

Exercice Phylogénie des algues

1.1. Par la méthode UPGMA (phénogramme)

On cherche à préciser les modalités d'acquisition, au cours de l'évolution, des chloroplastes par les eucaryotes photosynthétiques. On se limite aux Eucaryotes possédant des plastes à deux ou quatre membranes.

Les plastes à deux membranes se rencontrent dans la lignée verte, qui regroupe les Glaucophytes, les Chlorobiontes et les Rhodophycées.

On dispose des séquences partielles des gènes d'ARNr 16S du stroma de plastes d'organismes de la lignée verte ou du cytoplasme de cyanobactéries.

Pour faciliter la lecture, les séquences sont données sous la forme d'un tableau dans lequel la séquence d'*Arabidopsis thaliana* sert de référence :

Un nucléotide absent est signalé par un astérisque.

Un nucléotide identique à celui de la séquence d'*Arabidopsis thaliana* est indiqué par un tiret.

1	C	T	G	A	C	G	G	A	G	G	A	A	T	G	C
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	A	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	C	G	C	G	T	G	G	A	G	G	T	A	*	G	A
	T	-	G	-	-	-	*	-	-	C	G	T	G	-	-
	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	G	T	A	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-
31	A	G	G	C	C	C	A	C	G	G	G	T	C	C	T
	-	-	-	-	T	-	T	T	C	C	-	-	T	G	G
	C	-	-	-	T	T	G	T	-	-	-	-	T	G	-
	-	-	-	-	T	-	G	-	-	-	-	-	T	G	-
46	G	A	A	C	T	T	C	T	T	T	T	C	C	C	A
	C	-	-	-	C	C	-	-	-	-	-	T	T	-	-
	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-
	A	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	T	-	-
61	G	A	G	A	A	G	A	A	G	*	*	*	C	A	A
	-	G	-	-	G	T	-	T	A	C	C	A	A	-	-
	-	G	-	-	G	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-
76	T	G	A	C	G	G	T	A	T	C	T	G	G	G	G
	-	-	-	A	-	-	-	-	C	T	-	-	A	A	C
	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	A	A	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	A	A	-
91	A	A	T	A	A	G	C	A	T	C	100				
	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	<i>Arabidopsis thaliana</i> (Chlorobionte)				
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Anabaena</i> sp. (Cyanobactérie)				
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Cyanophora paradoxa</i> (Glaucophyte)				
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Porphyra purpurea</i> (Rhodophyte)				

Ce tableau permet de *construire* une matrice de distance :

- La comparaison s'effectue sur un total de 100 nucléotides.
- Un nucléotide absent (signalé par un astérisque) est compté comme une différence dans la séquence.
- La distance est égale au pourcentage de nucléotides qui diffèrent entre les séquences des deux espèces considérées.

	<i>Arabidopsis</i>	<i>Anabaena</i>	<i>Cyanophora</i>	<i>Porphyra</i>
<i>Arabidopsis</i>	0,00	-	-	-
<i>Anabaena</i>		0,00	-	-
<i>Cyanophora</i>			0,00	-
<i>Porphyra</i>				0,00

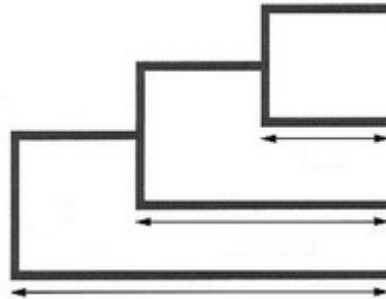
Cette matrice permet ensuite de construire un arbre phylogénétique des plastes, en admettant que :

- Les séquences évoluent à la même vitesse dans toutes les branches de l'arbre.
- Les pourcentages calculés reflètent les différences pour la séquence totale de l'ARN 16S.

Pour cela on utilise la méthode suivante (méthode UPGMA) :

- Dans la matrice des distances, trouver les taxons i et j pour lesquels la distance dij est la plus petite.
- Mettre la racine à égale distance de i et de j, soit à dij/2.
- Créer un nouvel ensemble U incluant i et j. Si i et j sont les deux derniers ensembles, l'arbre est complet.
- Recalculer une matrice de distance en prenant comme distance de U à chaque taxon k, la moyenne des distance dki et dkj : $dUk = (dki + dkj) / 2$
- À partir de cette nouvelle matrice (dans laquelle il y a une entrée de moins car i et j ont été agglomérés en un ensemble U), retourner à la première étape.

Arbre à compléter et à commenter :



2. Établissement d'une phylogénie des taxons

On utilise une matrice de caractères pour rechercher l'arbre le plus parcimonieux.

	Choanoflagellés = extra groupe	<i>Polysiphonia</i> (Rhodophycées)	<i>Chlamydomonas</i> (Chlorophycées)	<i>Fucus</i> (Phéophycées)
Nombre de flagelles	1	2	2	2
Chloroplastes avec chlorophylle a	Non	Oui	Oui	Oui
Pigment accessoire	Non	Phycocyanine	Chlorophylle b	Fucoxanthine
Nombre membrane chloroplaste	0	2	2	4
Flagelles hétérocontes	Non	Non	Non	Oui
Microtubules avec tubuline	Oui	Oui	Oui	Oui
Chlorophylle c	Non	Non	Non	Oui
Vie fixée	Non	Oui	Non	Oui
Flagelles avec 2 rangées d'expansion	Non	Oui	Oui	Non
Réserves avec amidon	Non	Oui	Oui	Non

Représenter les trois arbres possibles, puis en utilisant la matrice, indiquer lequel (lesquels) est (sont) le plus parcimonieux. Indiquer quelles sont les homologies probables et s'il y a des homoplasies.

3. Caractéristiques biochimiques et origine des plastes

L'étude biochimique de l'enveloppe des chloroplastes à deux membranes, en particulier l'analyse de leurs lipides, permet de dégager les caractéristiques suivantes :

Groupe	Glaucophytes	Chlorobiontes, Rhodophytes
Limitante		
Membrane externe • Hémi-membrane externe	Composition procaryote, de type membrane lipopolysaccharidique, avec des lipides typiques des eucaryotes	
• Hémi-membrane interne	Composition procaryote de type membrane lipopolysaccharidique	
Lipoprotéines	Absentes	
Peptidoglycane	Situé entre la membrane interne et la membrane externe	Absent
Membrane interne	Composition procaryote, de type membrane plasmique	

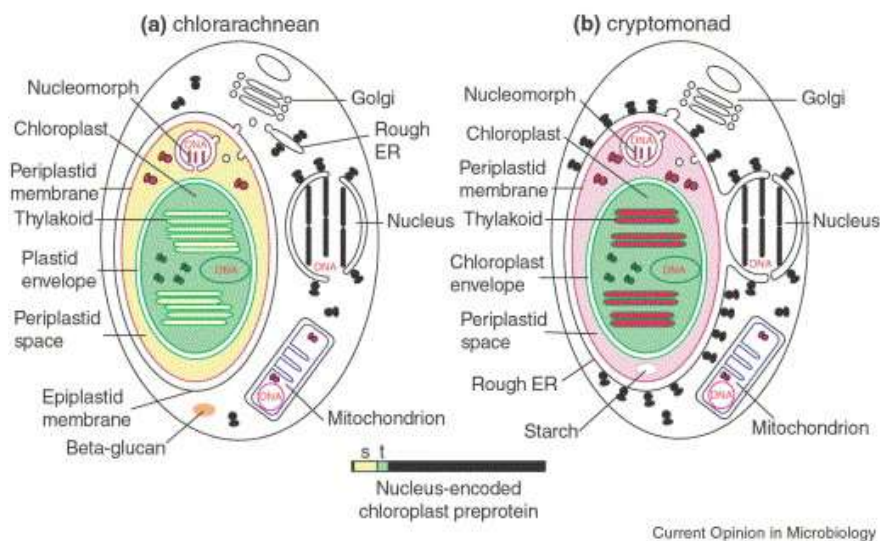
Quelle origine évolutive ces données suggèrent-elles pour le chloroplaste à deux membranes ?

Utiliser ce tableau pour argumenter une endosymbiose à partir d'une cyanobactérie.

Quelles informations complémentaires peut-on rechercher pour tester ce scénario ?

4. Origine des plastes à 4 membranes

De tels plastes sont présents dans 3 groupes : les Hétérocontes (cf. Fucus et diatomées), les Chlorarachniophytes et les Cryptophytes. Ces deux derniers groupes sont constitués d'organismes unicellulaires dont l'ultrastructure est illustré sur la figure qui suit.



L'étude de la structure des plastes de ces trois groupes révèle les caractéristiques suivantes :

Groupe	Cryptophytes	Hétérocontes	Chlorarachniophytes
Caractéristique			
Membrane externe	En continuité avec le reticulum endoplasmique et l'enveloppe nucléaire Ribosomes accolés sur le feuillet cytosolique		Ni continuité avec le réseau endomembranaire Ni ribosomes accolés
Ribosomes 70S	Présents dans le stroma		
Compartiment périplastidial	Oui	Non	Oui
• Reticulum endoplasmique chloroplastique	Oui		Non
• Nucléomorphe	Oui		Oui

Des hybridations *in situ* sont réalisées sur des coupes ultrafines de *Cryptomonas* (Cryptophytes), en utilisant des sondes spécifiques d'ARN de la petite sous-unité ribosomique (ARNsr).

Les sondes utilisées sont :

- soit des sondes universelles, détectant tous les ARNsr cytoplasmiques eucaryotes (sonde S1) ou du stroma chloroplastique (sonde S4) ;
- soit des sondes correspondant à deux gènes spécifiques de *Cryptomonas* (sonde S2 et sonde S3).

Le résultat des hybridations est consigné dans le tableau suivant :

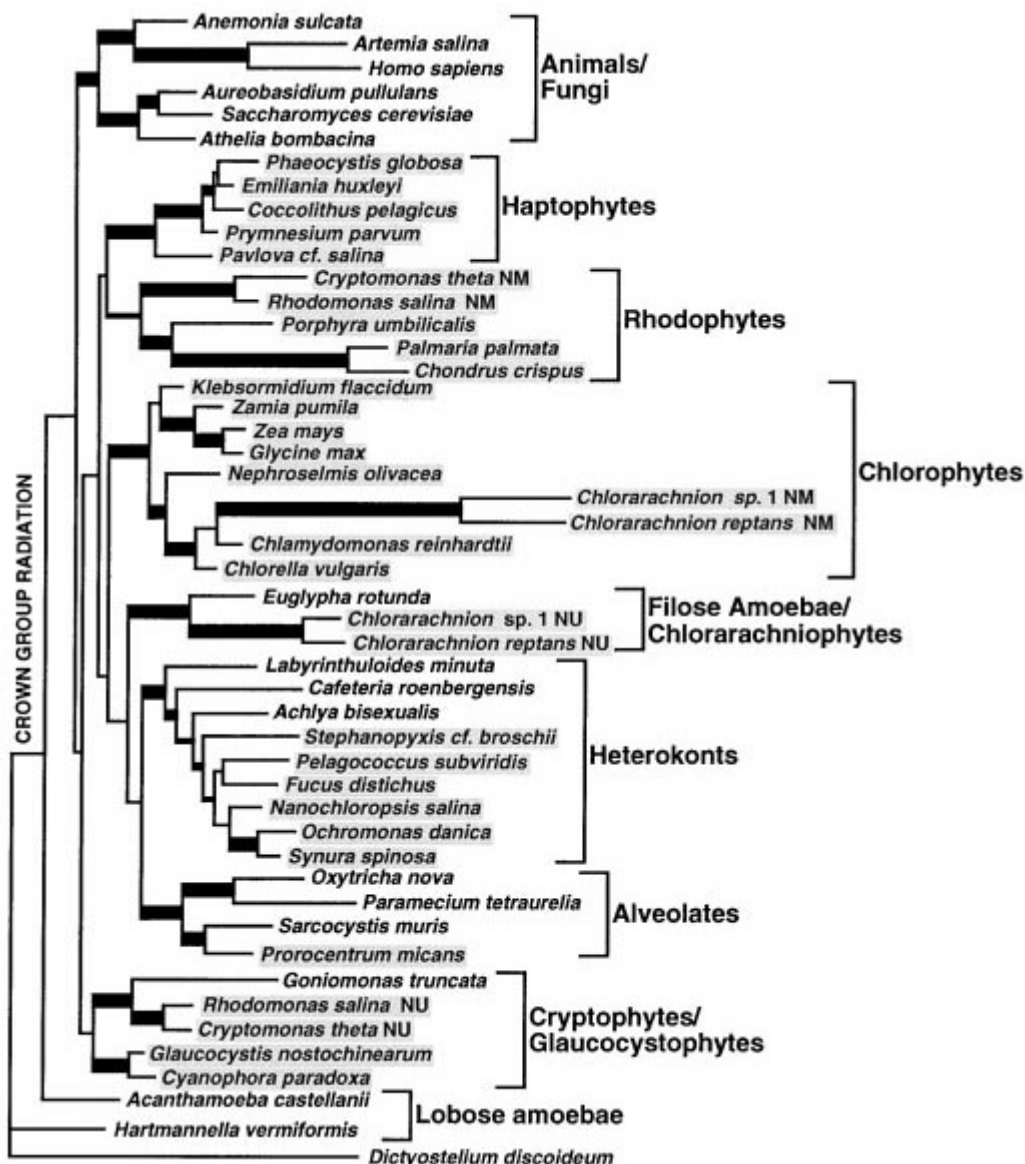
	Sonde S1	Sonde S2	Sonde S3	Sonde S4
Noyau	+	+	-	-
Cytosol	+	+	-	-
Stroma	-	-	-	+
Nucléomorphe	Non étudié	-	+	-
Espace périplastidial	+	-	+	-

+ : hybridation positive - : pas d'hybridation

Analyser ce tableau.

En quoi les résultats sont-ils surprenants ?

La figure suivante montre l'arbre phylogénétique des Eucaryotes, construit à partir des séquences des gènes nucléaires codant les ARNr des petites sous-unités ribosomiques (1995). NU et NM indiquent les séquences contenues respectivement dans le noyau et dans le nucléomorphe de *Chlorarachnion* et de *Cryptomonas*.



Que peut on conclure de la position des séquences de *Chlorarachnion* et de *Cryptomonas* dans cet arbre ?

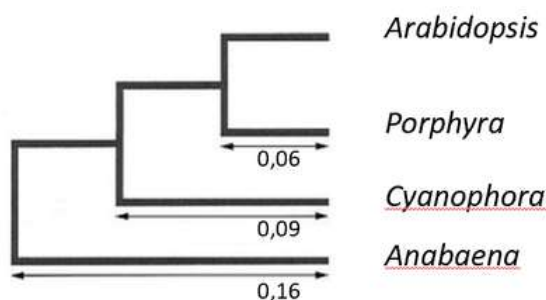
Par une série de schémas, indiquer un mécanisme possible à l'origine des plastes à 4 membranes.

Eléments de correction

Phénogramme :

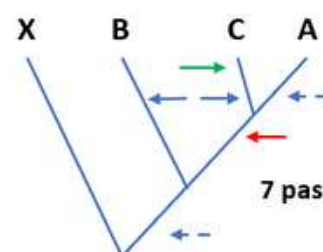
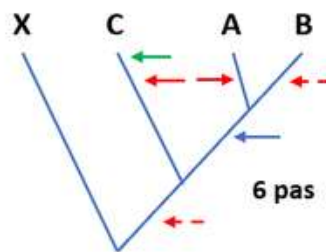
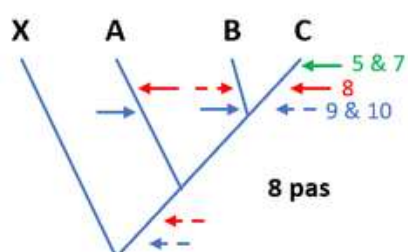
	<i>Arabidopsis</i>	<i>Anabaena</i>	<i>Cyanophora</i>	<i>Porphyra</i>		Ara + Por	Ana	Cya
<i>Arabidopsis</i>	0,00	-	-	-	Ara + Por	0	-	-
<i>Anabaena</i>	0,38	0,00	-	-	Ana	0,345	0	-
<i>Cyanophora</i>	0,20	0,29	0,00	-	Cya	0,185	0,029	0
<i>Porphyra</i>	0,12	0,31	0,17	0,00				

	Ara + Por + Cya	Ana
Ara + Por + Cya	0	-
Ana	0,327	0



Cladogramme :

Caractère n°	Choanoflagellés = extra groupe X	<i>Polysiphonia</i> (Rhodophycées) A	<i>Chlamydomonas</i> (Chlorophycées) B	<i>Fucus</i> (Phéophycées) C
1	0	1	1	1
2	0	1	1	1
3	0	1	1	1
4	0	1	1	1
5	0	0	0	1
6	0	0	0	0
7	0	0	0	1
8	0	1	0	1
9	0	1	1	0
10	0	1	1	0



Arbre le plus parcimonieux

— Caractère non informatif

— Transformation

- - - Transformation alternative