

M1 Biologie-Santé, UE Evolution et Biodiversité des Microorganismes

Epreuve sans documents. Durée de l'épreuve : 2h. Le barème de l'examen est sur 35 points qui seront rapportés sur 20 points pour obtenir la note finale.

Sujet T. Basta (17 points)

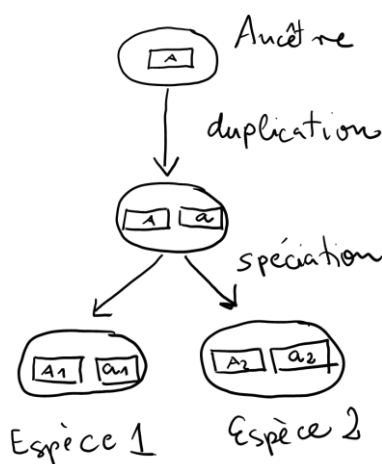
Q1. La réparation des dommages causés à l'ADN est l'une des fonctions essentielles pour la survie des cellules car les molécules d'ADN sont constamment soumises à différents types de dommages. Un mécanisme important de réparation de l'ADN est le système MMR (Mismatch repair system).

Chez les eucaryotes, ce système est plus complexe que chez les bactéries ou les archées en raison d'un nombre important de paralogues apparus suite à des duplications des gènes suivi d'une spécialisation de ces paralogues au cours de l'évolution. Récemment, la découverte et le séquençage des génomes d'Asgard archées ont permis de préciser l'évolution du système MMR grâce à la proximité phylogénétique des Asgard avec l'ancêtre commun des eucaryotes. Tiré de Hofstatter and Lahr, Journal of Molecular Evolution, 2021, <https://doi.org/10.1007/s00239-020-09979-5>

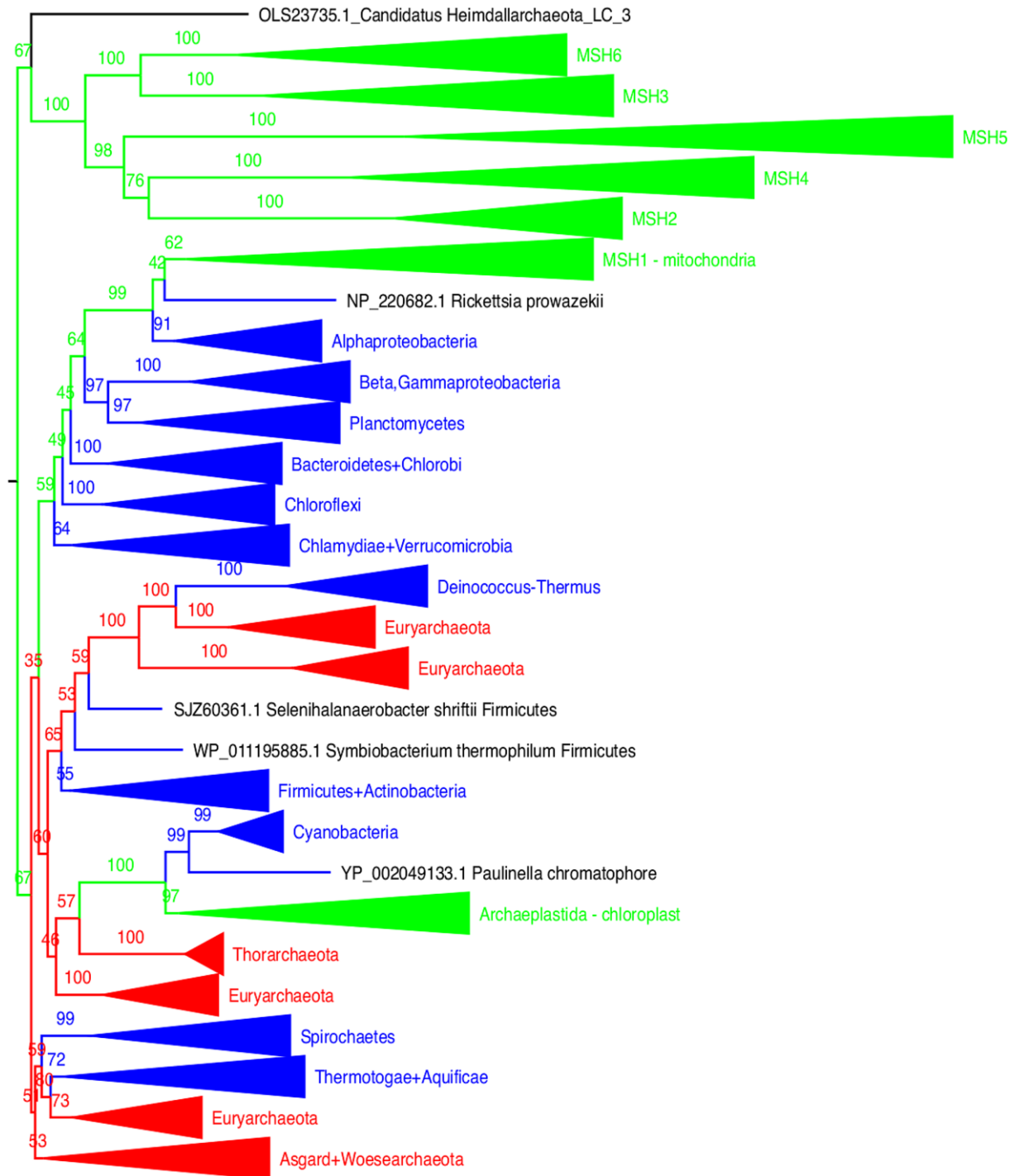
a) Le système RMM bactérien est composé de deux protéines codés par *mutS* et de *mutL*. Ce système a été acquis par des eucaryotes et a ensuite subi plusieurs duplications ancestrales pour aboutir à six paralogues de *mutS* (nommés MSH1-6) et quatre paralogues de *mutL* que l'on trouve chez la plupart des eucaryotes contemporains. (2 points)

Complétez la phrase :

Sur le schéma ci-dessous les gènes de l'espèce 1 _____ et _____ sont des paralogues. Les gènes _____ et _____ sont des orthologues.



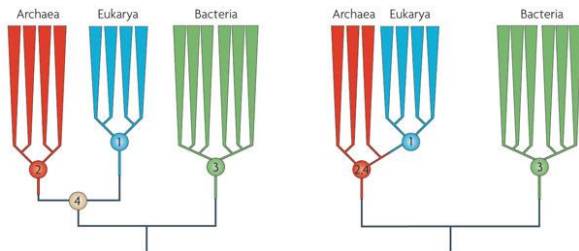
b) Voici l'arbre phylogénétique pour les protéines MutS issues de trois domaines du vivant. Les séquences eucaryotes sont indiquées en vert, les séquences bactériennes sont en bleu et les séquences d'archées en rouge. A quoi correspond la longueur d'une branche sur cet arbre ? (1 point)



c) Dans l'analyse phylogénétique à quoi correspond la racine ? Indiquez avec une flèche la racine de l'arbre MutS. (2 points)

d) Sur l'arbre MutS les orthologues eucaryotes de MutS (MSH2-6) forment un groupe monophylétique. Encercler sur l'arbre le nœud qui correspond à l'ancêtre commun de ces protéines. Dans la classification cladistique comment est défini un groupe monophylétique ? (2 points)

e) Le candidat *Heimdallarchaeota_LC_3* (tout en haut de l'arbre) est une Asgard archée. Des récentes études phylogénétiques indiquent que ces organismes forment le groupe sœur des Eucaryotes. Encercler l'arbre dont la topologie correspond à cette hypothèse et indiquez avec une flèche le nœud qui correspond à l'ancêtre commun des Asgard et des Eucaryotes. (2 points)



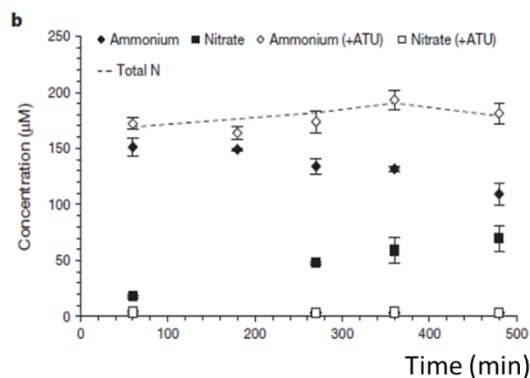
f) Revenons maintenant du nouveau à l'arbre MutS. Au regard de l'arbre que pouvez-vous déduire concernant l'origine des MutS (MSH2-6) eucaryotes ? (1 point)

g) Pouvez-vous proposer le même scénario évolutif pour le MSH1 eucaryote ? Justifiez. (1 point)

Q2. La nitrification est un processus d'oxydation d'ammonium en nitrate grâce à l'action séquentielle des bactéries nitrosantes (ammonium-oxydante, AOB) et des bactéries nitrifiantes (nitrite-oxydante, NOB). En 2015, une étude a isolé pour la première fois une bactérie nommée Comammox (complete ammonia oxidizer) qui à elle seule est capable d'effectuer une oxydation complète d'ammonium. Pour démontrer cela les chercheurs ont mesuré les concentrations des composés azotés dans le milieu de culture où l'ammonium était la seule source d'azote.

a) Comammox est une bactérie chimolithotrophe. Que cela signifie ? (1 point)

b) Voici le graphique obtenu par les chercheurs. ATU correspond à un inhibiteur d'ammonium oxydase.



Complétez la phrase (2,5 points) :

Le graphique montre l'évolution de la concentration _____ en fonction du temps dans le milieu de culture. La concentration de l'ammonium _____ alors que la concentration du nitrate _____ au cours du temps. Lorsque ATU est rajouté dans le milieu de culture la

concentration d'ammonium _____. Cette dernière expérience est une expérience _____ qui permet de prouver que l'oxydation d'ammonium en nitrate est bien due à l'action de la bactérie Comammox.

Q3. Les espèces A, B, C et D possèdent toutes un même caractère plésiomorphe. Les espèces A et B quant à elles possèdent un caractère synapomorphe. L'espèce D a divergé la première à partir de l'ancêtre commun de ces quatre espèces. Dessinez le cladogramme qui représente l'histoire évolutive de ces espèces depuis leur ancêtre commun. Indiquez par un trait horizontal l'acquisition du caractère synapomorphe par la lignée conduisant aux espèces A et B. (2,5 points).

Sujet C. Regeard (10 points)

L'exercice suivant est tiré de l'article intitulé : « Analysis of bacterial diversity in river biofilms using 16S rDNA PCR-DGGE: methodological settings and fingerprints interpretation ».

Dans cet article la diversité des bactéries composant un biofilm epilithique (se développant en surface de roches immergées) du lit de la Garonne a été étudiée grâce à la technique de la PCR-DGGE.

Question 1 (2 points) : réalisez un schéma décrivant les principales étapes de développement d'un biofilm mono-espèce.

Le protocole employé fut le suivant :

- 1) Prélèvement du biofilm au niveau de trois roches situées à 20 cm sous la surface (a1), 1 m sous la surface (a2), 2m sous la surface (a3) de l'eau.
- 2) Extraction de l'ADN total.
- 3) Amplification PCR des régions V3 à V5 avec les amorces 341FGC et 907R. 50ng d'ADN total extrait a toujours été utilisé comme matrice.
- 4) Migration électrophorétique dans un gel d'Acrylamide contenant un gradient (35% à 70%) d'Urée 7M et formamide 40%), 100 V à 20°C
- 5) Révélation de la migration par incubation avec du SYBR green I.

Question 2 (1 point) : quelle est la taille de l'amplicon qui sera obtenu ? Cette taille est-elle compatible avec la technique employée ?

Question 3 (1 point) : que signifie le « GC » de l'amorce 341F ? pourquoi est-ce nécessaire pour cette technique ?

Question 4 (2 points) : réalisez un schéma montrant le résultat de l'amplification vérifié sur un gel d'agarose pour les prélèvements a1, a2, a3.

Afin de déterminer le temps de migration nécessaire à une bonne séparation des fragments amplifiés, une expérience de DGGE à partir d'un mélange d'ADN (14 fragments) témoins de même taille, mais variant au niveau de leur pourcentage en GC a été effectuée (figure 1).

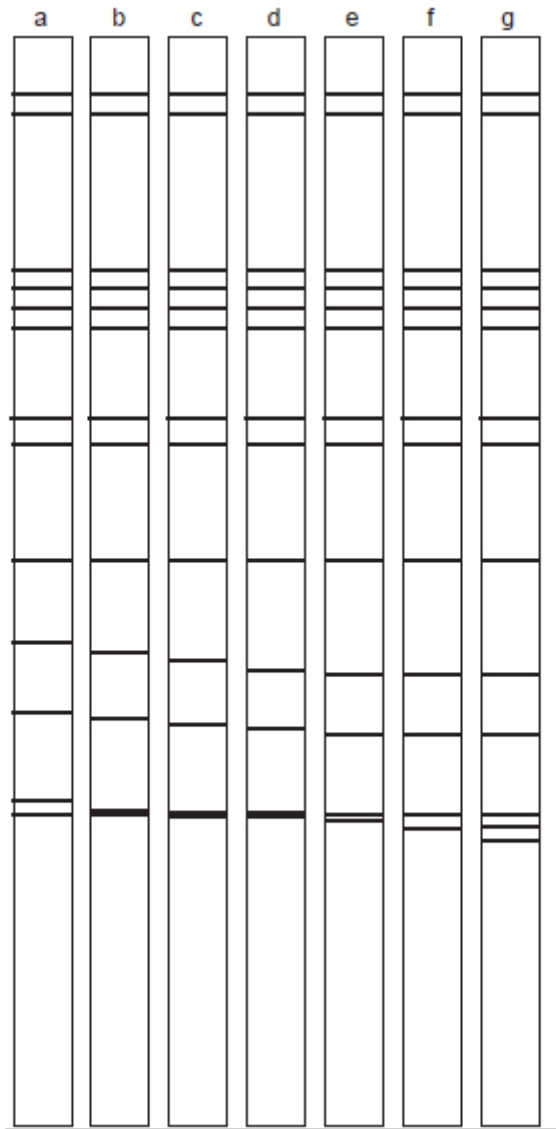
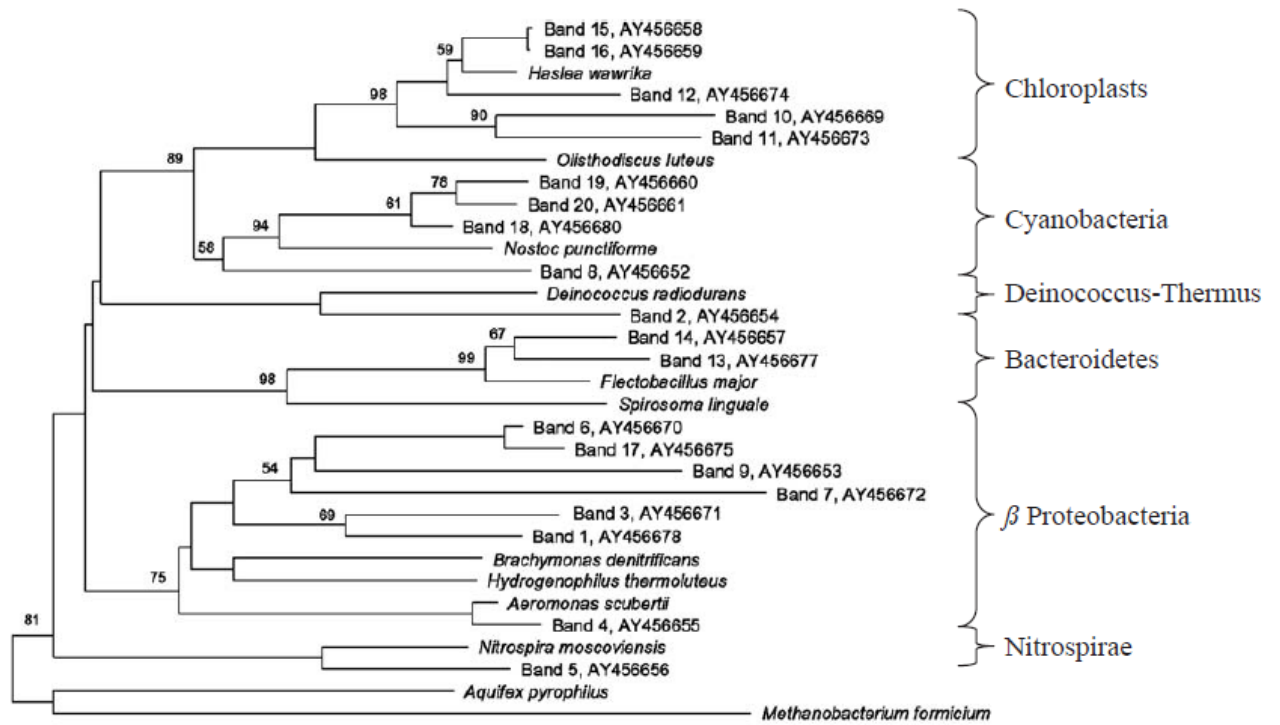


Figure 1 : Migration électrophorétique d'un mélange de fragments d'ADN (565 pb), pendant 12h (a), 13h (b), 14h (c), 15h (d), 16h (e), 17h (f), ou 18h (g).

Question 5 (2 points) : Interprétez les résultats obtenus, pourquoi les auteurs ont-ils choisi une migration de 18 heures ?

Les résultats obtenus sur les échantillons a1, a2 et a3 sont schématisés dans la figure 2.



Question 7 (1 point) : comment expliquez-vous les résultats de séquençage obtenus avec les bandes 10, 11, 12, 15 et 16 ?

Sujet de Laure BARTHES Ecologie microbienne du sol

Analyse de l'article de Guo et al. 2015 publié dans Journal of Tropical forest 27(2) :202-012. « Characteristics of rhizosphere and bulk soil microbial communities in rubber plantations in Hainan Island, China ».

Table 2 Total phospholipid fatty acid concentrations and signature groups in studied soil

Soil code	Total PLFAs (nmol g ⁻¹)	Bacteria (nmol g ⁻¹)	Fungi (nmol g ⁻¹)	Actinomycetes (nmol g ⁻¹)	G ⁺ (nmol g ⁻¹)	G ⁻ (nmol g ⁻¹)	F/B	G ⁺ /G ⁻	R/S ratio			
									Total PLFAs	Bacteria	Fungi	Actinomycetes
Soil with granitic gneiss												
1-1	15.66 a	6.93 a	0.66 b	1.35 a	3.54 a	2.75 a	0.095 b	1.28 a	2.22	2.07	6.00	1.80
1-2	7.04 b	3.35 b	0.11 c	0.75 b	1.78 b	1.39 b	0.033 d	1.28 a				
2-1	17.76 a	7.97 a	0.90 a	1.49 a	3.86 a	2.96 a	0.113 a	1.30 a				
2-2	9.49 b	4.01 b	0.26 c	0.83 b	2.09 b	1.52 b	0.064 c	1.38 a				
Soil with shallow marine deposit												
3-1	9.49 c	4.27 c	0.34 b	0.71 c	2.15 c	1.42 c	0.080 a	1.51 b	2.09	2.03	3.09	1.78
3-2	4.53 d	2.10 c	0.11 c	0.40 d	1.19 d	0.74 d	0.053 b	1.61 ab				
4-1	16.12 b	7.69 b	0.40 b	1.41 b	3.92 b	2.71 b	0.052 b	1.45 b	2.17	2.32	3.08	1.86
4-2	7.42 c	3.32 c	0.13 c	0.76 c	1.96 c	1.15 c	0.040 c	1.70 a				
5-1	22.99 a	10.99 a	0.52 a	2.10 a	5.55 a	4.08 a	0.047 bc	1.36 b	3.34	3.40	4.73	2.84
5-2	6.89 c	3.23 c	0.11 c	0.74 c	1.70 d	1.24 c	0.033 c	1.37 b				
Soil with basalt												
6-1	47.61 a	20.15 a	1.80 a	4.36 a	11.02 a	6.48 a	0.090 b	1.70 a	4.66	4.46	10.59	5.32
6-2	10.21 d	4.52 c	0.17 c	0.82 c	2.79 c	1.56 b	0.038 c	1.79 a				
7-1	41.08 b	18.87 ab	1.48 b	3.96 a	10.54 a	6.64 a	0.079 b	1.59 a	2.94	2.60	12.33	3.54
7-2	13.99 d	7.25 c	0.12 c	1.12 c	4.36 c	2.57 b	0.016 d	1.70 a				
8-1	34.31 c	15.41 b	1.67 ab	3.01 b	8.56 b	5.29 a	0.108 a	1.62 a	3.16	2.86	10.44	3.63
8-2	10.87 d	5.38 c	0.16 c	0.83 c	3.31 c	1.76 b	0.030 c	1.88 a				
Soil with granite												
9-1	26.01 a	12.62 a	0.71 a	2.50 a	8.24 a	3.39 a	0.056 a	2.43 a	2.10	2.50	2.22	2.08
9-2	12.41 b	5.04 b	0.32 b	1.20 b	3.07 c	1.47 b	0.064 a	2.09 a				
10-1	25.18 a	11.54 a	0.75 a	2.30 a	5.86 b	3.96 a	0.065 a	1.48 b	1.72	1.68	4.17	1.31
10-2	14.64 b	6.88 b	0.18 c	1.76 b	4.17 bc	2.01 b	0.027 c	2.07 a				

Values represent means of two replicates; means within a column for each soil parent material followed by different letters are significantly different at the 0.05 level; -1 = rhizosphere soil, -2 = bulk soil; total PLFAs = total phospholipid fatty acids, G⁺ = Gram positive bacteria, G⁻ = Gram negative bacteria, F/B = ratio of fungal to bacterial phospholipid fatty acids, R/S ratio = ratio of rhizosphere to bulk soil phospholipid fatty acids

Sachant que le premier chiffre du code de sol est un type de sol et que le deuxième chiffre correspond à la zone de prélèvement (1:bulk soil ; 2 : rhizospheric soil).

- 1) Définir la rhizosphère (1 point)
- 2) Expliquer pourquoi les PLFA peuvent être utilisés pour étudier la biomasse microbienne du sol (1 point)
- 3) A partir de l'analyse du document, montrer les grandes lignes de l'impact de la rhizosphère sur les communautés microbiennes du sol (2 points).

Sujet de Ludwig Jardillier Ecologie microbienne des milieux aquatiques

- 1) Définissez ce qu'est l'écologie. (0,5pts)
- 2) Quelles sont les stratégies de défense pouvant être adoptées par les microorganismes face à la prédation? (2pts)
- 3) Quels sont les avantages écologiques d'avoir une taille cellulaire réduite? (1,5pts)