *Chlorella* est réalisée au laboratoire à partir d'une suspension commerciale pour étudier leur croissance. Dans un premier temps, le contrôle de la concentration en nombre de *Chlorella* de la suspension commerciale est réalisé par numération directe en cellule de Malassez.

Le **document 4** présente le principe de la numération en cellule de Malassez et les résultats obtenus. L'étiquette de la suspension commerciale de *Chlorella* indique la concentration en nombre de microalgues estimée par le fournisseur :

« C_N (*Chlorella* ; suspension commerciale) = $4,0 \cdot 10^7 \pm 0,4 \cdot 10^7$ microalgues $\cdot$ mL⁻¹ ».

Q7. (C2) À l'aide des résultats expérimentaux obtenus, vérifier que la valeur numérique de la concentration en nombre de microalgues de la suspension commerciale est conforme à la valeur annoncée par le fournisseur. Établir les équations aux unités, aux valeurs numériques puis effectuer le calcul.

Q8. (C2) Calculer le volume de suspension commerciale à introduire dans 1 L d'eau de pisciculture pour obtenir une concentration en *Chlorella* de $4 \cdot 10^4$ cellules $\cdot$ mL⁻¹.

2.2. Les microalgues *Chlorella*, un aliment piscicole

La mise en œuvre de la culture de *Chlorella* en bassin ouvert, directement alimenté par l'eau pompée à partir du bassin d'élevage de poissons, permet de produire une quantité de biomasse en chlorelles de 650 g par jour.

Le **document 5** présente les besoins nutritionnels des poissons selon le volume du bassin piscicole et la composition nutritionnelle des *Chlorella*.

Q9. (C2 ; C4) Démontrer par le calcul que la biomasse de *Chlorella* produite par jour est adaptée aux besoins alimentaires des poissons pour un bassin piscicole de 3 000 L maximum.

3. CONTRÔLE QUALITÉ DE L'EAU DU SYSTÈME D'AQUACULTURE

Des tests ont démontré que la croissance des microalgues et la survie des poissons sont satisfaisantes pour une concentration en nitrate comprise entre 40 et 120 mg·L⁻¹.

Ainsi, le dosage des ions nitrate dans l'eau du système d'aquaculture est effectué de façon quotidienne à l'aide d'un coffret enzymatique. En fonction des résultats obtenus, des ajustements sont opérés.

Le **document 6** présente un extrait adapté de la fiche technique du coffret de dosage des ions nitrate et les résultats expérimentaux obtenus.

Q10. (C1) À l'aide de la fiche technique fournie, relever les informations qui caractérisent un dosage enzymatique en point final.

Q11. (C2) Déterminer la concentration en masse en ions nitrates dans l'échantillon d'eau, exprimée en mg·L⁻¹, et conclure quant à la qualité de l'eau du système d'aquaculture mis en œuvre.

Q12. (C5) Représenter le cycle de l'élément « azote » pour le système d'aquaculture en précisant le nom des organismes impliqués.

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

Dans le modèle de l'aquaculture multitrophique intégré étudié en partie I, le cycle de l'azote est contrôlé dans le but d'équilibrer, à chaque étape du cycle, les formes chimiques de l'azote produites et consommées.

Dans les modèles à plus grande échelle impliquant des pratiques agricoles ou d'élevage, la maîtrise de l'équilibre du cycle de l'azote est plus complexe. Le **document 7** présente des extraits d'articles mentionnant des causes et des conséquences de déséquilibre du cycle de l'azote. Il propose également quelques préconisations pour lutter contre la formation des marées vertes, un exemple de dérèglement environnemental dû au déséquilibre du cycle de l'azote.

Q13. (C5) Expliquer en quoi le rejet d'azote sous différentes formes, dans l'environnement, contribue à la formation de marées vertes et proposer, en appui sur le cycle de l'azote, des arguments scientifiques en faveur des préconisations 2 et 4 permettant de lutter contre la formation des marées vertes.

DOCUMENT 1 — Sujet 2 : énergie produite lors de l'oxydation des nitrites en nitrates par *Nitrospira*

L'oxydation des nitrites en nitrates par *Nitrospira* a lieu au niveau de la membrane cytoplasmique.

Le système réactionnel mis en jeu implique de nombreux complexes enzymatiques dont la nitrite oxydoréductase nitratante, NOR, et des cytochromes.

Deux couples redox permettent le fonctionnement de ce système :

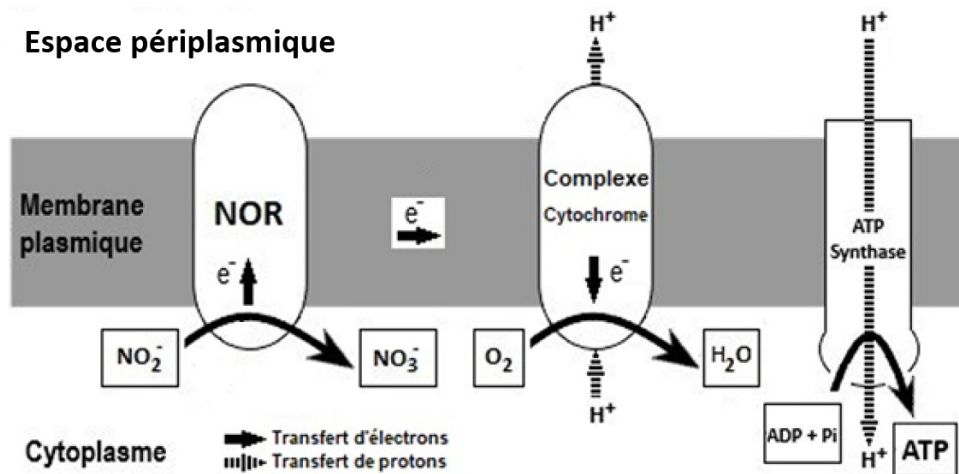
couple 1 dont le réducteur est le donneur initial d'électrons



couple 2 dont l'oxydant est l'accepteur final d'électrons



La succession des étapes est résumée dans le schéma ci-dessous.



(Source : [https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(18\)30024-6](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(18)30024-6))

Données :

- Loi de Nernst :

$$\Delta_r G'^{\circ} = - n \times F \times \Delta E'^{\circ}$$

$\Delta_r G'^{\circ}$: enthalpie libre standard de la réaction d'oxydation des nitrites en nitrates à pH = 7 et à 310 K ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$)

F : Constante de Faraday = $96500 \text{ J} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$

n : nombre d'électrons échangés (dans l'exercice proposé $n = 2$)

$\Delta E'^{\circ} = E_2'^{\circ} - E_1'^{\circ}$: différence de potentiel standard apparent (V)

- L'enthalpie libre standard de synthèse d'ATP : $\Delta_r G_{\text{ATP}}'^{\circ} = + 30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$

DOCUMENT 2 — Sujet 2 : les différents types trophiques des organismes vivants

Source d'énergie	Rayonnement lumineux	Phototrophe
	Oxydation de composés organiques ou minéraux	Chimiotrophe
Source d'électrons	Minérale	Lithotrophe
	Organique	Organotrophe
Source de carbone	Composés minéraux	Autotrophe
	Composés organiques	Hétérotrophe

DOCUMENT 3 — Sujet 2 : milieu de culture « Bristol »

Le milieu de culture « Bristol » est adapté à la croissance des microalgues d'eau douce telles que les *Chlorella*.

Composition du milieu

Pour 1 L de milieu :

	Volume versé
NaNO ₃	10 mL à 25 g·L ⁻¹
CaCl ₂ , 2H ₂ O	10 mL à 2,5 g·L ⁻¹
MgSO ₄ , 7H ₂ O	10 mL à 7,5 g·L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	10 mL à 7,5 g·L ⁻¹
NaCl	10 mL à 2,5 g·L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	10 mL à 17,5 g·L ⁻¹
KOH	10 mL à 6,2 g·L ⁻¹
EDTA	10 mL à 10 g·L ⁻¹
H ₂ SO ₄	1 mL à 0,05 mol·L ⁻¹
FeSO ₄ , 7H ₂ O	1 mL à 50 mg·L ⁻¹
Solution d'oligoéléments	1 mL
Eau déminéralisée	Qsp 1000 mL

Solution d'oligoéléments	
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	0,882 g
MnCl ₂ , 4H ₂ O	0,144 g
MoO ₃	0,071 g
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0,157 g
Co(NO ₃) ₂ , 6H ₂ O	0,049 g
Eau déminéralisée	Qsp 100 mL

Conditions d'incubation

Cultiver à 20 – 25 °C sous agitation ou aération faible dans une enceinte végétale possédant un éclairage mimant l'alternance jour – nuit.

DOCUMENT 4 — Sujet 2 : dénombrement par numération en cellule de Malassez

Le dénombrement par numération directe en cellule de Malassez permet d'estimer la concentration en nombre des microalgues dans l'échantillon.

La concentration des microalgues est calculée à l'aide de l'équation aux grandeurs suivante :

$$C_{N(\text{microalgues;suspension})} = \frac{\sum n_{(\text{microalgues;unité de comptage})}}{a \times V_{(\text{unité de comptage})}} \times Fd$$

- $C_{N(\text{microalgues;suspension})}$: Concentration en microalgues ($\text{microalgues} \cdot \text{mL}^{-1}$)
- $\sum n_{(\text{microalgues;unité de comptage})}$: Somme du nombre de microalgues comptées
- a : Nombre d'unités de comptage de la cellule de Malassez dénombrées
- $V_{(\text{unité de comptage})}$: Volume d'une unité de comptage (mL)
- Fd : Facteur de dilution éventuel de la suspension

→ La valeur retenue est arrondie à 2 chiffres significatifs, nombre compris entre 1,0 et 9,9, multiplié par la puissance de 10 appropriée.

Résultats expérimentaux obtenus :

Échantillon analysé	Nombre d'unités de comptage de la cellule de Malassez dénombrées	Nombre total de microalgues comptées
Suspension diluée au 1/10	10	380

Donnée : Le volume d'une unité de comptage est de 0,01 μL .

DOCUMENT 5 — Sujet 2 : les microalgues *Chlorella*, un aliment piscicole

Besoins nutritionnels journaliers d'un bassin de culture de poissons

Le besoin journalier en aliments pour la culture de poissons dépend de l'espèce élevée, de sa maturité et de la quantité de poissons qui doit être adaptée à la surface du bassin de pisciculture.

Le tableau suivant indique les besoins alimentaires en fonction du volume du bassin de pisciculture :

	Bassin 1	Bassin 2	Bassin 3	Bassin 4	Bassin 5
Volume du bassin piscicole (L)	1 000	2 000	3 000	4 000	5 000
Masse de poissons à maturité (kg)	14	28	42	56	70
Besoin journalier en masse totale de nourriture (g)	140	280	420	560	700
Besoin journalier en masse de lipides (g)	21	42	63	84	105
Besoin journalier en masse d'acides gras (g)	2,1	4,2	6,3	8,4	10,5

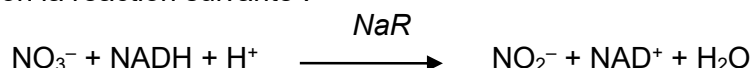
Composition nutritionnelle des microalgues *Chlorella*

Masse pour 100 g de <i>Chlorella</i>	
Protides (dont 8 acides aminés essentiels)	60,8 g
Glucides	17,3 g
Lipides	10,5 g
dont acide gras	2,7 g
Sels minéraux et vitamines	traces

DOCUMENT 6 — Sujet 2 : dosage des ions nitrate par méthode enzymatique
(Source : NITRATES – 25 (version : 072013-8) Libios)

Principe

Ce coffret de détermination de ions nitrate est basé, dans un premier temps, sur la réduction, à l'aide du donneur d'électrons NADH, des ions nitrate en ions nitrite par l'enzyme Nitrate Réductase (NaR) selon la réaction suivante :



Dans un deuxième temps, lors d'une réaction totale indicatrice avec des réactifs chimiques de révélation, les nitrites réagissent pour former un produit coloré dont l'absorbance est mesurée à 540 nm.

Procédure opératoire

Étape 1	Ajouter : - les tampons ; - les échantillons ou la solution étalon ; - la solution de NADH,H⁺ ; - la solution d'enzyme. Incuber 20 min à température ambiante, durée nécessaire pour que la réaction enzymatique soit totale.
Étape 2	Ajouter : - les réactifs de révélation des nitrites. Incuber 10 min à température ambiante.
Étape 3	Relever l'absorbance à 540 nm des points de la gamme d'étalonnage et des échantillons contre un blanc réactif.

Résultats expérimentaux obtenus

Équation de la droite d'étalonnage :

$$A_{540\text{nm}} = 0,004 \times \rho_{(\text{ions nitrates};\text{solution étalon})} - 0,001$$

avec $\rho_{(\text{ions nitrates};\text{solution étalon})}$ exprimée en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Résultats :

	$A_{540\text{ nm}}$
Échantillon	0,383

DOCUMENT 7 — Sujet 2 : extraits d'articles concernant le déséquilibre du cycle de l'azote

Extrait d'un article du journal *National Geographic* sur le sujet des marées vertes

nationalgeographic.fr, 2019

La baie de Saint-Brieuc concentre à elle seule 70 % des zones d'échouage d'algues vertes du littoral breton, échouage qui dépend de plusieurs facteurs. Les algues, qui se nourrissent de nutriments présents dans les cours d'eau comme le nitrate issu de l'agriculture, prolifèrent et prospèrent sous forme de marées vertes grâce à des conditions météorologiques favorables, de fortes précipitations en juin favorisant la crue des cours d'eau et donc l'apport en nitrates, ainsi qu'un ensoleillement important.

Le manque de pluie en sortie d'hiver peut également être un phénomène météorologique aggravant. Si le temps est sec, les nitrates issus de l'agriculture ne se dispersent pas et se retrouvent stockés dans les sols qui ne sont pas « lavés », jusqu'à être lessivés en masse lors des pluies de printemps. Les concentrations sont telles que les algues prolifèrent intensément.

Extrait d'un article rédigé par l'association Greenpeace sur le sujet de la pollution azotée

<https://cdn.greenpeace.fr>, 2019

L'élevage intensif est apparu en Bretagne dès les années 1950 et s'est fortement développé dans les années 1970 et 1980, pendant que les taux de nitrates augmentaient dans les cours d'eau et que les marées vertes se déployaient sur les côtes. Les nombreuses petites fermes de polyculture-élevage à faible fertilisation azotée ont été transformées avec les engrais minéraux (déversement important NO_3^-), le développement d'ateliers hors sol de volailles et de porcs, l'augmentation des troupeaux de bovins (rejets importants d'azote sous forme NH_4^+) [...]. En 1970, la Bretagne produisait déjà 4 à 5 fois plus de volaille, 3 à 4 fois plus de porc, et 2 à 3 fois plus de viande de bœuf et de lait qu'en 1950 [...].

Préconisations pour lutter contre la formation des marées vertes

Mission interministérielle. Élaboration d'un plan de lutte contre les algues vertes 2010

1. Privilégier des fermes de petite taille associant des cultures et de l'élevage ;
2. Limiter la culture de légumineuses, plantes capables de fixer l'azote atmosphérique ;
3. Respecter un calendrier d'épandage de lisier dans les champs ;
4. Planter des végétaux entre les cultures et les cours d'eau ;
5. Protéger les sols par paillage avec des résidus de végétaux (reste de moisson par exemple).

