

Contexte

Apriona germari est un coléoptère (*Coleoptera*) dont la larve se développe au cœur du bois, dans la moelle. Des enzymes sont nécessaires pour dégrader la paroi des cellules végétales. Une des enzymes, nommée GH5 (glycoside hydrolase), dégradant la cellulose, serait présente dans le génome de ce coléoptère. Elle aurait été acquise, grâce à un transfert horizontal de gènes, depuis une espèce de bactérie comme (*Cytophaga hutchinsonii*).

On cherche des arguments en faveur de l'existence de plusieurs transferts horizontaux de gènes, depuis différents microorganismes vers les coléoptères, leur permettant de digérer les composants de la paroi cellulaire du bois.

Consignes**Partie A : Appropriation du contexte et activité pratique (durée recommandée : 40 minutes)**

La stratégie adoptée consiste à vérifier la présence de cellulose dans les parois des cellules de la moelle du bois par observation d'une coupe transversale colorée et à **rechercher**, en réalisant un BLAST, la présence de la séquence de l'enzyme GH5 bactérienne dans le génome du coléoptère.

Appeler l'examineur pour vérifier les résultats de la mise en œuvre du protocole.

Partie B : Présentation et interprétation des résultats, poursuite de la stratégie et conclusion (durée recommandée : 20 minutes)

Présenter et traiter les résultats obtenus, sous la forme de votre choix et les **interpréter**.

Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examineur pour vérifier votre production.

Proposer une poursuite de stratégie permettant de montrer que d'autres transferts de gènes ont permis aux coléoptères phytophages de digérer d'autres composants de la paroi cellulaire.

Appeler l'examineur pour présenter votre proposition à l'oral et obtenir une ressource complémentaire.

Conclure, à partir de l'ensemble des données, sur l'existence de plusieurs transferts horizontaux de gènes, depuis différents microorganismes vers les coléoptères, leur permettant de digérer les composants de la paroi cellulaire du bois..

Protocole

Matériel :

- échantillon de bois
- lames de rasoir
- pince fine
- quatre verres de montre
- eau acétique à 1%
- carmino vert
- eau distillée
- lames et lamelles
- chronomètre
- microscope optique
- accès à la plateforme NCBI : Centre national d'information sur la biotechnologie (nih.gov)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/?term=>
- accès à l'Outils BLAST
<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- fiche technique correspondante.

Étapes du protocole à réaliser :

- **réaliser** une double coloration d'un échantillon de bois, pour cela :
 - **réaliser** plusieurs coupes transversales fines de l'échantillon ;
 - **placer** les 5 minutes dans l'eau acétique ;
 - **colorer** 3 minutes dans une solution de « carmino vert » ;
 - **rincer** à l'eau distillée jusqu'à disparition de l'excédent de colorant ;
- **observer** l'échantillon entre lame et lamelle au microscope optique.
- **rechercher** dans NCBI la séquence peptidique de l'enzyme GH5 de *Cytophaga hutchinsonii* (**nommée** : WP_011585483.1) ;
- **rechercher** la séquence « FASTA » correspondante pour la **copier et coller**
- **réaliser** une comparaison par alignement (BLAST) de cette séquence peptidique avec les séquences peptidiques répertoriées de *Apriona germari*.

Précautions de la manipulation :



Ressources

Photographie d'une larve de coléoptère *Apriona germari* dans le bois



<https://gd.eppo.int/taxon/APRIGE/photos>

La plateforme NCBI : donne accès à l'information biomédicale et génomique. C'est une banque de gènes, d'ARNm et de protéines de très nombreuses espèces animales et végétales.

L'outil BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) permet de déterminer des parentés entre des gènes ou des protéines, des relations fonctionnelles ou évolutives entre des séquences. À partir d'une séquence nucléotidique ou protéique introduite par l'utilisateur, l'outil BLAST réalise un alignement des séquences et propose parmi les séquences répertoriées celles ayant des régions similaires homologues avec la séquence introduite.

Interprétation des résultats :

Per.ident : Plus le pourcentage d'identité est élevé, plus les 2 séquences sont similaires. Au-dessus de 50 %, le résultat est considéré comme fiable.

E-value : Expectation value (ex $1e-50 = 10^{-50}$) : estime la probabilité de trouver le même résultat par hasard. Plus la valeur est faible (proche de 0), meilleure est le résultat. Au-dessus de 0.001, les résultats ne sont pas bons.

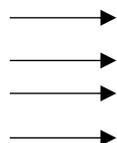
Les enzymes permettant la dégradation des composés de la paroi des cellules végétales :

La paroi des cellules végétales est constituée de molécules différentes, chacune dégradée par une enzyme spécifique :

Molécule dégradée

Enzyme

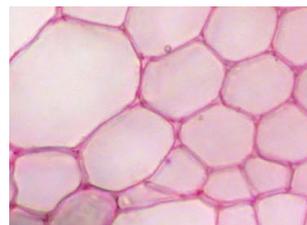
Cellulose
Xylane
Mannose
Pectine



Cellulase
Xylanase
Mannase
Pectinase

Résultats de coloration au « carmino vert » : La coloration des coupes végétales par le « carmino vert » permet de colorer deux composants des parois

Cellulose en rose



Lignine en vert

