

Origine endosymbiotique des plastes -Correction

d'après AGRO 2009

I-présentation d'une cyanobactérie

1-La coloration Gram colore en violet les peptidoglycanes des bactéries gram+. Les bactéries qui possèdent une membrane lipopolysaccharidique externe, comme les cyanobactéries, ne sont pas colorées en violet (mais en rose) et sont qualifiées de **gram-**

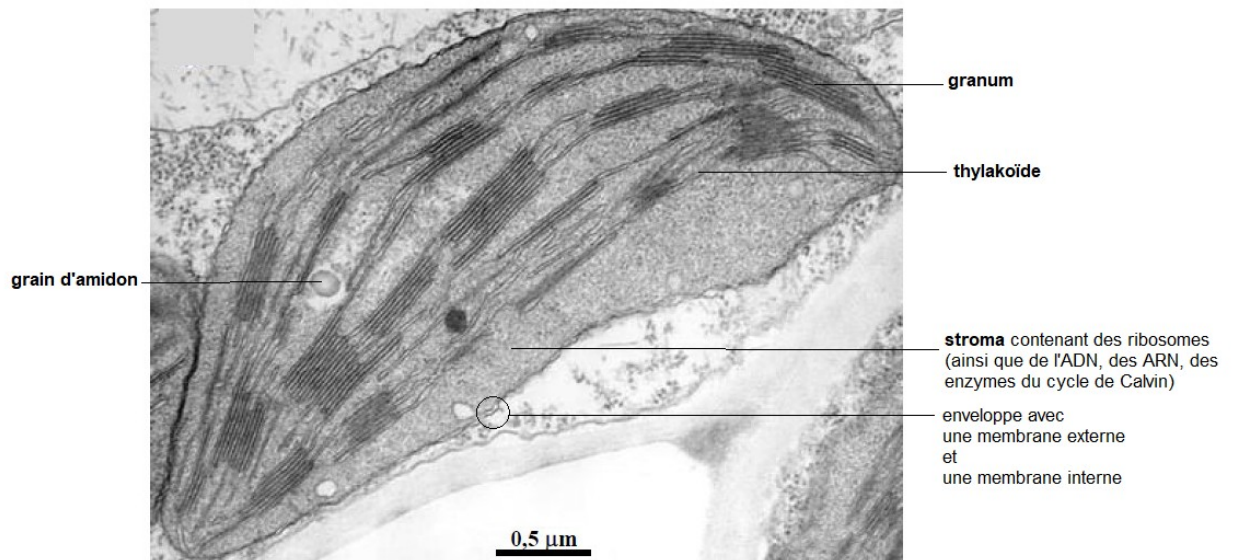
RQ il y a une erreur dans le sujet : remplacer MET par MEB

II-étude phénotypique de différents plastes

cas du plaste à 2 membranes des chlorobiontes

2- le cliché correspond à une observation au **microscope électronique à transmission (MET)**. On place une coupe cellulaire (en général traité pour augmenter l'interaction avec les électrons) sur le trajet d'un faisceau d'électron (dirigé avec des lentilles magnétiques). Les électrons sont plus ou moins absorbés en traversant les structures cellulaires. Les électrons transmis sont détectés. La densité d'électron détectée est présentée sur une image en densité de gris. Cette technique permet d'observer l'ultrastructure cellulaire avec une résolution de quelques nm.

3 - légendes du plaste



4- Arguments en faveur d'une origine cyanobactérienne du chloroplaste :

doc 1.1 : La **taille** du chloroplaste (5 μm) est du même ordre de grandeur que la taille d'une cyanobactérie. Les deux possèdent des **thylakoïdes** et des **réserves**

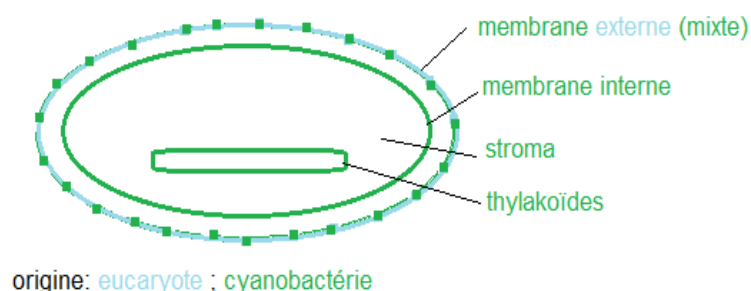
doc 1.2: La **composition de la membrane interne** ressemble à celle de la membrane plasmique des cyanobactéries.

La **membrane externe** a une composition mixte entre la membrane externe des cyanobactéries et des eucaryotes (comme si elle résultait de la fusion entre la membrane externe des cyanobactéries et la membrane d'une vésicule d'endocytose d'un eucaryote)

Certains chloroplastes possèdent des **peptidoglycanes** entre les 2 membranes, comme c'est le cas pour les cyanobactéries

Connaissances : Le chloroplaste possède un ADN circulaire, l'organisation des gènes est proche des ADN procaryotes. Les ribosomes ont la taille et composition des ribosomes procaryotes

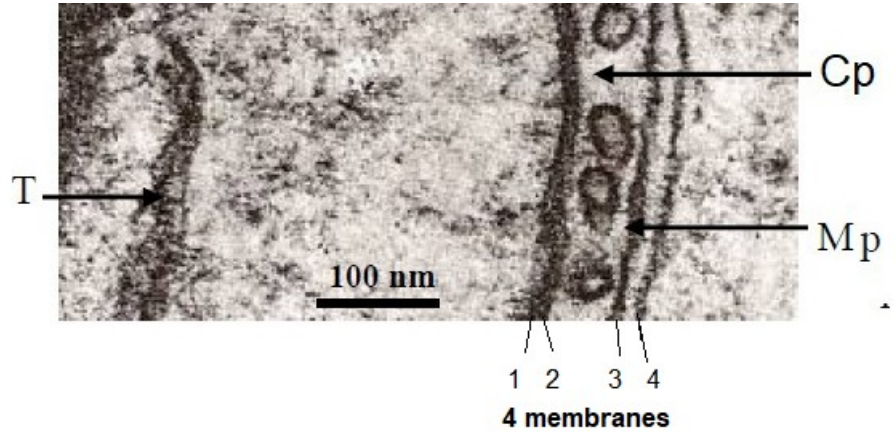
5-schéma d'un chloroplaste =>



Cas du chloroplaste à 4 mb des Cryptophytes

6- localisation des 4 mb =>

7-caractéristiques eucaryotes du compartiment periplastidial : sa compartimentation : **réticulum + nucléomorphe voisin d'un noyau**



8- La sonde S1 est un témoin permettant de vérifier l'existence d'un génome eucaryote.

La large bande à plus de 250kb peut correspondre à des chromosomes nucléaires (faisant plus de 300kb), les deux bandes comprises entre 150kb et 250kb peuvent correspondre à 2 chromosomes du nucléomorphe (ou 3 si la résolution n'est pas suffisante pour distinguer le chromosome à 190 kb du chromosome à 195kb). La sonde S1 confirme ainsi l'hypothèse que le nucléomorphe a une origine eucaryote.

RQ : je ne comprends pas l'information « 103 paires de bases » de l'énoncé...

La sonde S4 est un témoin permettant de vérifier l'existence d'un génome dans le stroma. La piste S4 contient une bande hybridée avec une sonde détectant les ARNs du stroma. Cette bande fait un peu moins de 150kb, elle doit correspondre à l'ADN de 120kb présent dans le stroma. La sonde S4

Les pistes S1 et S4 ne présentent pas de bandes communes, confirmant que le génome du stroma n'est pas d'origine eucaryote.

La piste S2 hybridée avec une sonde spécifique de *Cryptomonas*, présente une bande de taille comparable aux chromosomes nucléaires : **La sonde S2 se fixe donc sur un chromosome nucléaire.**

La piste S3 hybridée avec une sonde spécifique de *Cryptomonas*, présente 2 bandes de taille comparables aux chromosomes du nucléomorphe : **La sonde S3 se fixe donc sur au moins 2 des 3 chromosomes du nucléomorphe.**

RQ : La piste C permet a priori de vérifier que tous les chromosomes sont bien présents, mais le contraste n'est pas suffisant et seuls les chromosomes nucléaires sont bien détectables...

9- On observe sur le doc 4 une hybridation des sondes S4, spécifique du génome du stroma, S2 spécifique du génome nucléaire (docB) et S3 spécifique du génome du nucléomorphe (docB), ce qui indique la présence des ARNm de ces 3 génomes. **Les 3 génomes de *Cryptomonas* sont donc fonctionnels.**

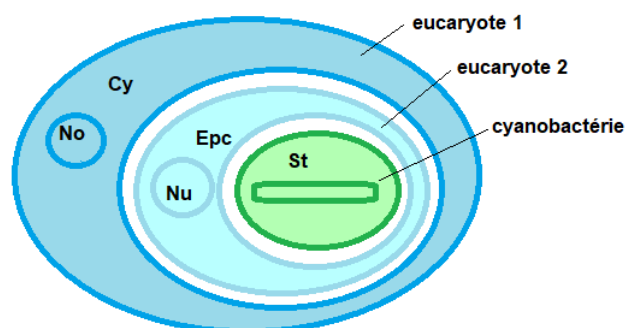
Les ARNs codés dans le noyau et le nucléomorphe (docB) sont localisés uniquement dans le cytosol et l'espace périplasmique alors que les ARNs du stroma sont présents uniquement dans le stroma. **Ceci indique au moins deux systèmes indépendants d'expression génétique.**

L'ARNm repéré par S2 et codé dans le noyau n'est présent que dans le noyau (lieu de sa synthèse) et le cytoplasme (lieu de sa traduction). L'ARNm repéré par S3 et codé dans le nucléomorphe n'est lui présent que dans le nucléomorphe (lieu de synthèse) et l'espace périplasmique : on peut penser qu'il est traduit dans cet espace périplasmique à partir des ribosomes codés aussi dans le nucléomorphe.. **On peut donc penser que les gènes nucléaires et ceux du nucléomorphe sont traduits de façon indépendante.**

Il y a donc 3 systèmes d'expression dans *Cryptomonas* :

- les ribosomes du cytoplasme, codés par le noyau, traduisent les ARNm des gènes nucléaires,
- les ribosomes de l'espace périplastidial, codés par le nucléomorphe, traduisent les ARNm des gènes du nucléomorphe
- les ribosomes du stroma, codés par le génome du stroma, traduisent les ARNm des gènes présents dans le stroma

Ceci suggère 3 origines phylogénétiques indépendantes pour ces génomes, qui pourrait résulter d'une double endosymbiose : une cyanobactérie en symbiose avec un eucaryote aurait pu être phagocytée par un autre eucaryote.



No: noyau; Cy: Cytoplasme; Nu: nucléomorphe; Epc: espace périplastidial; St: stroma

10- schéma d'un cryptophyte =>

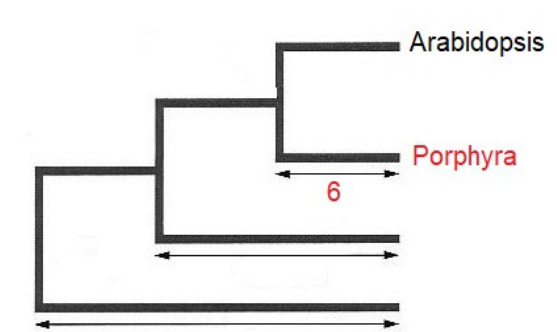
III- apport des phylogénies moléculaires

11- On constate que les coefficients d'association sont supérieures à 0,2 au sein d'un même groupe phylogénétique comme les eucaryotes (espèces 1 à 3), les eubactéries (espèces 4 à 8) et archées (espèces 10 à 13) mais inférieur à 0,15 entre des espèces appartenant à des groupes différents. Le coefficient d'association semble donc refléter la phylogénie : plus le coefficient est important, plus la parenté est importante.
Le coefficient d'association entre l'ARNr du chloroplaste et celui des procaryotes est supérieur à 0,19. Il est même de 0,31 avec cyanobactérie *Aphanocapsa*. C'est le coefficient le plus grand parmi les espèces étudiées, indiquant que la séquence de l'ARNr de cette cyanobactérie est la plus proche de la séquence de l'ARNr du chloroplaste. On peut donc supposer une parenté plus importante entre ces 2 ARN, **ce qui peut s'expliquer si le chloroplaste a évolué à partir d'un ancêtre commun avec cette cyanobactérie.**

12-

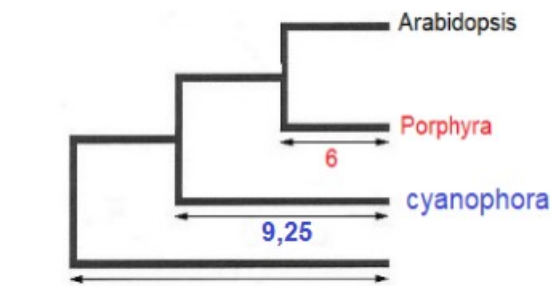
	<i>Arabidopsis</i>	<i>Anabaena</i>	<i>Cyanophora</i>	<i>Porphyra</i>
<i>Arabidopsis</i>	0,00	-	-	-
<i>Anabaena</i>	38	0,00	-	-
<i>Cyanophora</i>	20	28	0,00	-
<i>Porphyra</i>	12	31	17	0,00

13- étape 1 : regroupement d'*A.thaliana* et de *Porphyra*, dont les génomes chloroplastiques ne présentent que 12 % de différence, soit une distance de 6 ua de la racine (= dernier ancêtre commun aux 2 plastes). La matrice des distances devient après ce regroupement :



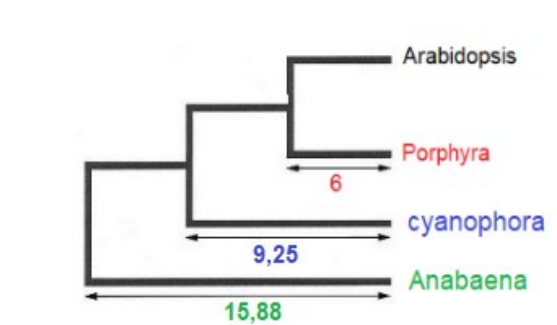
	A.th + porphyra	Anabaena	Cyanophora
A.th + Porphyra	0	-	-
Anabaena	$(38+31)/2=34,5$	0	-
Cyanophora	$(20+17)/2=18,5$	28	0

étape 2 : regroupement de (A.th + *Porphyra*) et *Cyanophora* qui ne présentent que 18,5 % de différence, soit une distance de 9,25 ua de la racine (= dernier ancêtre commun aux 3). La matrice des distances devient après ce regroupement :



	A.th + porphyra+ cyanophora	Anabaena
A.th + Porphyra + cyanophora	0	-
Anabaena	$34,5 + 18,5)/2=31,75$	0

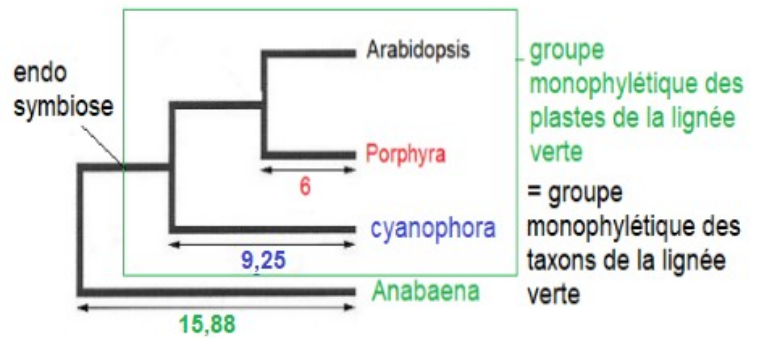
étape 3 : on place le dernier taxon à une distance de $31,75/2= 15,88$ de la racine (=ancêtre commun aux 4 taxons)



Phylogramme (distances indiquées en%)

14-Les plastes de la lignée verte possèdent un ancêtre commun exclusif (=qui n'est pas aussi un ancêtre des cyanobactéries), **ils forment donc un groupe monophylétique.**

Ce groupe monophylétique concorde avec celui construit à partir des séquences nucléaires des organismes de la lignée verte, ce qui permet de conclure qu'**un seul évènement d'endosymbiose s'est produit, chez l'ancêtre commun à l'origine de la lignée verte.**



15- question difficile à comprendre à cause de mon erreur de mise en page. La question 15 devait figurer AVANT le doc 3.3 et « cette information » fait référence à « le caractère monophylétique ou polyphylétique déterminé à partir des ARNr 16S pour les plastes de la lignée verte s'applique aussi aux plastes à 4 membranes de Cryptomonas theta et à ceux de Chlorarachnion sp 1. » Indépendamment de mon erreur de mise en page je trouve que cette question n'est pas clairement formulée...

Les séquences du stroma appartiennent à des clades de la lignée verte, comme les séquences des nucléomorphes : le nucléomorphe de Cryptomonas appartient au groupe des Rhodophytes et Chlorarachnion appartient au groupe des Chlorobiontes.

Cependant les clades des nucléomorphes sont différents des clades des noyaux. Pour l'ARNr nucléaire, on constate que Cryptomonas et Chlorarachnion appartiennent à deux clades différents, respectivement Cryptophytes et Chlorarachnophytes

RQ : Un clade est un groupe formé par tous les descendant d'un ancêtre commun. C'est un synonyme de groupe monophylétique.

16- Pour expliquer la position phylogénétique des organismes à plastes à 4 membranes, on peut imaginer 3 évènements d'endosymbioses :

- Un premier évènement d'endosymbiose entre une cyanobactérie et un eucaryote a formé un plaste à 2 mb chez l'ancêtre de la lignée verte. Appelons le E1.
- Un second évènement d'endosymbiose a eu lieu plus tard entre un descendant de E1 (un Rhodophyte) et un eucaryote Cryptophyte, ce qui a formé Cryptomonas, avec un plaste à 4 mb.
- Un troisième évènement d'endosymbiose a eu lieu entre un autre descendant de E1 (un Chlorobionte) et un Chlorarachnophyte, ce qui a formé Chlorarachnion avec un plaste à 4 mb aussi.