



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été numérisé par le Canopé de l'académie de Bordeaux
pour la Base nationale des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

**BREVET DE TECHNICIEN SUPERIEUR
BIOTECHNOLOGIES**

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire

SESSION 2014

DUREE DE L'ÉPREUVE : 2 h 00

COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

Dictionnaire anglais-français, calculatrice ; tout autre matériel est interdit.

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.

Ce sujet comporte 8 pages numérotées de 1/8 à 8/8 .

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2014
Biologie des procaryotes et des eucaryotes <i>U4.1 Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire</i>	BOE4MGF	Page : 1 / 8

***Synechocystis* sp. PCC 6803, cyanobactérie modèle pour les biotechnologies**

Synechocystis sp PCC6803, ci-après dénommée *Synechocystis*, est une cyanobactérie photosynthétique, incapable d'assimiler l'azote atmosphérique.

Actuellement très étudiée, cette cyanobactérie peut être utilisée en tant que :

- dépolluant des usines productrices de dioxyde de carbone afin de limiter la production de ce gaz à effet de serre ;
- source de biodiesel ou de bioéthanol ;
- source de plastique biodégradable, complément alimentaire.

Elle peut parfois être valorisée comme source d'hydrogène.

1. Biologie de *Synechocystis*. (7 points)

1.1. Morphologie

La morphologie de *Synechocystis* est présentée dans les **documents 1A et 1B**.

- 1.1.1. Déterminer le type de paroi de *Synechocystis* : monoderme (correspondant à une paroi de type Gram +) ou diderme (correspondant à une paroi de type Gram-). Justifier la réponse.
- 1.1.2. Nommer les principaux éléments structuraux et moléculaires permettant la photosynthèse et rappeler leur fonction cellulaire.

1.2. Métabolisme énergétique

Selon les conditions environnementales, cette bactérie peut avoir un métabolisme soit autotrophe, soit hétérotrophe, soit un métabolisme mixte appelé mixotrophe.

- 1.2.1. Proposer une définition de l'autotrophie.

Le **document 2** présente la photosynthèse et la chaîne respiratoire qui sont co-localisées et en interaction chez les cyanobactéries.

- 1.2.2. Lister dans l'ordre de leur intervention, les cinq différents éléments de la chaîne respiratoire de transport d'électrons (complexes et protéines). Préciser le donneur initial et l'accepteur final d'électrons.
- 1.2.3. Lister dans l'ordre de leur intervention, les cinq différents éléments de la chaîne photosynthétique (complexes et protéines). Préciser le donneur initial et l'accepteur final d'électrons.
- 1.2.4. En déduire les trois éléments communs de ces deux chaînes de transport d'électrons.

Ces chaînes de transport d'électrons permettent la création d'un gradient électro-chimique de protons.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2014
Biologie des procaryotes et des eucaryotes U4.1 Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	Page : 2 / 8

1.2.5. Expliquer la formation de ce gradient.

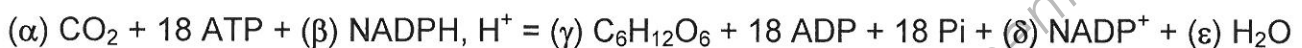
1.2.6. Argumenter l'intérêt métabolique de ce gradient.

La photolyse de l'eau conduit à l'apparition de dioxygène. Les cyanobactéries possèdent des mécanismes de protection contre les espèces réactives issues de l'oxygène (*Reactive Oxygen Species* : ROS).

1.2.7. Rappeler deux exemples d'espèces réactives issues de l'oxygène.

1.2.8. Proposer deux exemples d'enzymes impliquées dans la protection contre les ROS.

La réaction globale de fixation du dioxyde de carbone dans le cycle de Calvin-Benson est la suivante :



1.2.9. Déterminer les coefficients stœchiométrique α , β , γ , δ et ϵ .

1.2.10. En déduire le besoin en ATP et en pouvoir réducteur, pour la consommation d'une molécule de dioxyde de carbone.

2. Croissance de *Synechocystis*. (11 points)

Les cyanobactéries photosynthétiques jouent un rôle important dans les cycles de la matière. Elles peuvent survivre dans des conditions extrêmes, et bien qu'autotrophes, leur croissance est très souvent limitée dans l'environnement.

2.1. Les efflorescences algales nuisibles (*Harmful Algal Blooms*)

Dans certaines conditions, décrites dans le **document 3**, *Synechocystis* produit des structures particulières, appelées efflorescences algales.

2.1.1. Expliquer l'origine des efflorescences algales.

Les efflorescences algales ont trois effets néfastes sur l'environnement aquatique.

2.1.2. Dégager ces trois effets.

2.2. La culture de *Synechocystis* pour une production de biomasse.

Les cyanobactéries peuvent être cultivées soit en champs ouverts « *open ponds* », soit en photo-bioréacteurs (**document 4**).

2.2.1. Citer tous les paramètres de croissance qui limitent l'utilisation des « *open ponds* ».

2.2.2. Les « *open ponds* » sont tout de même rentables. Argumenter cette affirmation.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2014
Biologie des procaryotes et des eucaryotes U4.1 Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	Page : 3 / 8

Une culture continue régulée selon le principe du chémostat en photo-bioréacteur est utilisée afin d'étudier la croissance de *Synechocystis* en présence de différentes concentrations en azote.

Le milieu de culture utilisé pour la croissance de *Synechocystis* est le milieu « Oscillatoria 2 » dont la composition est donnée dans le **document 5**.

2.2.3. Préciser à quel type de milieu appartient l'« Oscillatoria 2 ».

2.2.4. Identifier les types trophiques et les exigences éventuelles de *Synechocystis*.

Le **document 6** présente le schéma d'un photo-bioréacteur régulé selon le principe d'un chémostat. Lors du fonctionnement d'un chémostat, la croissance atteint un état d'équilibre dynamique caractérisé par l'absence de la variation de la biomasse.

$$\frac{d[\text{biomasse}]}{dt} = 0 \text{ et } \mu_x = D.$$

μ_x désigne la vitesse spécifique de croissance (en h^{-1}),
 D désigne le taux de dilution (en h^{-1}),
[biomasse] désigne la concentration de la biomasse (en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),
 t désigne le temps (en heure).

2.2.5. Expliquer ce qu'exprime la vitesse spécifique de croissance (μ_x).

2.2.6. Écrire la relation entre le débit d'alimentation (F) du bioréacteur en $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, le volume du bioréacteur (V) et le taux de dilution (D).

2.3. Effet de l'azote sur la culture de *Synechocystis*.

2.3.1. Présenter le calcul de la concentration molaire en azote dans le milieu « Oscillatoria 2 ».

Données : $M_{\text{Na}} = 23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_{\text{N}} = 14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_{\text{O}} = 16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
 $M_{\text{C}} = 12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_{\text{H}} = 1 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_{\text{S}} = 32 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Dans l'expérience proposée par le **document 7**, le chémostat est à l'équilibre dynamique depuis plusieurs jours. L'apport en azote est rendu limitant à une concentration finale de $0,5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dans le bioréacteur.

2.3.2. Déterminer la valeur de μ_x à l'état stationnaire. Calculer le temps moyen de doublement de la biomasse qui correspond à cette valeur.

2.3.3. Calculer le réglage du débit de la pompe d'alimentation afin d'assurer un fonctionnement en mode chémostat d'un photobioréacteur de 2 litres.

À partir du temps zéro de l'expérience, on maintient l'équilibre dynamique pendant trois jours puis, au temps « 3 jours », la concentration de la source d'azote est modifiée pour obtenir une concentration finale en azote de 6 mmol.L^{-1} dans le bioréacteur. Cette concentration est maintenue pendant sept jours.

On observe alors une augmentation de la biomasse jusqu'au huitième jour, puis elle reste constante jusqu'au douzième jour (**document 7**).

2.3.4. Comparer les deux courbes du **document 7**. En déduire que la concentration en azote est limitante à $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$.

Des analyses associées ont permis de montrer que ce n'est pas l'azote qui est limitant lors de l'alimentation du chimostat à 6 mM , mais l'intensité de lumière reçue par chaque cellule de *Synechocystis*.

2.3.5. Expliquer pourquoi l'éclairement par cellule est devenu limitant avec une alimentation en azote à 6 mmol.L^{-1} par rapport à une alimentation en azote à $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$.

2.3.6. Proposer une expérience permettant d'étayer cette affirmation.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2014
Biologie des procaryotes et des eucaryotes U4.1 Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	Page : 5 / 8

Document 1 Morphologie de *Synechocystis* sp. PCC 6803

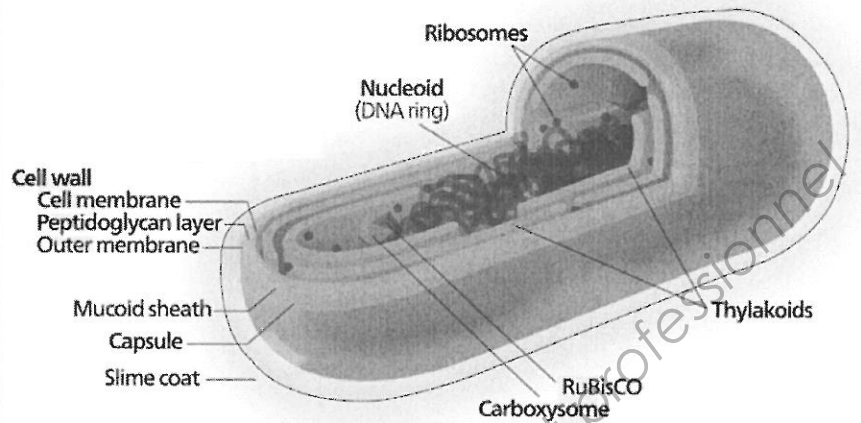
A : microscopie électronique à transmission



0,5 µm

Source du document : <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00709-010-0126-8/fulltext.html>

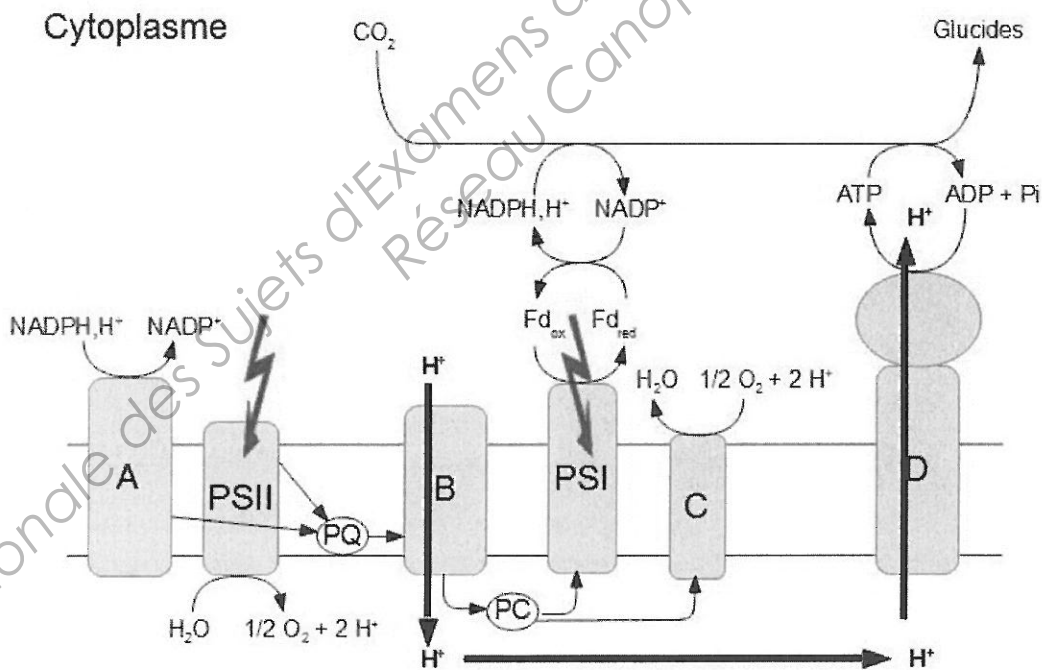
B : représentation schématique d'une cyanobactérie.



RuBisCO : ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase – oxygenase

Source du document : en.wikipedia

Document 2 Représentation schématique des interrelations entre la chaîne membranaire de transport d'électrons de la chaîne respiratoire et de la photosynthèse.



Lumière du thylacoïde

Légende : A) NADPH⁺ déshydrogénase ; B) complexe du cytochrome b6f ; C) cytochrome oxydase ; D) ATP synthase ; PSI) photosystème I ; PSII) photosystème II ; PQ) plastoquinone ; PC) plastocyanine ; Fd_{ox} et Fd_{red} : ferrédoxine sous la forme oxydée et réduite.

Les flèches pleines indiquent les réactions de transfert d'électrons, les flèches en gras indiquent les transferts de protons et les éclairs indiquent l'énergie lumineuse.

Document 3 Harmful Algal Blooms (HABs)

Algal blooms occur in natural waters used for drinking and/or recreation when certain types of microscopic algae grow quickly in water, often in response to changes in levels of chemicals such as nitrogen and phosphorus from fertilizer, in the water.

Algal blooms can deplete the oxygen and block the sunlight that other organisms need to live, and some can produce toxins that are harmful to the health of the environment, plants, animals, and people. Cyanobacteria are examples of algae that can bloom and produce such toxins.

Source : extrait du "Center for Disease Control and Prevention" :
<http://www.cdc.gov/nceh/hsb/hab/default.htm>

Document 4 Open ponds

The use of open ponds as a method for the cultivation of microalgae is quite common.

The location in which the pond is situated is a critical factor because the pond becomes a function of the local climate. Open ponds are limited by key growth parameters including light intensity, temperature, pH and dissolved oxygen concentration. Contamination by predators is another issue involved with open ponds. Contamination can limit the cultivation system to algal strains which can only grow under severe conditions.

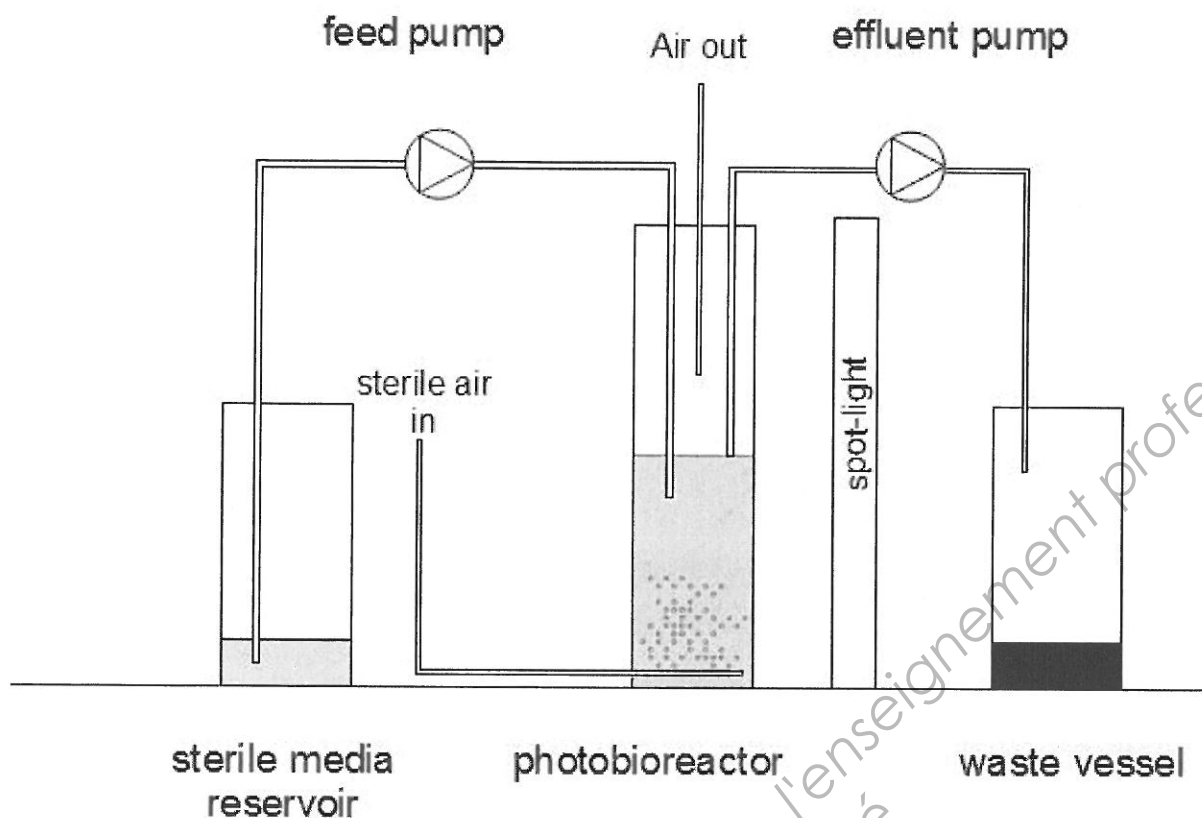
Nonetheless, the cost involved with cultivation ponds are significantly less than that of closed systems. The construction, operating and maintenance costs of cultivation ponds are lower than photobioreactor options, they are less technical in design and are more scalable.

Source : extraits de "Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products".
R. Harun et al. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14 (2010) 1037–1047

Document 5 Milieu « Oscillatoria 2 »

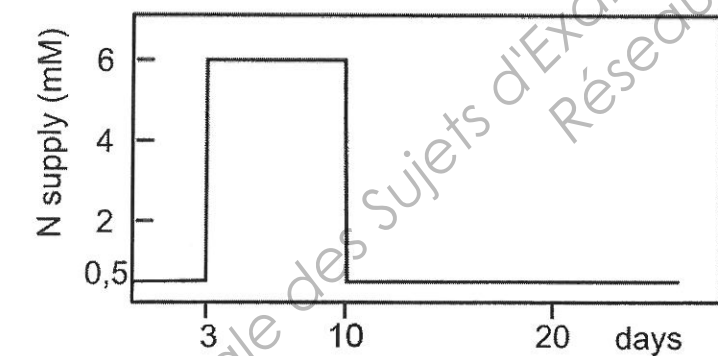
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	50 mg.L ⁻¹
NaNO ₃	500 mg.L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	25 mg.L ⁻¹
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	13 mg.L ⁻¹
NaHCO ₃	20 mg.L ⁻¹
FeCl ₂ , 4 H ₂ O	2,2 mg.L ⁻¹

Document 6 Chemostat photobioreactor



Level maintained by setting effluent pump to run faster than the feed pump.

Document 7 Chemostat culture of *Synechocystis* under nitrogen regulation.



Constant dilution rate (D) = 0.017 h^{-1}

mM = mmol.L^{-1}

