

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.

NOM, Prénom : _____

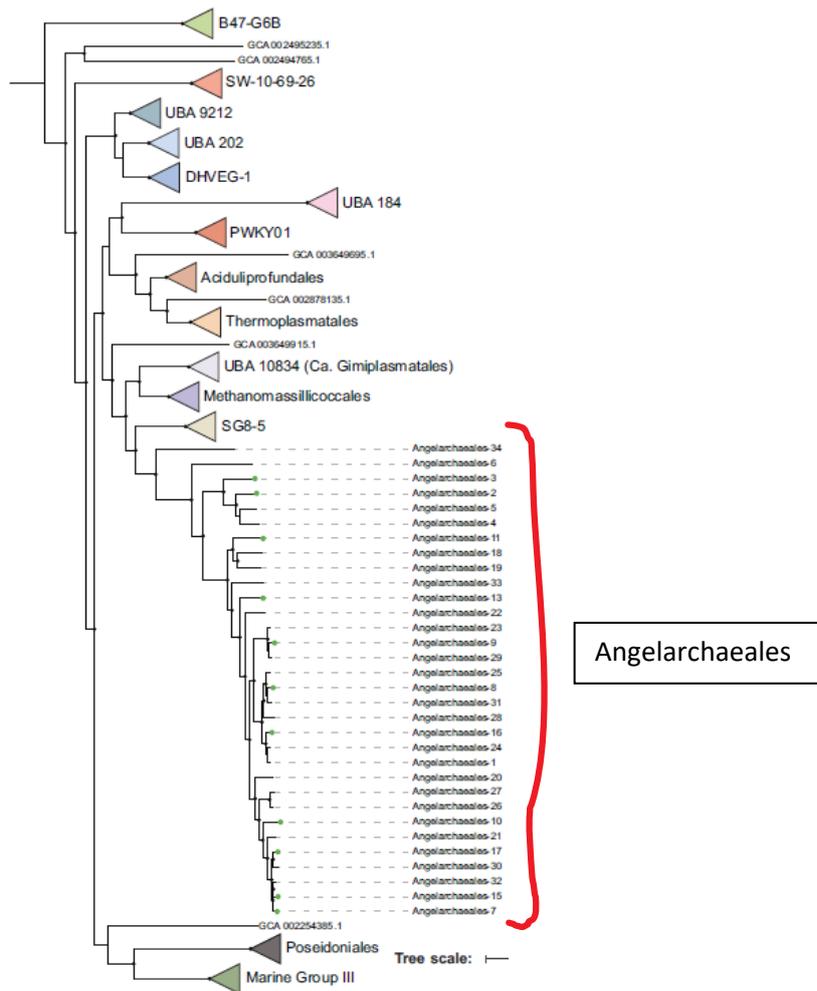
Sujet T. Basta (17 points)

L'oxydation d'ammoniaque en nitrate par des microorganismes, la nitrification, est un processus critique pour le cycle de l'azote dans la biosphère. En 2005, le groupe de Christa Schleper a découvert, grâce à la métagénomique, que certaines archées codent l'oxydase d'ammoniaque (AMO). Cette enzyme catalyse la première étape (considéré comme étape limitante) de la nitrification. Cette découverte mettait en évidence, pour la première fois, l'implication des archées dans ce processus.

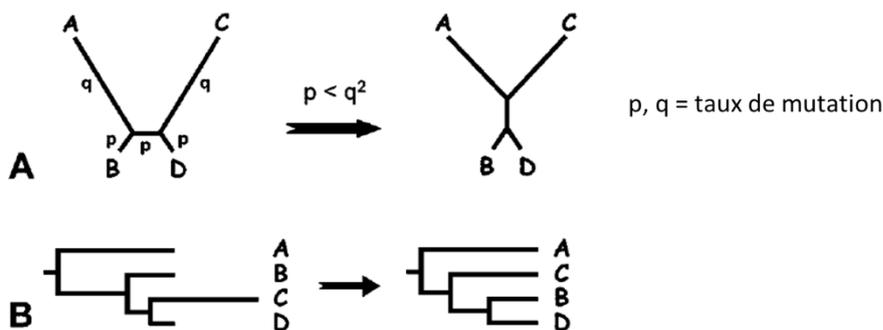
Q1. (1 point) Les archées de l'ordre Thaumarchaeota codent les gènes AMO. Ces archées utilisent la réaction d'oxydation d'ammonium comme seule source d'énergie et assimilent CO₂. Comment appelle-t-on ce type d'organismes (type trophique) ?

Q2. (1 point) Complétez la phrase. Les archées constituent le troisième domaine du vivant phylogénétiquement distinct de _____ et d'Eucaryotes. Les archées ont été découvertes en 1977 grâce aux travaux de C. Woese et G. Fox qui ont analysé la séquence ribonucléotidique de _____.

Q3. Revenons maintenant au processus de nitrification. Une récente étude (Diamond et al., 2022, ISME, publié le 5 janvier 2022) a mis à l'évidence un nouveau phylum d'archées (appelé Angelarchaeales) qui semble également coder les AMO. Voici un arbre phylogénétique qui montre le positionnement de ces archées par rapport aux autres lignées d'archées.



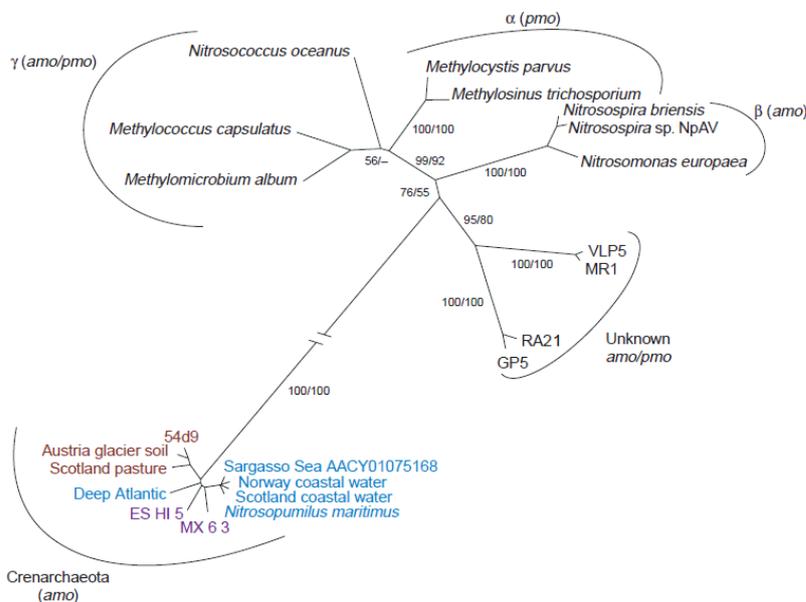
- a) (2 points) Au vu de cet arbre, quelle est la lignée phylogénétiquement la plus proche des Angelarchaeales : les Poseidoniales, les Methanomassilicoccales ou les Aciduliprofundales ? Justifiez.
- b) (2 points) En phylogénie moléculaire comment est défini un groupe externe ? Dans l'arbre ci-dessus, quel groupe d'organismes a été utilisé comme groupe externe ?
- c) (1 point) En phylogénie moléculaire, à quoi correspond l'artefact d'attraction de longue branche ? Appuyez-vous sur le schéma ci-dessous.



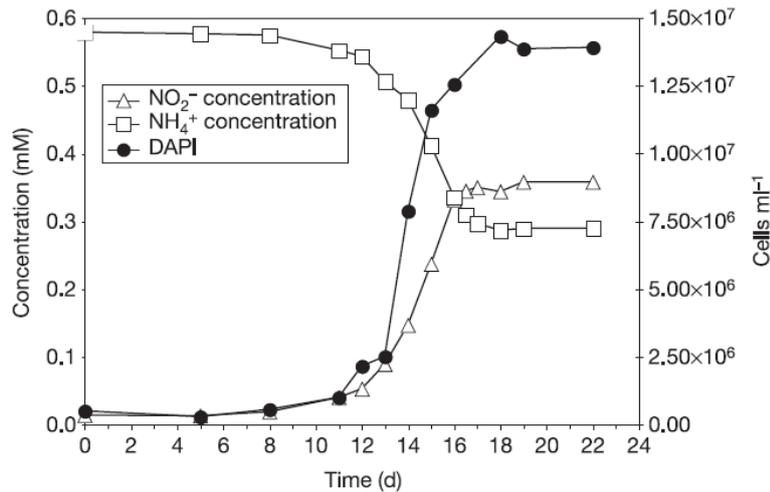
Q4. (1,5 points) Pour établir la phylogénie des organismes (et non pas de gènes) ci-dessus (Q3.) les chercheurs ont utilisé des gènes marqueurs qui permettent de reconstruire l'évolution verticale des organismes qui les portent. Les gènes marqueurs (entourez les bonnes réponses) :

- a) codent souvent pour des protéines ribosomales
- b) n'ont pas subi de transferts horizontaux
- c) ne sont pas présents chez tous les organismes inclus dans l'analyse phylogénétique
- d) sont des orthologues
- e) aucune des propositions n'est correcte

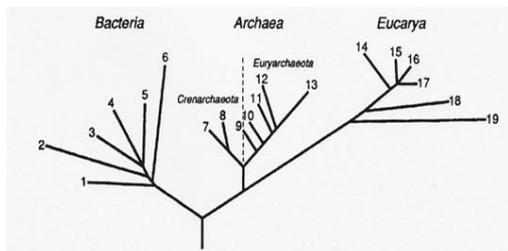
Q5. Voici ci-dessous l'arbre des protéines AMO qui montre qu'une longue branche sépare les orthologues bactériens de ceux d'archées.



- a) (1 point) En phylogénie moléculaire que signifie une longue branche ?
- b) (3 points) L'arbre ci-dessus indique que les archées de l'ordre Crenarchaeota codent AMO, cependant cela ne prouve pas que ces organismes sont effectivement capable d'oxyder l'ammonium pour produire de l'énergie. C'est pour cela que l'un de ces organismes a été isolé et sa capacité de dégrader ammonium a été testé en culture. Décrivez le graphique ci-dessous montrant le résultat de cette expérience. Quelle conclusion ont pu tirer les chercheurs ? Pour information, DAPI est un composé qui permet de visualiser les cellules grâce à la microscopie en épifluorescence.



Q6. (2 points) Voici le premier arbre phylogénétique universel issu de travaux de C. Woese et G. Fox. Cet arbre correspond à un arbre classique dit « 3D ». La découverte des archées du superphylum Asgard a remis en cause cette phylogénie. La majorité des spécialistes pense aujourd’hui que l’arbre qui décrit correctement la relation phylogénétique entre les 3 domaines est un arbre dit « 2D ». Dessinez schématiquement un tel arbre. Dans cette nouvelle version d’arbre l’ancêtre des eucaryotes était une archée issue de la lignée des Asgard.



Q7. (2,5 points) 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 C 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.

NOM, Prénom : _____

Sujet C. Regeard (10 points)

Une équipe de chercheurs allemands a entrepris d'explorer la biodiversité bactérienne présente dans le système de distribution de l'eau potable de leur ville : Braunschweig.

Pour cela ils ont réalisé des prélèvements d'eau « circulante » et de biofilms adhérents sur les parois des différents réservoirs de la ville. Ils ont ensuite extrait l'ADN total ou l'ARN total de leurs échantillons. En utilisant les amorces universelles bactériennes Com1 (5'-CAGCAG CCGCGGTAATAC-3) et Com2 (5'CCGTCAATTCCTTTGAGTTT-3') capables de s'apparier aux positions 519 et 926 respectivement des gènes codant les ARNr16S, ils ont amplifié leurs ADN par PCR. Ils ont également amplifié leurs ARNs par PCR en réalisant une première étape de reverse transcription. L'amorce Com1 a été modifiée chimiquement en 5' pour être liée à une molécule de biotine. Après les PCR, les amplicons ont été déposés sur une colonne contenant des billes liées à la streptavidine. La streptavidine ayant une forte affinité pour la biotine, les amplicons « piégés » ont été traités par du NaOH 0,2 N 10 min, ce qui permet de dénaturer les ADN double-brin sans pour autant déstabiliser la liaison biotine-streptavidine. Après différents lavages, l'ADN lié aux billes a été élué par incubation 10 min à 65°C avec de l'eau ultra pure (déstabilisation de l'affinité streptavidine-biotine) et récupéré.

Question 1 (1 point) : faire un schéma explicite du protocole utilisé. Quel est la nature des ADN récupéré à la fin de ce protocole.

Les ADN ainsi récupérés ont été utilisés dans une expérience de single strand conformation polymorphism.

Question 2 (1 point) : donner le principe de cette méthode électrophorétique.

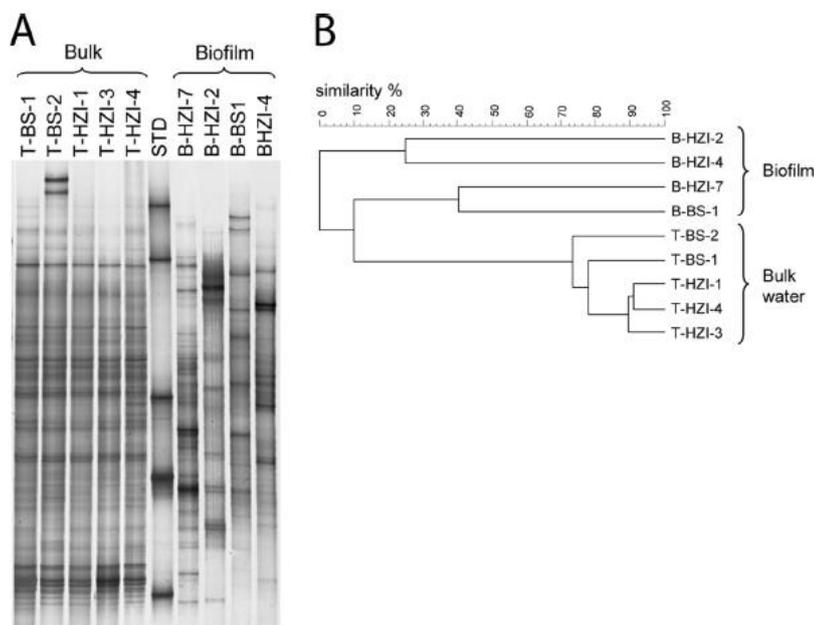


Figure 1 : résultats obtenus à partir de l'ADN total extrait des différents réservoirs de la ville. Echantillons T = Eau circulante, Echantillons B = Biofilm. A : Gel de polyacrylamide non dénaturant révélé au BET. B : Dendrogramme du gel A (STD = marqueur de taille).

Question 3 (1 point): Analyser les résultats de la figure 1, qu'en déduisez-vous concernant la différence entre la diversité bactérienne de l'eau « circulante » et la diversité bactérienne des biofilms ?

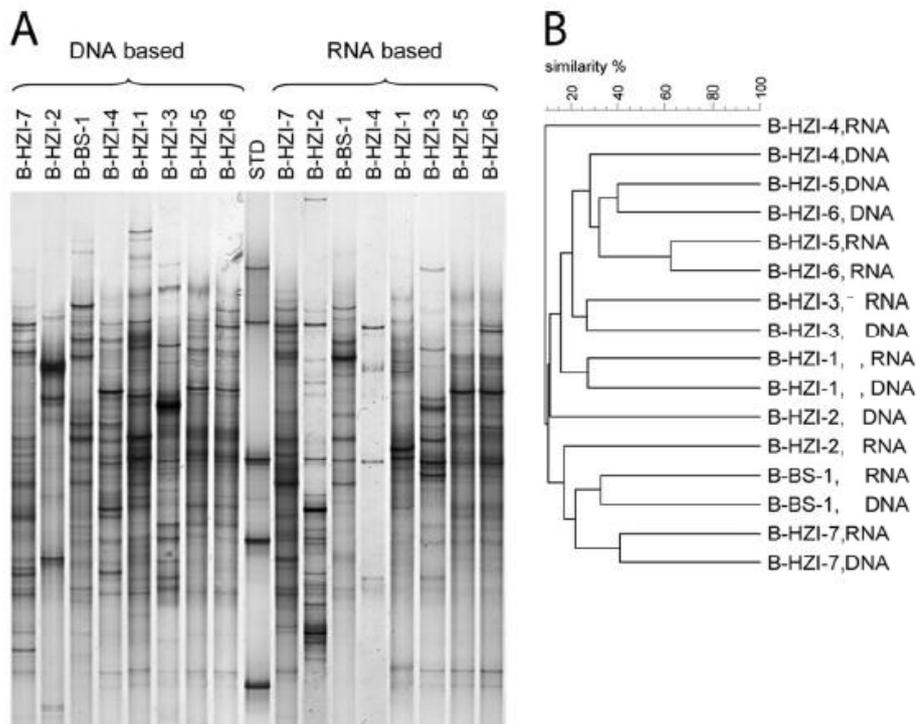


Figure 2 : résultats obtenus à partir de l'ARN total extrait des biofilms (A partie droite) et comparer avec les profils obtenus pour les ADN extraits des mêmes biofilms (A partie gauche) (STD = marqueur de taille). B : Dendrogramme du gel A.

Question 4 (1 point) : dans quel but les chercheurs ont-ils voulu faire ces expériences à partir de l'ARN total extrait des biofilms et comparer les résultats avec les expériences réalisées à partir de l'ADN.

Question 5 (1 point): analyser la figure 2, que concluez-vous de la comparaison ?

Après séquençage des différentes bandes obtenues sur les gels, il s'est avéré que l'une des espèces majoritaires retrouvée dans les biofilms des réservoirs de cette ville est la bactérie *Bacillus subtilis*.

Question 6 (1,25 points): quelles sont les 5 étapes de développement des biofilms de cette bactérie ?

Question 7 : (1, 75 points) citez les différents « types » cellulaires qu'il est possible de trouver dans un biofilm de cette bactérie.

Question 8 (2 points) : donner la définition du « partage du travail » concept émergent permettant d'expliquer la différenciation cellulaire dans le cadre d'un biofilm.

NOM, Prénom : _____

Sujet de Laure BARTHES/Ecologie microbienne du sol (4 points)

Mettre la réponse dans le cadre

- 1) Qu'est-ce que la rhizosphère ? (1 point)

- 2) A l'aide des données suivantes décrire les grandes lignes des caractéristiques de la composition microbienne d'un sol rhizosphérique comparativement à un sol non rhizosphérique. Donner une explication concernant les différences entre les deux types de sol (rhizosphérique/non rhizosphérique). (3 points)

Le premier chiffre du « soil code » correspond à une catégorie de sol (sols de 1 à 10) et le second chiffre, correspond à un sol rhizosphérique (1) et non rhizosphérique (2).

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 ⁻	Total PLFAs	Bacteria	Fungi	Actinomycetes
									R/S ratio			
Soil with granitic gneiss												
1-1	15.66 a	6.93 a	0.66 b	1.85 a	3.54 a	2.75 a	0.095 b	1.28 a				
1-2	7.04 b	3.85 b	0.11 c	0.75 b	1.78 b	1.89 b	0.033 d	1.28 a	2.22	2.07	6.00	1.80
2-1	17.76 a	7.97 a	0.90 a	1.49 a	3.86 a	2.96 a	0.113 a	1.90 a				
2-2	9.49 b	4.01 b	0.26 c	0.83 b	2.09 b	1.52 b	0.064 c	1.88 a	1.87	1.99	3.46	1.80
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				
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	2.09	2.03	3.09	1.78
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				
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	2.17	2.32	3.08	1.86
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				
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	3.34	3.40	4.73	2.84
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				
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	4.66	4.46	10.59	5.32
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				
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	2.94	2.60	12.33	3.54
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				
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	3.16	2.86	10.44	3.63
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				
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	2.10	2.50	2.22	2.08
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				
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	1.72	1.68	4.17	1.31

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

NOM, Prénom : _____

Sujet de Ludwig Jardillier/Écologie microbienne des milieux aquatiques (4 points)

Q1. Définissez ce qu'est l'écologie. (1 point)

Q2. De quelles manières se dispersent les microorganismes? (1,5 points)

Q3. Quelles sont les caractéristiques des taxons rares? (1,5 points)