

Copyright (c) Vladimir DARIC

Permission is granted to copy, distribute and/or modify this document under the terms of the GNU Free Documentation License, Version 1.2 or any later version published by the Free Software Foundation; with no Invariant Sections, no Front-Cover Texts, and no Back-Cover Texts. A copy of the license is included in the section entitled "GNU Free Documentation License".

pHmètrie

La pompe H⁺, système majeur d'énergisation des transports chez les végétaux: mise en évidence

Introduction

La pompe H⁺ présente sur la membrane plasmique des végétaux est capable de transporter les protons contre le sens du gradient de concentration et contre le sens du gradient électrique. En expulsant les protons de la cellule la pompe crée un gradient de protons qui peut être utilisé par de différents symports ou antiports secondairement activés. Ainsi les matières nutritives peuvent être importées dans la cellule.

But du TP

En expulsant les protons de la cellule la pompe H⁺ acidifie le milieu. A l'aide d'un pH mètre, nous allons mettre en évidence et mesurer les flux transmembranaires¹ de protons, ce qui va nous permettre de caractériser, en y ajoutant des effecteurs spécifiques, un certain nombre de transporteurs membranaires présents sur la membrane externe de l'épithélium de la racine de maïs.

Le principe des mesures

La pompe H⁺, lorsqu'elle est active rejette des protons hors de la cellule.

Nous plongeons les racines dans une solution contenant de CaSO₄ 0.2 mM + glucose 10mM. Les ions SO₄²⁻ sont peu perméants, ils ne traversent pas la membrane. Le glucose, par contre, franchit la membrane et pénètre dans le cytoplasme où il est métabolisé pour fournir de l'énergie à la pompe.

Il existe sur la membrane un autre transport primaire qui expulse l'ion Ca²⁺ de la cellule, dans certains cas il peut se comporter comme un antiport électroneutre, car il échange le même nombre de charges, un Ca²⁺ sortant, contre deux H⁺ entrants.

Nous nous plaçons à pH=5,5. Les protéines membranaires sont très sensibles aux variations du pH, il est aussi important de rester constamment au tour du pH (5,5) pour pouvoir comparer les flux mesurés. Il est inutile de comparer, par exemple, le flux de glucose à pH=6 et le flux de isoleucine à pH=5, ces transports étant dépendants du gradient de protons, il est évident que nous ne sommes pas dans les mêmes conditions de gradient de protons à pH=6 et à pH=5.

Nous constatons que lorsque les racines sont plongées dans la solution de CaSO₄ 0.2 mM + glucose 10mM et lorsque le pH est ajusté à 5,5, le milieu s'acidifie. On en déduit un flux net H⁺ sortant.

¹ En faite l'expérience ne nous permet pas de préciser s'il s'agit de flux transmembranaires ou de flux transepitheliaux

Pour mesurer ce flux nous allons mettre une quantité connue de base [$\text{Ca}(\text{OH})_2$]² ce qui va augmenter le pH. Pour neutraliser la base, c'est à dire ramener le pH à 5,5 la plante doit transporter exactement le même nombre de protons que le nombre d'ions OH^- que nous avons ajouté.

En mesurant le temps nécessaire pour la neutralisation, nous pouvons calculer le flux net de protons. Nous utilisons la formule: $J_{\text{H}^+} = Q / \text{gMF} \cdot (t_2 - t_1)$

Commentaire des résultats

Toutes les manipulations ont été exécuté selon les consignes données dans le poly, elles ne seront donc pas répétées ici.

Flux de base:

En plongeant les racines dans la solution de CaSO_4 0.2 mM + glucose 10mM, le pH est ajusté à 5,5 nous constatons une acidification du milieu. On en déduit un flux net sortant de protons que nous avons mesuré.

$$J_{\text{H}^+} = 0,348 \mu\text{éq/gMF/h}$$

Ce flux est dû à l'activité de la pompe H^+ qui engendre un flux sortant de protons. Le glucose de la solution va être transporté par un symport Glc/H^+ , ceci va engendrer un flux entrant de glucose, mais aussi un flux entrant de H^+ . La présence du Ca^{2+} dans la solution active la $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPase qui est en grande partie responsable du flux entrant de protons.

Comme la solution dans laquelle les racines sont plongées est très pauvre en ions³, les ions ont tendance à sortir de la cellule. Pour maintenir stable la concentration intracellulaire en ions la cellule doit dépenser de l'énergie. Les ions perdus seront recapturés par des transporteurs consommant de l'énergie. L'énergie pour la majeure partie de ces transporteurs sera fournie par la pompe H^+ . Ces transports, de la même manière que le transport de glucose vont engendrer des flux entrants et des flux sortants. En vue des concentrations, on peut considérer ces flux négligeables devant les deux mentionnés plus haut.

Le flux net de H^+ mesuré est la résultante de tous ces flux entrants et sortants.

Flux de H^+ en présence de K_2SO_4

Nous avons rajouté 0.4 mL de K_2SO_4 , ainsi la concentration finale est 2 mM. C'est à dire que $[\text{K}^+]_o = 4\text{mM}$. La concentration intracellulaire se situe au tour de 110mM. Il existe donc un gradient sortant de K^+ . La sortie du K^+ peut donc se faire par diffusion simple par un canal spécifique présent sur la membrane. Pour que la concentration intracellulaire en K^+ reste stable l'ion K^+ sera réinjecté dans la cellule par un transport énergétique. On peut émettre deux hypothèses:

- Soit il existe une ATPase spécifique au K^+
- Soit il existe un transporteur K^+ secondairement activé.

² pour connaître le titre exact de la base on effectue une titration à la fin de l'expérience

³ sauf bien sûr ceux que nous avons volontairement introduits, c'est à dire SO_4^{2-} , Ca^{2+}

Le flux net mesuré est de $J_{H^+} = 0,914 \mu\text{eq/gMF/h}$. Ce flux est 2.5 fois supérieur au flux de base. Pour cette raison on peut rejeter la première hypothèse car une K^+ -ATPase n'aurait pas induit une si grande perturbation du flux de protons.

La deuxième hypothèse semble, donc, plus plausible. Il existerait donc un symport K^+/H^+ qui en faisant rentrer le K^+ aurait tendance de baisser le flux net de protons⁴.

Malgré cela nous observons une intensification de la sécrétion de protons. Le symport K^+/H^+ est hautement électrogène, il fait rentrer deux charges + à l'intérieur de la cellule, ce qui provoque une dépolarisation de la membrane. Pour maintenir la ddp membranaire la pompe doit excréter deux protons pour chaque K^+ importé. Si cette hypothèse est vraie, le flux net après l'ajout du K_2SO_4 devrait être deux fois plus grand que le flux net de base. Nous mesurons un flux 2,5 fois supérieur au flux net de base; on peut juger notre hypothèse assez satisfaisante. Il serait nécessaire de répéter la même mesure plusieurs fois afin de voir si la différence entre la mesure et le résultat prédit est due à une erreur expérimentale ou à la présence d'un autre transport⁵.

Flux de H^+ en présence de $(NH_4)_2SO_4$

Nous avons ajouté 0.2 mL de $(NH_4)_2SO_4$ ⁶. Ainsi la concentration dans le milieu extracellulaire est de 0.99 mM.

L'ion NH_4^+ n'est jamais retrouvé dans la sève brute, il est tout de suite incorporé dans les acides aminés. Lors de cette réaction un proton est libéré.

Le flux net mesuré est $J_{H^+} = 0,310 \mu\text{eq/gMF/h}$. On retrouve ici une valeur proche du flux de base.

Le NH_4^+ est un ion très perméant. Son importation provoque une diminution du pH intracellulaire. ($NH_4^+ \rightarrow NH_2-R + H^+$) donc une baisse du gradient de protons. Comme les symports utilisent l'énergie fournie par ce gradient, son abaissement entraîne immédiatement le ralentissement de ces transports. La baisse du régime des transports secondaires entraînerait une diminution de l'exportation du H^+ par la pompe. On en déduit que la pompe H^+ est plus sensible aux variations de la ddp transmembranaire que aux différences du pH_i.

Comme l'ion NH_4^+ n'est pas présent dans le cytoplasme son entrée peut se faire par un canal membranaire. La présence d'un transport secondaire n'est pas requise.

Flux de H^+ en présence de $CaCl_2$

On ajoute à la solution précédente 0.2 mL de $CaCl_2$ de façon à ce que la concentration finale soit de 2mM.

La concentration intracellulaire de Ca^{2+} est de l'ordre de μM . L'ajout de l'ion Ca^{2+} dans la solution du bain entraîne une entrée par gradient de diffusion de Ca^{2+} dans la cellule. Comme cela a été décrit plus haut, afin de maintenir la concentration intracellulaire constante, la cellule met en jeu la Ca^{2+}/H^+ ATPase, laquelle engendre un flux entrant de $2H^+$ pour chaque Ca^{2+} expulsé.

Le transport de Cl^- se fait contre le gradient électrique (la membrane cellulaire est électro-négative à l'intérieur et positive à l'extérieur, le gradient électrique s'oppose

⁴ si on admet que le régime de la pompe reste constant

⁵ Lequel pourrait éventuellement être caractérisé dans une autre série d'expériences

⁶ Il a été demandé de mettre 0.1 mL de $(NH_4)_2SO_4$ par erreur nous avons mis le double

donc à l'entrée du Cl^- dans la cellule). On peut émettre deux hypothèses concernant ce transport:

- Soit le gradient chimique est dans le même sens que le gradient électrique dans quel cas l'entrée des ions Cl^- se fait forcément par un transport consommant de l'énergie. Si le gradient chimique est du sens opposé du celui du gradient électrique et s'il est plus faible, le transport doit se faire de la même façon.
- Soit le gradient chimique est supérieur et dans le sens opposé du gradient électrique dans ce cas l'entrée du Cl^- peut se faire par diffusion simple.

Nous avons mesuré $J_{\text{H}^+} = 1,291 \mu\text{éq/gMF/h}$. Ce flux net représente approximativement 4 fois le flux de base.

Une entrée de Cl^- par diffusion ne permettrait pas d'expliquer un flux net sortant aussi important. Nous sommes vraisemblablement en présence d'un symport Cl^-/H^+ qui profite de l'énergie fournie par le gradient de protons pour transporter le Cl^- contre le gradient électrochimique. Le proton qui entre par ce symport provoque une augmentation de l'activité de la pompe H^+ .

On peut aussi imaginer un effet stimulant de Cl^- intracellulaire sur la pompe H^+ , du fait du changement de la ddp (Cl^- en entrant polarise la membrane ce qui pourrait influencer l'activité de la pompe).

L'activité de la pompe H^+ serait donc stimulé par l'entrée de H^+ par la $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPase, et par flux entrant de H^+ et de Cl^- par le symport H^+/Cl^- .

Le flux de H^+ en présence d'isoleucine

Pour avoir une concentration dans le bain de 10 mM nous avons ajouté 5,24 mL d'isoleucine à 200 mM.

Après l'ajout d'isoleucine nous constatons une légère acidification du milieu, mais après avoir ajouté 300 μL de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ nous constatons une annulation de flux net de protons, qui a duré au moins 7,5 min.

L'annulation du flux net observée signifie, en fait, que le flux entrant de H^+ est égal au flux sortant du H^+ .

Comme le flux net de H^+ précédemment mesuré était positif (sortie de H^+), pour qu'il y ait une annulation du flux net le transport d'isoleucine doit être accompagné d'une entrée de protons. On en déduit que le transport d'isoleucine se fait par un symport avec le H^+ .

Le flux H^+ en présence du DNP

Après l'ajout de 0.4 mL de DNP⁷ nous observons une alcalinisation du milieu (après la chute du pH due au fait que le DNP est acide). Le DNP se comporte comme une navette qui transporte les protons à travers la membrane plasmique.

Nous avons mesuré un flux: $J_{\text{H}^+} = -0,710 \mu\text{éq/gMF/h}$. C'est à dire que nous sommes en présence d'un flux net entrant de protons. Ce flux est quasi entièrement du à l'action du DNP.

⁷ nous avons mis 0.4 mL de DNP, c'est à dire le double de la quantité calculée, car après l'ajout de 0.2 mL, la réaction tardait à se faire voir, par contre en ajoutant encore une fois le même volume, la réponse fut immédiate. Ce retard de la réponse qui nous a induit en erreur est probablement du à la lenteur de la sonde du pH-mètre

Le DNP n'est pas capable de transporter les protons contre le sens du gradient électro-chimique. Or comme un transport dû au DNP existe il est forcément fait selon le ce gradient. Il s'agit ici du gradient établi par l'action des pompes H^+ , ce gradient fournissant l'énergie pour les transports secondaires. On peut prévoir que ce influx de protons vers l'intérieur de la cellule va sensiblement augmenter le pH_i jusqu'au moment où $pH_i=pH_o$, on peut aussi supposer qu'une telle baisse du pH_i va finir par tuer la cellule.

Conclusion

Le schéma qui suit ce texte résume les transports dont il a été question ici.

La pompe H^+ en hydrolysant l'ATP établit un gradient de protons qui va ensuite fournir l'énergie pour le transport des ions K^+ , Cl^- , et des macromolécules comme le glucose ou l'Isoleucine.

On peut même dire qu'indirectement la pompe H^+ fournit l'énergie pour le transport du NH_4^+ . (voir explication plus haut)

On peut conclure que la pompe H^+ permet le maintien du pH_i et de la ddp. Mais elle permet également la conservation des concentrations intracellulaires, comme c'est le cas avec le K^+ . En fin elle permet l'entrée des substances nutritives comme on a pu l'observer dans le cas du glucose et d'isoleucine.

D'autres ATPases peuvent exister sur la membrane (par exemple la Ca^{2+}/H^+ ATPase), mais leur présence n'est pas aussi universelle que celle de la pompe H^+ . En effet la pompe H^+ est présente et joue un rôle majeur d'énergisation des transports chez tous les végétaux supérieurs, les champignons et chez un grand nombre de bactéries.

On peut remarquer que le système majeur d'énergisation "choisi" par les animaux est le Na^+/K^+ ATPase, le système moins coûteux en ATP. On peut se demander pourquoi lors de l'évolution ce système coûteux a été choisi. Une réponse possible (mais légèrement finaliste :) est qu'il permet de assurer simultanément l'énergisation des transports secondaires et le maintien du pH et de la ddp transmembranaire⁸.

Un tableau de calcul avec la totalité des résultats est joint en appendice ainsi qu'une feuille manuscrite donnant le calcul entier d'un flux net, les autres étant identiques ne seront pas précisées.

⁸ chez les animaux souvent plusieurs systèmes complexes sont mis en jeu pour assurer chacune de ces fonctions

GNU Free Documentation License

Version 1.2, November 2002

Copyright (C) 2000,2001,2002 Free Software Foundation, Inc.

59 Temple Place, Suite 330, Boston, MA 02111-1307 USA

Everyone is permitted to copy and distribute verbatim copies of this license document, but changing it is not allowed.

0. PREAMBLE

The purpose of this License is to make a manual, textbook, or other functional and useful document "free" in the sense of freedom: to assure everyone the effective freedom to copy and redistribute it, with or without modifying it, either commercially or noncommercially. Secondly, this License preserves for the author and publisher a way to get credit for their work, while not being considered responsible for modifications made by others.

This License is a kind of "copyleft", which means that derivative works of the document must themselves be free in the same sense. It complements the GNU General Public License, which is a copyleft license designed for free software.

We have designed this License in order to use it for manuals for free software, because free software needs free documentation: a free program should come with manuals providing the same freedoms that the software does. But this License is not limited to software manuals; it can be used for any textual work, regardless of subject matter or whether it is published as a printed book. We recommend this License principally for works whose purpose is instruction or reference.

1. APPLICABILITY AND DEFINITIONS

This License applies to any manual or other work, in any medium, that contains a notice placed by the copyright holder saying it can be distributed under the terms of this License. Such a notice grants a world-wide, royalty-free license, unlimited in duration, to use that work under the conditions stated herein. The "Document", below, refers to any such manual or work. Any member of the public is a licensee, and is addressed as "you". You accept the license if you copy, modify or distribute the work in a way requiring permission under copyright law.

A "Modified Version" of the Document means any work containing the Document or a portion of it, either copied verbatim, or with modifications and/or translated into another language.

A "Secondary Section" is a named appendix or a front-matter section of the Document that deals exclusively with the relationship of the publishers or authors of the Document to the Document's overall subject (or to related matters) and contains nothing that could fall directly within that overall subject. (Thus, if the Document is in part a textbook of mathematics, a Secondary Section may not explain any mathematics.) The relationship could be a matter of historical connection with the subject or with related matters, or of legal, commercial, philosophical, ethical or political position regarding them.

The "Invariant Sections" are certain Secondary Sections whose titles are designated, as being those of Invariant Sections, in the notice that says that the Document is released under this License. If a section does not fit the above definition of Secondary then it is not allowed to be designated as Invariant. The Document may contain zero Invariant Sections. If the Document does not identify any Invariant Sections then there are none.

The "Cover Texts" are certain short passages of text that are listed, as Front-Cover Texts or Back-Cover Texts, in the notice that says that the Document is released under this License. A Front-Cover Text may be at most 5 words, and a Back-Cover Text may be at most 25 words.

A "Transparent" copy of the Document means a machine-readable copy, represented in a format whose specification is available to the general public, that is suitable for revising the document straightforwardly with generic text editors or (for images composed of pixels) generic paint programs or (for drawings) some widely available drawing editor, and that is suitable for input to text formatters or for automatic translation to a variety of formats suitable for input to text formatters. A copy made in an otherwise Transparent file format whose markup, or absence of markup, has been arranged to thwart or discourage subsequent modification by readers is not Transparent. An image format is not Transparent if used for any substantial amount of text. A copy that is not "Transparent" is called "Opaque".

Examples of suitable formats for Transparent copies include plain ASCII without markup, Texinfo input format, LaTeX input format, SGML or XML using a publicly available DTD, and standard-conforming simple HTML, PostScript or PDF designed for human modification. Examples of transparent image formats include PNG, XCF and JPG. Opaque formats

include proprietary formats that can be read and edited only by proprietary word processors, SGML or XML for which the DTD and/or processing tools are not generally available, and the machine-generated HTML, PostScript or PDF produced by some word processors for output purposes only.

The "Title Page" means, for a printed book, the title page itself, plus such following pages as are needed to hold, legibly, the material this License requires to appear in the title page. For works in formats which do not have any title page as such, "Title Page" means the text near the most prominent appearance of the work's title, preceding the beginning of the body of the text.

A section "Entitled XYZ" means a named subunit of the Document whose title either is precisely XYZ or contains XYZ in parentheses following text that translates XYZ in another language. (Here XYZ stands for a specific section name mentioned below, such as "Acknowledgements", "Dedications", "Endorsements", or "History".) To "Preserve the Title" of such a section when you modify the Document means that it remains a section "Entitled XYZ" according to this definition.

The Document may include Warranty Disclaimers next to the notice which states that this License applies to the Document. These Warranty Disclaimers are considered to be included by reference in this License, but only as regards disclaiming warranties: any other implication that these Warranty Disclaimers may have is void and has no effect on the meaning of this License.

2. VERBATIM COPYING

You may copy and distribute the Document in any medium, either commercially or noncommercially, provided that this License, the copyright notices, and the license notice saying this License applies to the Document are reproduced in all copies, and that you add no other conditions whatsoever to those of this License. You may not use technical measures to obstruct or control the reading or further copying of the copies you make or distribute. However, you may accept compensation in exchange for copies. If you distribute a large enough number of copies you must also follow the conditions in section 3.

You may also lend copies, under the same conditions stated above, and you may publicly display copies.

3. COPYING IN QUANTITY

If you publish printed copies (or copies in media that commonly have printed covers) of the Document, numbering more than 100, and the Document's license notice requires Cover Texts, you must enclose the copies in covers that carry, clearly and legibly, all these Cover Texts: Front-Cover Texts on the front cover, and Back-Cover Texts on the back cover. Both covers must also clearly and legibly identify you as the publisher of these copies. The front cover must present the full title with all words of the title equally prominent and visible. You may add other material on the covers in addition. Copying with changes limited to the covers, as long as they preserve the title of the Document and satisfy these conditions, can be treated as verbatim copying in other respects.

If the required texts for either cover are too voluminous to fit legibly, you should put the first ones listed (as many as fit reasonably) on the actual cover, and continue the rest onto adjacent pages.

If you publish or distribute Opaque copies of the Document numbering more than 100, you must either include a machine-readable Transparent copy along with each Opaque copy, or state in or with each Opaque copy a computer-network location from which the general network-using public has access to download using public-standard network protocols a complete Transparent copy of the Document, free of added material. If you use the latter option, you must take reasonably prudent steps, when you begin distribution of Opaque copies in quantity, to ensure that this Transparent copy will remain thus accessible at the stated location until at least one year after the last time you distribute an Opaque copy (directly or through your agents or retailers) of that edition to the public.

It is requested, but not required, that you contact the authors of the Document well before redistributing any large number of copies, to give them a chance to provide you with an updated version of the Document.

4. MODIFICATIONS

You may copy and distribute a Modified Version of the Document under the conditions of sections 2 and 3 above, provided that you release the Modified Version under precisely this License, with the Modified Version filling the role of the Document, thus licensing distribution and modification of the Modified Version to whoever possesses a copy of it. In addition, you must do these things in the Modified Version:

- A. Use in the Title Page (and on the covers, if any) a title distinct from that of the Document, and from those of previous versions (which should, if there were any, be listed in the History section of the Document). You may use the same title as a previous version if the original publisher of that version gives permission.
- B. List on the Title Page, as authors, one or more persons or entities responsible for authorship of the modifications in the Modified Version, together with at least five of the principal authors of the Document (all of its principal authors, if it has fewer than five), unless they release you from this requirement.
- C. State on the Title page the name of the publisher of the Modified Version, as the publisher.
- D. Preserve all the copyright notices of the Document.
- E. Add an appropriate copyright notice for your modifications adjacent to the other copyright notices.
- F. Include, immediately after the copyright notices, a license notice giving the public permission to use the Modified Version under the terms of this License, in the form shown in the Addendum below.
- G. Preserve in that license notice the full lists of Invariant Sections and required Cover Texts given in the Document's license notice.
- H. Include an unaltered copy of this License.
- I. Preserve the section Entitled "History", Preserve its Title, and add to it an item stating at least the title, year, new authors, and publisher of the Modified Version as given on the Title Page. If there is no section Entitled "History" in the Document, create one stating the title, year, authors, and publisher of the Document as given on its Title Page, then add an item describing the Modified Version as stated in the previous sentence.
- J. Preserve the network location, if any, given in the Document for public access to a Transparent copy of the Document, and likewise the network locations given in the Document for previous versions it was based on. These may be placed in the "History" section. You may omit a network location for a work that was published at least four years before the Document itself, or if the original publisher of the version it refers to gives permission.
- K. For any section Entitled "Acknowledgements" or "Dedications", Preserve the Title of the section, and preserve in the section all the substance and tone of each of the contributor acknowledgements and/or dedications given therein.
- L. Preserve all the Invariant Sections of the Document, unaltered in their text and in their titles. Section numbers or the equivalent are not considered part of the section titles.
- M. Delete any section Entitled "Endorsements". Such a section may not be included in the Modified Version.
- N. Do not retitle any existing section to be Entitled "Endorsements" or to conflict in title with any Invariant Section.

O. Preserve any Warranty Disclaimers.

If the Modified Version includes new front-matter sections or appendices that qualify as Secondary Sections and contain no material copied from the Document, you may at your option designate some or all of these sections as invariant. To do this, add their titles to the list of Invariant Sections in the Modified Version's license notice. These titles must be distinct from any other section titles.

You may add a section Entitled "Endorsements", provided it contains nothing but endorsements of your Modified Version by various parties--for example, statements of peer review or that the text has been approved by an organization as the authoritative definition of a standard.

You may add a passage of up to five words as a Front-Cover Text, and a passage of up to 25 words as a Back-Cover Text, to the end of the list of Cover Texts in the Modified Version. Only one passage of Front-Cover Text and one of Back-Cover Text may be added by (or through arrangements made by) any one entity. If the Document already includes a cover text for the same cover, previously added by you or by arrangement made by the same entity you are acting on behalf of, you may not add another; but you may replace the old one, on explicit permission from the previous publisher that added the old one.

The author(s) and publisher(s) of the Document do not by this License give permission to use their names for publicity for or to assert or imply endorsement of any Modified Version.

5. COMBINING DOCUMENTS

You may combine the Document with other documents released under this License, under the terms defined in section 4 above for modified versions, provided that you include in the combination all of the Invariant Sections of all of the original documents, unmodified, and list them all as Invariant Sections of your combined work in its license notice, and that you preserve all their Warranty Disclaimers.

The combined work need only contain one copy of this License, and multiple identical Invariant Sections may be replaced with a single copy. If there are multiple Invariant Sections with the same name but different contents, make the title of each such section unique by adding at the end of it, in parentheses, the name of the original author or publisher of that section if known, or else a unique number. Make the same adjustment to the section titles in the list of

Invariant Sections in the license notice of the combined work.

In the combination, you must combine any sections Entitled "History" in the various original documents, forming one section Entitled "History"; likewise combine any sections Entitled "Acknowledgements", and any sections Entitled "Dedications". You must delete all sections Entitled "Endorsements".

6. COLLECTIONS OF DOCUMENTS

You may make a collection consisting of the Document and other documents released under this License, and replace the individual copies of this License in the various documents with a single copy that is included in the collection, provided that you follow the rules of this License for verbatim copying of each of the documents in all other respects.

You may extract a single document from such a collection, and distribute it individually under this License, provided you insert a copy of this License into the extracted document, and follow this License in all other respects regarding verbatim copying of that document.

7. AGGREGATION WITH INDEPENDENT WORKS

A compilation of the Document or its derivatives with other separate and independent documents or works, in or on a volume of a storage or distribution medium, is called an "aggregate" if the copyright resulting from the compilation is not used to limit the legal rights of the compilation's users beyond what the individual works permit. When the Document is included in an aggregate, this License does not apply to the other works in the aggregate which are not themselves derivative works of the Document.

If the Cover Text requirement of section 3 is applicable to these copies of the Document, then if the Document is less than one half of the entire aggregate, the Document's Cover Texts may be placed on covers that bracket the Document within the aggregate, or the electronic equivalent of covers if the Document is in electronic form. Otherwise they must appear on printed covers that bracket the whole aggregate.

8. TRANSLATION

Translation is considered a kind of modification, so you may

distribute translations of the Document under the terms of section 4. Replacing Invariant Sections with translations requires special permission from their copyright holders, but you may include translations of some or all Invariant Sections in addition to the original versions of these Invariant Sections. You may include a translation of this License, and all the license notices in the Document, and any Warranty Disclaimers, provided that you also include the original English version of this License and the original versions of those notices and disclaimers. In case of a disagreement between the translation and the original version of this License or a notice or disclaimer, the original version will prevail.

If a section in the Document is Entitled "Acknowledgements", "Dedications", or "History", the requirement (section 4) to Preserve its Title (section 1) will typically require changing the actual title.

9. TERMINATION

You may not copy, modify, sublicense, or distribute the Document except as expressly provided for under this License. Any other attempt to copy, modify, sublicense or distribute the Document is void, and will automatically terminate your rights under this License. However, parties who have received copies, or rights, from you under this License will not have their licenses terminated so long as such parties remain in full compliance.

10. FUTURE REVISIONS OF THIS LICENSE

The Free Software Foundation may publish new, revised versions of the GNU Free Documentation License from time to time. Such new versions will be similar in spirit to the present version, but may differ in detail to address new problems or concerns. See <http://www.gnu.org/copyleft/>.

Each version of the License is given a distinguishing version number. If the Document specifies that a particular numbered version of this License "or any later version" applies to it, you have the option of following the terms and conditions either of that specified version or of any later version that has been published (not as a draft) by the Free Software Foundation. If the Document does not specify a version number of this License, you may choose any version ever published (not as a draft) by the Free Software Foundation.