

Nom et Prénom (Nom en majuscule bien lisible) :

**Questions :**

**Mentionnez la réponse correspondante par vrai ou faux (en cas du faux, justifiez) (4 pts)**

- L'aromatogramme est une méthode de mesure in vivo du pouvoir antibactérien des huiles essentielles  
Vrai **Faux** *in vitro*
- Les saponines sont des composés d'aglycones non polaires liés à un poly phénol.  
Vrai **Faux** liés à un sucre
- Le test des stries croisées sur milieu gélosé utilise une souche test et plusieurs souches cibles.  
**Vrai** Faux
- Les huiles essentielles sont des substances odorantes, très peu volatiles et très concentrées.  
Vrai **Faux** très volatiles
- Les huiles essentielles sont liposolubles, entraînables à la vapeur mais très peu solubles dans l'eau.  
**Vrai** Faux
- La CMI correspond à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance apparente d'un microorganisme  
**Vrai** Faux
- La détermination de la CMI est une technique de screening des huiles essentielles  
Vrai **Faux** technique quantitative
- La technique de micro atmosphère met en évidence la sensibilité du microorganisme testé aux constituants fixes d'une substance  
Vrai **Faux** constituants volatils
- L'extraction des huiles essentielles par expression à froid et l'hydro distillation constituent les méthodes les plus utilisées  
Vrai **Faux** ce n'est pas le cas de l'expr.à froid
- Dans l'enfleurage, les graisses végétales se saturent en essences, les corps gras sont épuisés par l'alcool qui récupère les senteurs.  
Vrai **Faux** graisses animales
- Les terpènes sont des hydrocarbures volatiles ou non dont la molécule de base est un isoprène  
**Vrai** Faux
- Les flavonoïdes sont des poly phénols responsables des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge des différents organes végétaux.  
**Vrai** Faux
- Les phénols ont la capacité de précipiter les protéines et les alcaloïdes  
**Vrai** Faux
- Les tanins condensés sont résistants à l'hydrolyse enzymatique  
**Vrai** Faux
- L'acide cinnamique provient de l'oxydation de phénylalanine ammonia-lyase  
Vrai **Faux** désamination
- Les huiles essentielles ont un effet bactériostatique et/ou bactéricide  
**Vrai** Faux

**Nom et Prénom (Nom en majuscule bien lisible) :**

**- Vous avez isolé une souche d'actinomycète productrice de substances antibiotiques. Décrivez le (s) test (s) qui vous permettent de mettre en évidence l'activité antibiotique (3pts)**

**- Test des stries croisées :**

- ✓ La souche à tester est ensemencée en trait
- ✓ Incubation à la température optimale de croissance.
- ✓ Ensemencement des souches cibles en stries parallèles et perpendiculaires à la souche test
- ✓ Incubation à la T°C optimale de croissance des germes cibles
- ✓ Recherche et mesure des zones d'inhibition.

**- Test des cylindres d'agar :**

- ✓ Ensemencement par « spots » des souches tests (10 jrs/28°C)
- ✓ Découper des cylindres gélosés à l'endroit des colonies (6 mm de diamètre)
- ✓ Dépôt de ces cylindres (en les retournant) sur le milieu préalablement ensemencé par le germe cible (*E.coli*).
- ✓ Incubation à la T°C optimale de croissance du germe cible
- ✓ Mesure des zones d'inhibition
- ✓ En cas où il n'y a pas de zone d'inhibition : la souche test ne produit pas d'anti *E.coli*.
- ✓ Il est nécessaire de tester d'autres germes cibles.

**- Vous disposer d'un ensemble d'échantillons d'huiles essentielles extraites par hydro distillation. Décrivez une méthode qui vous permet d'étudier leur effet vis-à-vis d'*E. coli*. (2pts)**

- ✓ Une suspension bactérienne de densité connue est préparée puis diluée au 1/100.
- ✓ 2 ml d'inoculum sont déposées à la surface du milieu Muller Hinton (20 ml/ boîte de Pétri).
- ✓ L'excédent est éliminé par aspiration. A la surface de chaque boîte, quatre disques de papier filtre stériles sont déposés.
- ✓ Un disque imbibé de 15 µl d'HE et un second avec 15 µl d'HE supplémenté de 10% de DMSO (agent de dilution). Deux témoins sont réalisés : un témoin négatif avec 15 µl d'eau distillée stérile en présence de 10 % de DMSO et un disque d'antibiotique comme témoin positif.
- ✓ Les boîtes sont laissées 2 heures à température ambiante puis retournées
- ✓ Incubation à 37°C pendant 18 à 24 H.
- ✓ Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en mm.

**Nom et Prénom (Nom en majuscule bien lisible) :**

**- Le surnageant d'une culture d'une souche *Streptomyces* présente à la fois une activité sur *Staphylococcus* sp et *Aspergillus* sp. Que déduisez-vous ? (1pt)**

- ✓ Présence à la fois d'antibactériens et d'antifongiques dans le surnageant

**- Citez 3 rôles écologiques potentiels des poly phénols (3pts)**

- ✓ Favoriser la coopération avec les animaux
- ✓ Lutter contre la compétition avec d'autres plantes
- ✓ Lutter contre la prédation et les attaques des agents pathogènes

**- Deux hypothèses ont été émises sur le rôle écologique des tanins. Expliquez-les (2.5pts)**

**1/ Protection de la plante vis-à-vis des prédateurs herbivores et des pathogènes**

➤ **Diminution de la prise alimentaire chez les herbivores**

- Les tanins alimentaires + les mucoprotéines de la cavité orale des consommateurs = des complexes qui précipitent et sont responsables **de l'astringence** et de **la sensation de sécheresse** ressentie dans la bouche, considérée comme désagréable et répulsive pour les consommateurs.
- Le **rôle protecteur** des tanins : les feuilles plus coriaces, la formation des tanins condensés les rend moins vulnérables aux attaques des herbivores

➤ **Toxicité et réduction de la digestibilité**

- Les tanins hydrolysables, en injection intrapéritonéale, sont hépatotoxiques pour les rats
- L'hypothèse la plus souvent avancée pour expliquer la toxicité des tanins se réfère à leur capacité à se lier aux protéines, impliquant leur mauvaise digestibilité.

**2/ Défense vis-à-vis des attaques microbiennes et imputrescibilité des tissus**

- Les tanins condensés (structure régulière en hélice) ne peuvent être distribués dans le cytoplasme de la cellule mais doivent plutôt être complexés à des protéines de structure, à la cellulose ou à des substances pectiques. Ils peuvent se fixer en particulier sur la paroi végétale.

Les tanins condensés interviendraient dans deux fonctions importantes:

- La défense des parois et des organites cellulaires contre les attaques microbiennes
- Le retard à la décomposition des feuilles qui tombent des arbres, ce qui semble être une réponse adaptative qui permet un apport plus constant de substrat au sol.

**Nom et Prénom (Nom en majuscule bien lisible) :**

**- L'introduction d'un gène anti sens CHS (bloquant la synthèse des flavonoïdes) induit une double conséquence chez les étamines, ce qui conduit à la non germination du pollen. Discutez cette double conséquence. (1pts)**

- ❖ Blocage de la pigmentation jaune normale chez les anthères (blanche)
- ❖ Stérilité suite à l'arrêt du développement du gamétophyte mâle

**- Décrivez le test de la bio-autographie (Révélation microbiologique des antibiotiques): (1.5 pts)**

- ✓ Cette méthode permet de déterminer les taches actives , leur nombre et leur Rf (rapport frontal).
- ✓ La plaque CCM développée est incubée une nuit à 37°C (pour éliminer le solvant pouvant gêner la croissance du germe-cible).
- ✓ La plaque est placée sur un support en verre dans une boîte de polyéthylène (22x24 cm) avec (à la base de la boîte) une feuille de papier filtre imbibé d'eau stérile. Le dispositif est stérilisé pendant 1H sous UV à 254 nm.
- ✓  $10^7$  UFC /ml du germe cible sont inoculés dans 50 ml d'une gélose molle en surfusion.
- ✓ A l'aide d'une pipette stérile, le milieuensemencé est réparti sur la plaque sous forme de film fin et uniforme. Après solidification, la plaque est mise à 4°C/ 2H. Enfin, la plaque est incubée à 28°C / 24-48 H.
- ✓ Mesure des zones d'inhibition et les Rf.

**- L'acide caféique présente un effet stimulateur sur la croissance cellulaire en protégeant l'auxine (AIA) par 2 moyens. Lesquels ? (2pts)**

- ❖ Potentiel oxydoréduction élevé = susceptibles de s'oxyder avant la disparition de l'AIA (= protecteurs)
- ❖ Inhiber l'activité de l'AIA oxydase en interagissant avec la protéine enzymatique