

## FORMER LES ÉLÈVES À DES TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET DE BIOINFORMATIQUE ET APPRÉHENDER LE CONCEPT D'HOLOBIONTE

### Thème

Thème 1 - La Terre, la vie et l'organisation du vivant

### Note d'intention

Cette séquence n'a pas vocation à être modélisante. C'est une proposition qui doit permettre à des élèves de comprendre que la non-symbiose n'existe pas : à tout organisme correspond en réalité un assemblage fonctionnel d'organismes, l'holobionte, résultat et produit de l'évolution. L'étude s'appuie sur la mise en œuvre de techniques de biologie moléculaire (PCR, électrophorèse). Elle permet de caractériser les espèces composant l'holobionte photosymbiotique, *Symsagittifera roscoffensis*, appelé « ver » de Roscoff. Les résultats et les analyses montrent que le photosymbiote microalgal *Tetraselmis convolutae* est acquis dès les premiers stades du développement, dédiés à la mise en place d'une photosymbiose fonctionnelle et nécessaire. Cette séquence permet de travailler la capacité des élèves à concevoir une démarche expérimentale, mais aussi de leur faire découvrir des outils de bioinformatique utilisés dans le monde de la recherche.

### Mots-clés

Biodiversité – Hérité non fondée sur l'ADN – Symbiose – Photosymbiose – Holobionte – Microbiote – Biotechnologie – PCR – Electrophorèse – Association non héréditaire – Diversification phénotypique – Génie génétique – Bioinformatique – Découverte des métiers – Parcours avenir.

### Références au programme

**La Terre, la vie et l'organisation du vivant** - Génétique et évolution : des mécanismes contribuant à la diversification du vivant.

### Connaissances

D'autres mécanismes contribuent à la diversité du vivant. La diversification phénotypique des êtres vivants n'est pas uniquement due à la diversification génétique. D'autres mécanismes interviennent comme les associations non héréditaires (pathogènes ou symbiotes ; cas du microbiote acquis).

### Compétences

#### Pratiquer des démarches scientifiques

- Concevoir et mettre en œuvre des stratégies de résolution.
- Observer, questionner, formuler une hypothèse, en déduire ses conséquences testables ou vérifiables, expérimenter, raisonner avec rigueur, modéliser, argumenter.
- Interpréter des résultats et en tirer des conclusions.

#### Pratiquer des langages

- Communiquer sur ses démarches, ses résultats et ses choix, en argumentant.

## SOMMAIRE

### *Caractérisation de l'holobionte *Symsagittifera roscoffensis* et du moment de l'acquisition de son photosymbiote par des techniques de biologie moléculaire.* 3

<b>Objectif(s) et scénario</b>	<b>3</b>
Connaissances construites et mobilisées	3
Capacité travaillée	4
Perspectives éducatives (Parcours avenir, Parcours citoyen, éducation au développement durable)	4
<b>Déroulement de la séquence</b>	<b>4</b>
Première séance (durée 2 heures) – Elle comporte 3 temps	5
Deuxième séance (durée 2 heures) – Elle comporte 3 temps	7
Une activité complémentaire envisageable (Annexe n°11).	8
Des prolongations : l'Homme, un holobionte	8
<b>Documents d'activité et ressources</b>	<b>9</b>
Annexe n°1 – Données générales sur les espèces associées dans l'holobionte <i>Symsagittifera roscoffensis</i> et leurs interactions métaboliques	9
Annexe n°2 – Conception d'une démarche scientifique mettant en œuvre des techniques de biologie moléculaire	13
Annexe n°3 – Principe de l'électrophorèse	19
Annexe n°4 – Principes d'une amplification par chaîne (PCR) d'une séquence d'ADN	20
Annexe n°5 – Fiche technique de préparation de la matrice algale	23
Annexe N°6 – Fiche technique de préparation de la matrice animale	24
Annexe n°7 – Fiche technique de préparation des microtubes à PCR	25
Annexe n°8 – Fiche technique pour le remplissage des gels d'électrophorèse	26
Annexe n°9 – Résultats pouvant être obtenus	27
Annexe n°10 – Réalisation d'un Blast pour identifier le symbiote algal principal du ver	28
Annexe n°11 – Réalisation d'arbres phylogénétiques avec des algorithmes modélisateurs d'évolution PhylML et FastTree de NGPhylogeny pour expliquer le spectre d'association du ver avec des partenaires microalgaux du genre <i>Tetraselmis</i>	32
Annexe n°12 – Les interactions entre espèces	42

## *Caractérisation de l'holobionte *Symsagittifera roscoffensis* et du moment de l'acquisition de son photosymbiote par des techniques de biologie moléculaire.*

### Objectif(s) et scénario

Cette séquence doit permettre de construire des connaissances sur un moteur de diversification des phénotypes, l'association fonctionnelle entre organismes. Elle s'appuie sur l'étude d'un organisme modèle marin, le ver de Roscoff (*Symsagittifera roscoffensis*), qui résulte d'une photosymbiose avec une espèce de microalgue (*Tetraselmis convolutae*).

On cherche à démontrer par la mise en œuvre de techniques de biologie moléculaire (Amplification par PCR de séquences nucléotidiques marqueurs de chacun des partenaires puis réalisation d'une électrophorèse) que cette symbiose (au sens large<sup>1</sup>) n'est pas héritée mais acquise au cours du développement précoce de l'holobionte.

#### Prérequis

À ce moment de l'année, les élèves ont acquis des connaissances sur le concept d'endosymbiose, et de l'héritage de certaines d'entre elles par voie cytoplasmique. (Référence Thème 1 - La complexification des génomes : transferts horizontaux et endosymbioses)

#### Remerciements

À Lucas Filleur, professeur de biologie-écologie (Lycée Théodore Monod, Le Rheu), co-rédacteur de cette ressource et co-réalisateur du kit pédagogique « L'holobionte *Symsagittifera roscoffensis* », sous la direction de Xavier Bailly, ingénieur de recherche CNRS responsable de l'équipe Modèles Marins Multicellulaires à Station biologique de Roscoff).

À Xavier Bailly, ingénieur de recherche (CNRS responsable de l'équipe Modèles Marins Multicellulaires à Station biologique de Roscoff), pour la conception du kit pédagogique « L'holobionte *Symsagittifera roscoffensis* », la mise à disposition des séquences des ADN<sup>r</sup> 18S pour deux populations de vers échantillonnées dans leurs habitats naturels.

Le kit pédagogique « L'holobionte *Symsagittifera roscoffensis* » est distribué par l'éditeur Jeulin.

#### Connaissances acquises et mobilisées

L'étude de cet exemple peut être l'occasion d'appréhender les concepts de **symbiose**, d'**holobionte** et de **phénotype étendu**, et ainsi comprendre qu'une association d'organismes et leurs interactions constituent **une unité de sélection** dans le cadre de l'évolution. La réalisation du cycle de vie du ver n'est possible que si l'association photosymbiotique est réalisée. L'expression des génotypes et la réalisation des phénotypes des différentes espèces partenaires est indispensable à la pérennité de *Symsagittifera roscoffensis*. Dans le cas présenté, l'acquisition des composantes microbiotiques (notamment le photosymbiote algal) par le ver résulte d'un héritage environnemental (non transmis par les géniteurs). Les pontes sont réalisées dans des milieux naturellement occupés par les microalgues libres.

1. Voir Annexe n°12 – Définitions des différents types d'interactions entre espèces.

« Un organisme "peut" et "est" plus de choses que son seul génome ne le permet (ou ne le promet). Ses symbioses lui confèrent un phénotype étendu ; il faut parfois considérer plus l'holobionte, l'organisme adjoint de ses partenaires microbiens, que l'organisme seul qui est une abstraction sans réalité écologique ni physiologique » (M.A. Selosse, « Jamais seul », 2017).

### Remarque

Cette situation contribue à placer les élèves en situation de re-mobiliser les connaissances acquises en génétique en classe de 1<sup>ère</sup> afin de comprendre que les connaissances des mécanismes impliqués dans la réplication de l'ADN ont permis de développer des techniques de biologie moléculaire permettant d'amplifier des séquences nucléotidiques (PCR) afin de les révéler (électrophorèse).

### Capacité travaillée

Le scénario pédagogique proposé a aussi pour objectif de travailler les compétences des élèves à **concevoir une démarche scientifique** pour résoudre un problème, mais aussi de former les élèves à des techniques rigoureuses de biologie moléculaire.

D'autres compétences scientifiques et de communication évaluées dans le cadre de l'épreuve d'évaluation des compétences expérimentales peuvent aussi être travaillées.

### Perspectives éducatives (Parcours avenir, Parcours citoyen, Éducation au développement durable)

La mise en œuvre de techniques de biologie moléculaire de laboratoire (génomique) pour déterminer les espèces en présence est aussi l'occasion :

- de faire découvrir aux élèves les méthodes et métiers de la recherche ;
- de donner le goût des sciences ;
- de conforter des choix d'orientation ;
- de sensibiliser les élèves aux enjeux de l'étude et de la préservation de la biodiversité au regard des perspectives de services potentiels qu'elle peut fournir à l'humanité : conception de systèmes supports vie bio-régénératifs pour le recyclage des déchets azotés, produire de l'oxygène, recycler du dioxyde de carbone, avoir une source d'alimentation et recycler les déchets du métabolisme dans le cadre de la conquête spatiale (pour les astronautes de l'ISS ou les voyages au long cours dans l'espace).  
<https://www.letelegramme.fr/soir/xavier-bailly-fait-entrer-la-biologie-marine-vivante-a-l-ecole-05-03-2020-12518178.php>

### Déroulement de la séquence

**Durée** : a minima 2 séances de 2 heures.

**Lieu** : salle de travaux pratiques.

**Pré-requis** : les élèves ont travaillé sur les théories d'endosymbioses primaires et secondaires à l'origine des chloroplastes et des mitochondries au sein des cellules eucaryotes. Ils savent que ces endosymbioses sont le produit de l'évolution et sont héritées verticalement par voie cytoplasmique. (référence Thème 1 - La complexification des génomes : transferts horizontaux et endosymbioses).

Retrouvez éducol sur



**Première séance (durée 2 heures) – Elle comporte 3 temps :**

- **un premier temps** permettant de caractériser l'association entre une espèce d'algue autotrophe du genre *Tetraselmis* et une espèce hétérotrophe (*Symsagittifera roscoffensis*) – Durée 30 minutes ;
- **un deuxième temps** pour concevoir une démarche mettant en œuvre des techniques de biologie moléculaire et argumenter l'acquisition du photosymbiote au cours des premiers stades de développement - Durée 40 minutes ;
- **Un troisième temps** de mise en œuvre de la PCR – Durée 50 minutes.

**Premier temps – Déroulement de la séquence**

Objectif : caractériser l'association entre une espèce de microalgue autotrophe du genre *Tetraselmis* et une espèce hétérotrophe, *Symsagittifera roscoffensis*.

**Déroulé :**

- **Présentation du cas d'étude : un ver marin chlorophyllien.** (Annexe n°1)  
L'observation sous la loupe binoculaire des différents stades peut être réalisée.
- **Formulation d'hypothèses** sur l'origine des propriétés chlorophylliennes et son intérêt pour le métabolisme du ver (présence de chloroplastes, activité photosynthétique).
- **Activité d'étude documentaire (Annexe n°1) permettant d'identifier :**
  - les deux espèces associées, un métazoaire et des microalgues internalisées et mobiles sous l'épiderme, constituant un « animalgue » ;
  - les transferts métaboliques dans ce cas de photosymbiose, et ainsi établir la notion de phénotype étendu ;
  - les avantages sélectifs de l'association.

**Remarque**

En fonction du temps dont on dispose, il est possible de faire cette présentation de façon magistrale.

À ce moment de la séquence, une discussion peut être menée sur le concept d'organisme. Au concept d'organisme isolé peut être substitué le concept universel et nécessaire de l'holobionte : une entité biologique constituée d'un assemblage d'organismes d'espèces différentes en interaction, dont le phénotype révèle des fonctionnalités originales.

C'est un moment propice pour discuter du concept de symbiose. Tous les organismes vivent en symbiose si on entend par symbiose toute interaction durable entre deux organismes quelle que soit la nature des échanges au sein du partenariat. (Voir annexe n°12)

- **Identification du problème : comment prouver que le photosymbiote *Tetraselmis convolutae* est acquis au cours des premiers stades du développement du ver ?**

## Deuxième temps – Déroulement de la séquence

**Objectif** : travailler la capacité à concevoir une stratégie de recherche mettant en œuvre des techniques de biologie moléculaire pour argumenter que les partenaires de cette association sont acquis progressivement (Annexe n°2).

- **Conception d'une démarche (Annexe n°2).**

Le travail des élèves (Annexe n°2, document 1) consiste à concevoir, par groupe, une stratégie de recherche permettant d'argumenter une acquisition du partenaire photosynthétique postérieurement à l'éclosion, **par l'identification de séquences d'ADN caractéristiques (marqueurs génétiques) des espèces.**

### Des données à fournir

- Les critères de réussite d'une démarche opérationnelle que le professeur peut présenter afin que chacun identifie les attendus.
- Des données sur les principes des techniques à utiliser : PCR et électrophorèse (Annexes n°3 et 4).
- Le matériel vivant pouvant être utilisé (les cocons, les juvéniles, les adultes, les micro-algues) et le rappel du cycle de vie.
- L'existence de séquences nucléotidiques marqueurs de chacune des espèces (de l'espèce de micro-algues *Tetraselmis convolutae*, du ver, du microbiote bactérien associé).

L'objectif de ce travail est non seulement de permettre aux élèves de s'approprier le sens du protocole qu'ils mettront en œuvre et du matériel utilisé (rôle des amorces, des dNTP, de la Taq polymérase, du thermocycleur, de l'électrophorèse), mais aussi les différents attendus d'une démarche rigoureuse de résolution de problème.

À ce moment, les élèves sont en situation de réinvestir les notions de répllication et d'activité enzymatique construites en spécialité en classe de première.

- **Mise en commun des propositions des élèves et construction d'une réponse commune.**

Ce temps permet de construire une correction (**une référence**) nécessaire pour mettre en œuvre un moment d'analyse des productions dans le cadre d'un dispositif d'évaluation (auto-évaluation, co-évaluation, ou évaluation croisée).

- **Mise en œuvre d'une évaluation croisée pour permettre l'identification des réussites, des erreurs, et de quelques conseils pour progresser.**

Un groupe d'élèves évalue la production d'un autre groupe et réciproquement en utilisant une grille d'analyse (Annexe n°2, document 2).

Les élèves évaluateurs sont amenés à expliciter leur évaluation et à se conseiller entre pairs.

Ainsi, chacun peut identifier ses réussites, ses erreurs, et bénéficier de conseils pour progresser, tant sur le fond que sur la forme (organisation et clarté du propos).

Le professeur peut aussi faire le point sur les principales erreurs commises, les corriger et compléter les conseils méthodologiques fournis entre pairs.

Ce temps est aussi pensé pour permettre à chacun de bien s'approprier le sens de la démarche et les étapes opératoires, voire de demander au professeur de les clarifier de nouveau, individuellement ou par groupe, avant de débiter les manipulations.

Dans cet exemple de séquence, les productions des élèves sont écrites. On aurait pu proposer de leur faire réaliser des **enregistrements audio ou vidéo** de leurs propositions afin de travailler avec eux les compétences orales en utilisant des outils numériques (tablettes numériques, téléphones portables...) leurs permettant d'analyser leurs productions.

### Troisième temps – Quelques remarques

**Objectif** : réaliser la PCR dont les amplicons seront exploités lors de la séance suivante pour la réalisation de l'électrophorèse.

- Il faut compter au minimum 30 minutes de manipulations.
- L'amplification dure environ une heure.
- Les annexes n° 5 et 6 détaillent les protocoles de préparation des matrices brutes. Il est conseillé de faire préparer les matrices brutes par les technicien(ne)s de laboratoire juste avant le TP pour ménager la sensibilité des élèves, et compte-tenu des contraintes techniques et de temps.
- L'annexe n° 7 détaille une fiche technique pour la préparation des microtubes à PCR par les élèves. Une autre répartition des tâches peut être proposée. Des pastilles de couleurs posées sur les microtubes peuvent aider les élèves à se repérer.
- Avant de commencer, un temps d'entraînement des élèves est à prévoir pour régler la micropipette, chausser les cônes de pipetage, prélever et déposer des micro-volumes. Cet entraînement peut être fait en pipettant et en déposant des liquides colorés.

### Deuxième séance (durée 2 heures) – Elle comporte 3 temps

#### Premier temps - Mise en œuvre de l'électrophorèse

- 30 minutes sont nécessaires pour le dépôt des solutions d'amplicons dans les gels précédemment coulés par les technicien(ne)s de laboratoire.

#### Remarque

Il est aussi possible de laisser les élèves faire la préparation de gels d'agarose à 1%.

- 20 à 30 minutes de migration sont nécessaires pour la migration des amplicons afin d'obtenir une séparation nette.

L'annexe n°8 propose une organisation du travail qui permet à un trinôme de réaliser le profil génétique d'un échantillon. Ainsi, 3 trinômes doivent mutualiser les résultats pour construire une conclusion.

#### Deuxième temps – Utilisation des outils numériques de la recherche pour identifier des espèces sur la base de leur empreinte génétique (Annexe n°10).

On dispose des séquences<sup>2</sup> nucléotidiques partielles de l'ADNr 18S correspondant aux marqueurs algaux séquencés à partir d'échantillons provenant de deux populations de vers. On cherche à déterminer l'espèce de micro-algues associée de façon spontanée au ver, en les comparant aux séquences référencées dans une banque internationale de gènes : Gene Bank de la plateforme NCBI.

2. Séquences fournies par Xavier Bailly, ingénieur de recherche, CNRS, Station biologique de Roscoff.

**Il s'agit de proposer un temps d'activité durant la migration des amplicons, mais aussi de faire découvrir aux élèves, les outils de bioinformatique utilisés dans la recherche.**

**Troisième temps - Révélation des gels, de lecture et d'analyse des résultats pour construire une réponse argumentée au problème : argumenter de l'acquisition du photosymbiote au cours des premiers stades de développement.**

Les élèves peuvent découvrir que la microalgue possède son propre microbiote bactérien. L'algue, elle-même est bien plus que son seul génome, elle est associée à une diversité d'organismes. Ceci permet d'appuyer le concept d'holobionte.

En fin de séquence, le professeur peut réaliser un apport de connaissances sur les applications biotechnologiques liés à l'utilisation des potentiels métaboliques de l'holobionte *Symsagittifera roscoffensis*. Les élèves peuvent être ainsi sensibilisés aux enjeux de la préservation et de l'étude de la biodiversité, et découvrir des métiers de la recherche et les applications biotechnologiques développées.

En prolongation, d'autres activités peuvent être proposées en fonction du temps dont on dispose. Comme par exemple, celle proposée en annexe n°11 qui permet, de découvrir des outils de bioinformatique utilisés quotidiennement dans le monde de la recherche.

#### **Une activité complémentaire envisageable (Annexe n°11).**

Expliquer la spécificité d'association du ver à son photosymbiote sélectionné, *Tetraselmis convolutae* par rapport à d'autres espèces de microalgues par la détermination de leur proximité phylogénétique, en utilisant des outils de bioinformatique.

#### **Des prolongations : l'Homme, un holobionte**

**Deux articles portant sur les relations fonctionnelles entre l'Homme et son microbiote :**

- un article du périodique *Pour la science hors-série N°105 – Qui sommes-Nous ? (Novembre – Décembre 2019, p58)* qui évoque les effets des métabolites du microbiote intestinal sur la santé et le développement de certaines pathologies : L'homme augmenté par son microbiote <https://www.pourlascience.fr/sd/microbiologie/lhomme-augmente-grace-aux-microbiotes-18057.php>
- un article du périodique *Pour la Science* qui évoque les effets des métabolites produits par le microbiote intestinal humain sur les cellules pulmonaires et leurs effets dans la prévention des infection virales : grippe et surinfections, une histoire de microbiote. <https://www.pourlascience.fr/sd/medecine/grippe-et-surinfection-une-histoire-de-microbiote-19023.php>



## Documents d'activité et ressources

### Annexe n°1 – Données générales sur les espèces associées dans l'holobionte *Symsagittifera roscoffensis* et leurs interactions métaboliques

#### Travail à réaliser

Le ver de Roscoff, *Symsagittifera roscoffensis* est une association d'organismes.

- Identifier les différentes espèces associées.
- Déterminer les interactions métaboliques entre les différents partenaires.
- Déterminer les avantages sélectifs de l'association.

#### Document 1 – Généralités, présentation du ver

##### Le ver de Roscoff *Symsagittifera roscoffensis*, un ver chlorophyllien ?



*Symsagittifera roscoffensis* (Graff, 1891) est appelé ver de Roscoff. Il est observé du nord-ouest de la France jusqu'à l'extrémité sud du Portugal, y compris les îles Anglo-Normandes et le sud du Pays de Galles. Il forme des agrégats de millions d'individus sur les plages de sable fin à marée basse.

← **Population de *S. roscoffensis* au niveau des résurgences et écoulements d'eau de mer de la plage du phare de Pontusval à Brignogan-Plages (Barre d'échelle, 2 cm pour B et 1 cm pour C).**

Photos, Lucas Filleur, 2019, enseignant de biologie-écologie ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu



Il doit sa couleur vert-foncé à des microalgues, *Tetraselmis convolutae*, qu'il héberge sous son épiderme (Arboleda & Al., 2018). C'est l'activité photosynthétique de l'algue qui fournit l'essentiel des apports nutritifs du ver. Ce partenariat est appelé photosymbiose.

L'entité formée est donc photoautotrophe (Mwinyi & Al., 2010).

← ***S. roscoffensis* (adulte).**

Photo, Xavier Bailly

Retrouvez éducol sur

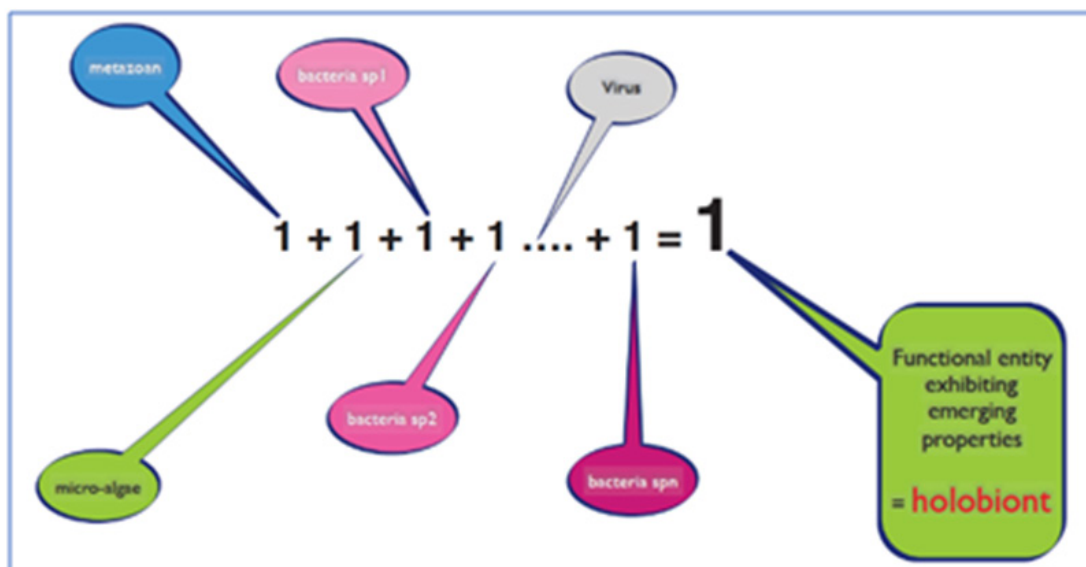


## Document 2 – L'holobionte *Symsagittifera roscoffensis*, une communauté d'organismes Le concept d'holobionte

Tout organisme multicellulaire vit en association nécessaire et inévitable avec des microorganismes (eucaryotes et procaryote) dont ils constituent eux-mêmes l'environnement. Ainsi l'holobionte (du grec *holo*, tout, et *bios*, vie) est un concept qui désigne l'hôte (la plante ou l'animal) avec tous ses microorganismes associés (Douglas, 2014 ; Cerqueda-García & Falcón, 2016).

À l'holobionte correspond donc un réseau complexe d'interactions. L'ensemble des interactions entre le microbiote et son hôte qui se sont établies graduellement au cours de l'évolution, a été sélectionné car il confère à l'association des propriétés adaptées à ses conditions d'environnement.

**L'holobionte est donc une unité de sélection** (Cerqueda-García & Falcón, 2016). Ce n'est pas l'hôte seul qui évolue mais l'holobionte dans son ensemble.



Schéma, Xavier Bailly, ingénieur de recherche, station biologique de Roscoff

### L'holobionte *Symsagittifera roscoffensis*, un partenariat hautement intégré

Aucun travail ne décrit exhaustivement la nature trophique des échanges entre l'animal et ses partenaires photosynthétiques. L'activité photosynthétique du photosymbiote algal permet de fournir en plus du dioxygène, divers composés organiques de types acides aminés, protéines, lipides et polysaccharides.

Les microalgues recyclent l'acide urique issu du métabolisme azoté du ver pour la synthèse de leurs acides aminés/protéines. Douglas a formellement montré que l'acide urique issu de son métabolisme du ver constitue une source d'azote pour les microalgues. De plus, à proximité de résurgences riches en nitrate, dans des zones intertidales où vivent des *Symsagittifera roscoffensis*, les vers sont capables d'assimiler d'importantes quantités de nitrate en fonction de l'exposition et l'intensité de la lumière. Cette quantité est dix fois supérieure à celle absorbée par l'algue à l'état libre. Ainsi, *Symsagittifera roscoffensis* a été qualifié d'intercepteur important de nitrates.

Retrouvez éduscol sur



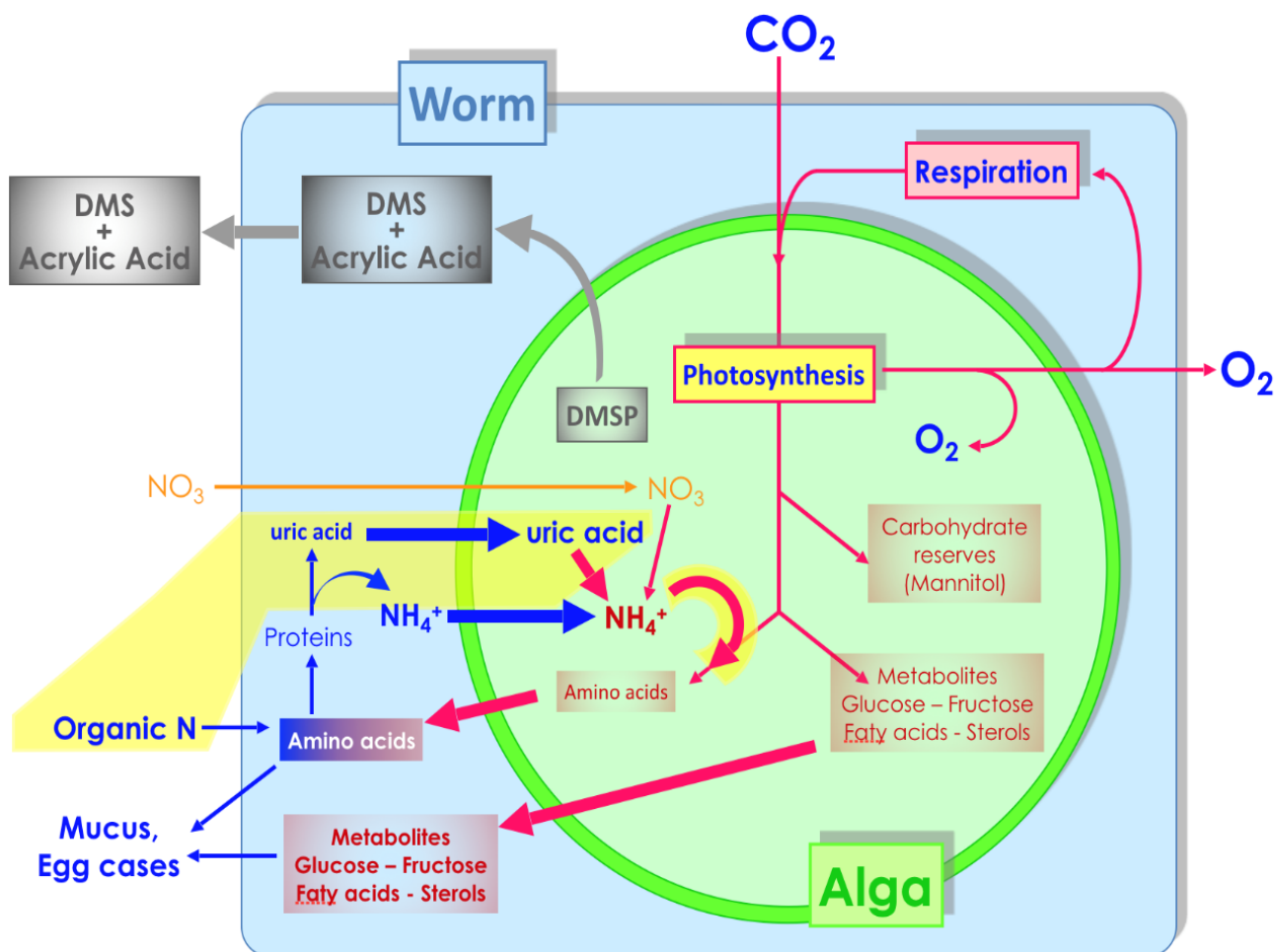
Dans les tissus de l'animal, la microalgue produit un composé soufré, le DMSP (diméthylsulfopropionate), qui diffuse également dans le milieu extérieur. Ce composé est généralement dégradé enzymatiquement par des DMSP-lyases en acide acrylique et DMS (Diméthylsulfure). Cependant aucune activité DMSP-lyase n'a été mesurée dans des cultures de *Tetraselmis convolutae* seules. L'hypothèse d'une activité DMSP-lyase bactérienne a été avancée pour expliquer la présence de DMS et d'acide acrylique au sein des colonies de *Symsagittifera roscoffensis*. Il est vraisemblable que le mucus de *roscoffensis* héberge des populations bactériennes spécifiques possédant des DMSP-lyases. L'acide acrylique serait un substrat métabolique carbonné pour les bactéries.

Le DMSP est un composé soufré présentant entre autres, une propriété répulsive qui pourrait conférer un rempart chimique expliquant l'absence de prédateur connu ou observé et en conséquence, l'abondance de vers au sein des colonies.

Quantifier expérimentalement les coûts et les bénéfices de l'hôte et des symbiotes (leur valeur sélective respective) reste assez compliqué. Les travaux soutiennent davantage l'exploitation et le contrôle des symbiontes photosynthétiques par leur «hôte» plutôt que du mutualisme. (Wikipedia, 2019 ; [http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Symsagittifera\\_roscoffensis&oldid=164485457](http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Symsagittifera_roscoffensis&oldid=164485457))

La capacité des populations de *S. roscoffensis* à être exposées à des niveaux élevés de radiations lumineuses, à des fluctuations thermiques importantes et à la dessiccation pourraient être liées à la production de DMSP (Arboleda & Al., 2018).

Basic trophic relationship between the animal and the algae



Kremer 1975, Boyle & Smith 1975, Hillgan & Gooday 1975

Schéma revu par Xavier Bailly, ingénieur de recherche, station biologique de Roscoff

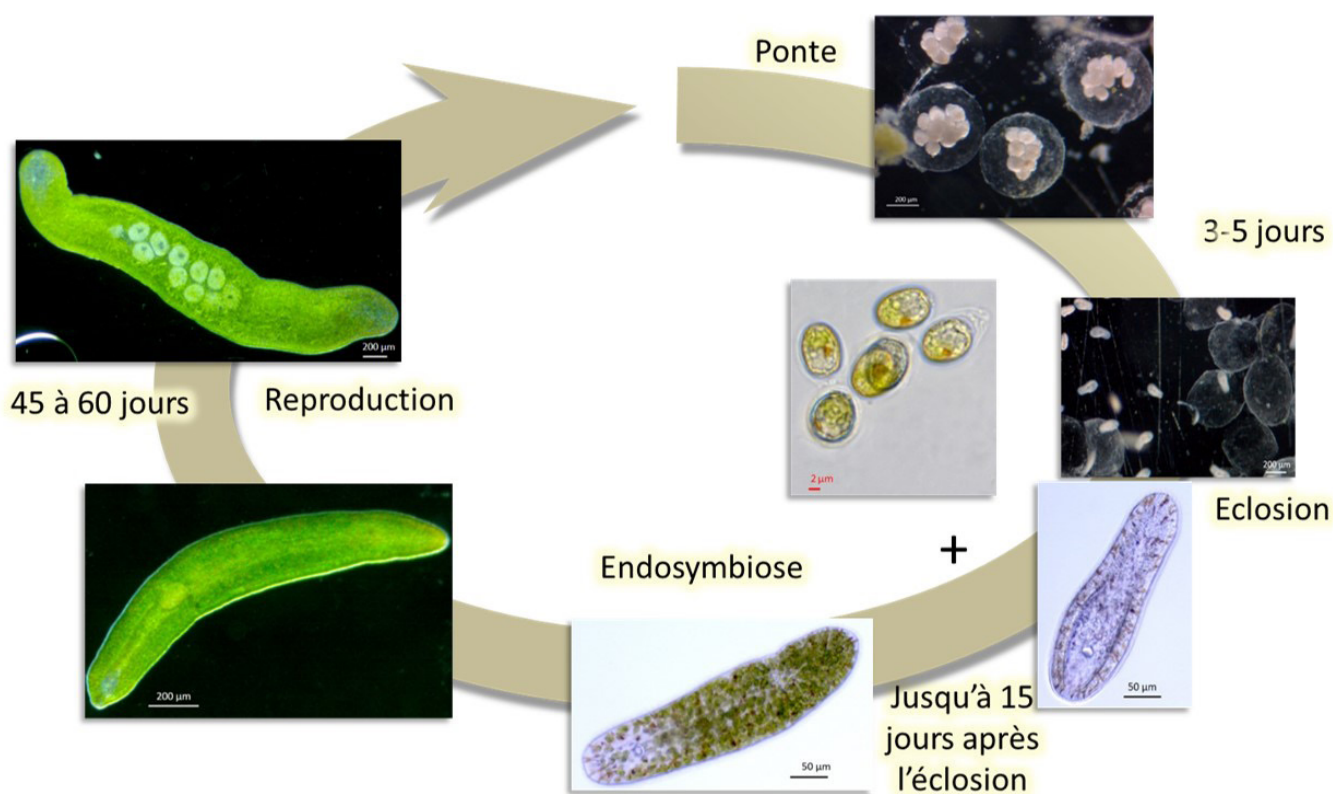
**Annexe n°2 – Conception d’une démarche scientifique mettant en œuvre des techniques de biologie moléculaire**

**Document 1 – Exemple de document de travail distribué aux élèves**

**L’acquisition du symbiote algal par les juvéniles dans les 15 jours après l’éclosion**

Dans des conditions d’élevage, les individus sexuellement matures forment de nombreux cocons mucilagineux au sein desquels sont déposés 10 à 20 embryons (Bailly & Al., 2014 ; Arboleda & Al., 2018). En 4 à 5 jours, à l’abri de la gangue mucilagineuse, les embryons réalisent un développement direct en juvéniles translucides, non photosymbiotiques, d’environ 250 à 300 µm de longueur. Ils éclosent à l’intérieur du cocon et nagent jusqu’à la rupture de la gangue. En laboratoire, leur survie sans symbiote algal n’est possible que 15 à 20 jours (Arboleda & Al., 2018). Les juvéniles blancs ingèrent (sans les digérer) des microalgues *T. convolutae* libres. Ces derniers verdissent graduellement en une dizaine de jours (Provasoli, Yamasu et Manton, 1968 ; Arboleda & Al., 2018). Adultes, ils mesurent environ 3 mm de long, 550 µm de large et 80 µm d’épaisseur (Arboleda & Al., 2018).

Xavier Bailly, ingénieur de recherche, station biologique de Roscoff, [https://en.wikipedia.org/wiki/Symsagittifera\\_roscoffensis](https://en.wikipedia.org/wiki/Symsagittifera_roscoffensis)



Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

### Consignes de travail

Concevoir une stratégie de recherche permettant de prouver, **par l'identification de séquences d'ADN caractéristiques des espèces**, que l'acquisition du symbiote algal par le ver est acquise postérieurement à l'éclosion.

Réaliser des schémas des étapes manipulatoires et argumenter les étapes de sa démarche.

### Matériel disponible :

**Fiches de présentation des méthodes de biologie moléculaire permettant de caractériser la présence d'espèces par l'identification de séquences génétiques spécifiques :**

- technique d'amplification de séquences génétiques (PCR) ;
- technique de séparation de fragments d'ADN amplifiées (électrophorèse).

### Matériel biologique (matrices brutes)

- Broyat frais de vers juvéniles non symbiotiques\*
- Broyat frais de vers adultes symbiotiques\*
- Suspension de microalgues\* : *Tetraselmis convolutae*

\* l'ADN génomique est libéré pendant le broyat et pendant la dénaturation initiale de la PCR.

### Matériel nécessaire pour la réalisation des techniques

- Milieu réactionnel : Désoxyribonucléotides, ADN polymérase, tampon de l'enzyme et MgCl<sub>2</sub>, (son cofacteur)
- Jeu d'amorces permettant de borner les séquences nucléotidiques caractéristiques de chacune des espèces
- Thermocycleur
- Cuve à électrophorèse
- Gel d'agarose à 1%...

### Critères de réussite de la conception d'une démarche

**Une stratégie de recherche scientifique est opérationnelle si elle permet d'explicitier à un lecteur :**

- **ce qu'il va faire** (techniques mises en œuvre, témoin, montages réalisés) et **pourquoi il va le faire de cette façon** (le sens des étapes de la démarche) ;
- **comment il va le faire** (c'est-à-dire le mode opératoire, le matériel à utiliser, comment l'utiliser, tout en lui permettant de comprendre ce qu'on fait à chaque instant) ;
- **les résultats qui pourraient être obtenus et les conclusions qui pourraient être tirées** (Si on observe ça... Alors on pourrait conclure que ...).

## Un exemple de production d'élève

### Principes de la démarche

Pour prouver une acquisition secondaire du symbiote algal par le ver, nous allons réaliser une extraction de l'ADN total du ver juvénile, du ver symbiotique et de l'algue, puis une amplification des séquences caractéristiques du ver et de l'algue à partir de ces broyats. Il faudra ensuite réaliser une électrophorèse pour révéler leur(s) présence(s) ou leur(s) absence(s) aux différents stades de développement et ainsi savoir à partir de quand le partenariat se met en place.

### Mode opératoire

- Pour réaliser la PCR qui sert à amplifier une séquence caractéristique de chacun des partenaires et disposer d'une quantité d'ADN suffisante pour pouvoir obtenir des bandes visibles à l'électrophorèse :
  - **Il faut dans un premier temps extraire de l'ADN génomique de la microalgue, du ver juvénile non photosymbiotique, du ver adulte symbiotique.**
    - On va le faire en les broyant.
    - Le broyat réalisé à partir des microalgues devrait contenir l'ADN de l'algue (*les élèves découvriront la présence d'ADN d'un microbiote bactérien associé*). Le broyat réalisé à partir du ver juvénile devrait contenir l'ADN du juvénile et l'ADN des bactéries présents à sa surface. Le broyat réalisé à partir du ver adulte photosymbiotique devrait contenir l'ADN du ver, l'ADN des microalgues avec lesquelles il s'est associé, l'ADN de son microbiote bactérien.
  - **Comme on veut amplifier des séquences caractéristiques de ces espèces, il va falloir rajouter aux extraits d'ADN :**
    - Des duos (couples) d'amorces afin de borner spécifiquement les séquences nucléotidiques, (marqueurs ou empreintes génétiques) que l'on veut amplifier. Ces duos d'amorces vont se fixer aux brins sens et antisens de l'ADN génomique préalablement dénaturé, et encadrer les séquences que l'on veut amplifier. Les doubles brins formés par les hybridations des amorces et des monobrins d'ADN constitueront les substrats de l'ADN polymérase qui pourra alors s'y fixer et répliquer les séquences nucléotidiques des différents marqueurs génétiques.
    - On va donc ajouter chaque duo (couples) d'amorces à chaque broyat (c'est à dire 3 réactions de PCR indépendantes pour chaque broyat) pour amplifier les marqueurs génétiques recherchés de chaque espèce (bien qu'on puisse déjà supposer que les marqueurs algaux seront absents chez les juvéniles non photosymbiotiques)
    - Une ADN polymérase = l'enzyme qui permet de répliquer l'ADN, qui va permettre l'élongation des amplicons.
    - Des désoxyribonucléotides qui sont les constituants nécessaires à la synthèse des molécules d'ADN complémentaires. Sans dntp, la réplication ne pourra pas se faire.
  - **On place ensuite les microtubes préparés dans le thermocycleur pendant un nombre de cycles adapté défini par les concepteurs pour obtenir une quantité suffisante de séquences amplifiées révélables lors de l'électrophorèse.**

À la fin de la première étape, on a donc 3 microtubes de solutions d'amplicons : un pour l'algue, un autre pour le juvénile non photosymbiotique, le dernier pour l'adulte symbiotique.
- Afin de révéler la présence ou l'absence de séquences amplifiées, on va réaliser une électrophorèse. L'ADN est un anion, une molécule chargée négativement qui va migrer dans un champ électrique. On va soumettre les solutions d'amplicons à un courant électrique. Les amplicons de masses moléculaires différentes vont migrer dans le gel d'agarose à 1% et vont être séparés en fonction de leur taille.

Retrouvez éducol sur



On peut ainsi repérer la présence ou l'absence des 3 marqueurs génétiques (de 395 pb, 603 pb, et 778 pb) caractéristiques respectivement du ver, des microalgues, du microbiote bactérien ; et par conséquent caractériser les espèces en présence chez l'algue, le ver juvénile non photosymbiotiques, et le ver adulte.

#### Résultats attendus

#### Prévision des résultats de la PCR.

Si l'hypothèse de l'acquisition de la microalgue par le juvénile est vraie, alors la PCR devrait amplifier les marqueurs suivants pour chacun des stades de développement.

	Adultes <i>S. roscoffensis</i>	Juveniles non photosymbiotiques <i>S. roscoffensis</i>	Microalgues <i>T. convolutae</i>
Marqueur spécifique du ver <i>S. roscoffensis</i> (395 pb)	Amplifié	Amplifié	Non amplifié
Marqueur spécifique de la microalgue <i>T. convolutae</i> (603 pb)	Amplifié	Non amplifié	Amplifié
Marqueur spécifique du microbiote bactérien associé (778 pb)	Amplifié	Amplifié	? (*)

? (\*) À ce moment de la séquence, les élèves ignorent que les microalgues possèdent leur propre microbiote bactérien associé.

#### Prévision des résultats de l'électrophorèse.

Si l'association est bien acquise, alors l'électrophorèse devrait faire apparaître :

- 1 bande pour la microalgue d'une taille de 603 pb caractéristique de la microalgue ;
- 2 bandes pour le ver juvénile non symbiotique : une de 395 pb caractéristique du ver, une autre de 778 pb caractéristique de son microbiote bactérien ;
- 3 bandes pour le ver adulte : une de 603 pb (caractéristique de la microalgue), une de 395 pb (caractéristique du ver) et une autre de 778 pb pour le microbiote bactérien.





**Document 2 – Exemple de grille pour faciliter l'analyse des productions et le conseil entre pairs.**

Repérez les réussites, entourez les erreurs et donnez quelques conseils pour progresser

Des questions à me poser	Indicateurs de réussite	Évaluation		
		Non	En partie	Oui
<p><b>La démarche indique-t-elle ce qu'on va faire et pourquoi on doit le faire (le sens !)</b></p>	<p><b>La démarche indique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Qu'il est nécessaire de réaliser des broyats des algues, des vers juvéniles non symbiotiques, des adultes afin d'extraire l'ADN génomique de tous les partenaires présents.</li> <li>• Qu'il est nécessaire de réaliser une PCR pour amplifier des séquences caractéristiques de chacune des espèces présentes dans les broyats.</li> <li>• Qu'il est nécessaire de réaliser une électrophorèse pour révéler la présence ou l'absence des marqueurs spécifiques (des microalgues, du ver, du microbiote bactérien) pour l'algue, le ver juvénile non photosymbiotique, le ver adulte afin de déterminer par analyse génétique à quel moment se met en place l'association (présence du marqueur algal chez l'adulte et absence chez le juvénile).</li> </ul>			
<p><b>Le mode opératoire est suffisamment décrit pour me permettre de savoir comment je vais m'y prendre ?</b> <b>Mode d'utilisation du matériel.</b></p>	<p><b>Le mode opératoire permet de comprendre lors de la PCR :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Le rôle des duos d'amorces pour borner les marqueurs spécifiques que l'on veut amplifier.</li> <li>• Le rôle de l'ADN polymérase et des désoxyribonucléotides.</li> </ul> <p><b>Le mode opératoire permet de comprendre les étapes de l'électrophorèse :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Séparer les marqueurs génétiques des espèces en fonction de leur taille.</li> <li>• Révéler la présence ou l'absence des marqueurs génétiques chez l'algue, les juvéniles non symbiotiques, les adultes et ainsi déterminer les espèces en présence (395 pb (ver), 603 pb (microalgues), 778 pb (microbiote bactérien)).</li> </ul>			
<p><b>J'ai une idée des résultats que je pourrais obtenir ?</b></p>	<p><b>La démarche indique le nombre théorique de bandes que l'on devrait obtenir pour les différentes solutions d'amplicons :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 bande d'une taille de 603 pb (marqueur algal) pour la solution d'amplicon préparée à partir des microalgues.</li> <li>• 2 bandes pour le ver juvénile non symbiotique : une de 395pb (marqueur du ver), et une autre de 778 pb (marqueur de son microbiote bactérien).</li> <li>• 3 bandes pour le ver adulte symbiotique : une de 603 pb (marqueur algal), une de 395pb (marqueur du ver) et une autre de 778 pb (pour le microbiote bactérien).</li> </ul>			

Erreurs principales à corriger - Conseils pour progresser

Retrouvez éduscol sur



### Annexe n°3 – Principe de l'électrophorèse

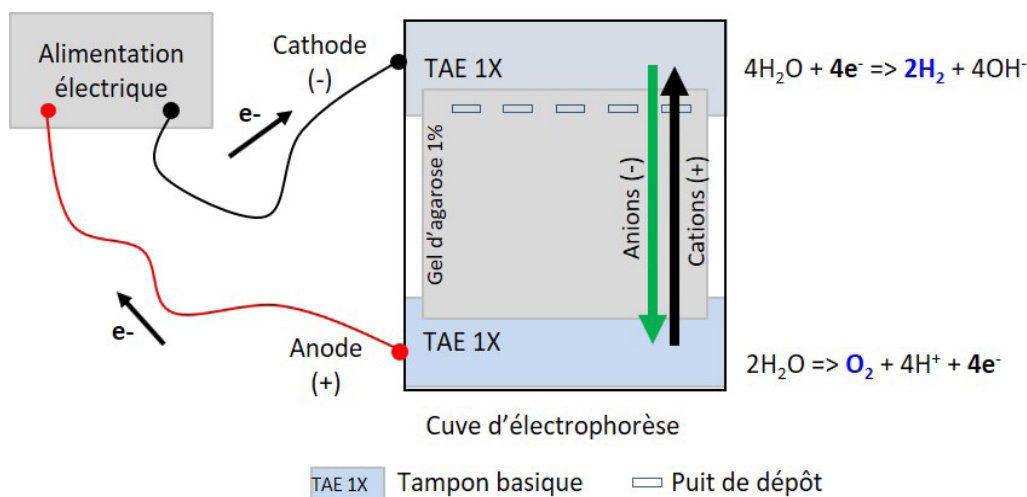
L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode de biochimie permettant de séparer des molécules chargées (ADN, ARN, protéines), dans un champ électrique, en fonction de leur taille (et donc de leur masse moléculaire). Elle est utilisée dans les laboratoires pour séparer des séquences nucléotidiques caractéristiques pouvant servir à révéler la présence d'espèces dans un échantillon.

**Pour réaliser une électrophorèse, il est nécessaire d'avoir une concentration d'ADN suffisante (100 ng et plus) à faire migrer pour révéler les bandes sur le gel, afin de les séparer en fonction de leur masse moléculaire. Pour cela une amplification par PCR est indispensable.**

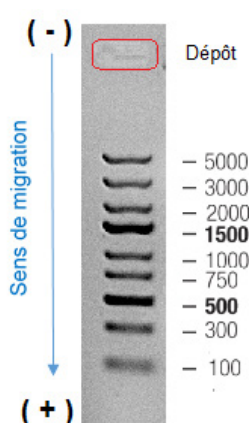
En milieu basique, les molécules d'ADN sont chargées négativement. Soumises à un champ électrique, elles migrent dans un gel conducteur de la cathode (borne négative) vers l'anode (borne positive).

- Les séquences d'ADN amplifiées sont déposées dans des puits d'un gel d'agarose réalisé avec un tampon spécifique (dit de migration) et qui baigne dans ce même tampon de migration afin de permettre le passage d'un courant électrique.
- Les fragments d'ADN sont séparés en fonction de leur taille. La taille d'un fragment dépend du nombre de nucléotides qui le constituent.
- La distance parcourue en temps donné dépend de la taille des fragments. Des fragments de petite taille dans un maillage donné à 1% migrent plus rapidement que des fragments plus gros, et donc loin\*.

(\*) Les fragments d'ADN de taille proche sont d'autant mieux séparés que le gel d'agarose est concentré. Ici, les fragments d'ADN amplifiés étant de tailles très différentes, on utilise un gel d'agarose peu sélectif à 1%.



Vidéo : [https://www.canal-u.tv/video/science\\_en\\_cours/la\\_technique\\_d\\_electrophorese\\_sur\\_gel\\_d\\_agarose\\_2003.110](https://www.canal-u.tv/video/science_en_cours/la_technique_d_electrophorese_sur_gel_d_agarose_2003.110)



La réalisation d'une électrophorèse des séquences d'ADN amplifiées permet d'identifier la présence (ou l'absence) de la séquence nucléotidique caractéristique de l'algue (taille = 603pb\*), la séquence nucléotidique caractéristique du ver (taille = 395 pb\*), et celle du microbiote bactérien (taille = 778 pb\*)

(\* ) pb = nombre de paires de bases.

← L'utilisation d'une gamme étalon (= solution de fragments d'ADN de tailles connues) permet de déterminer la longueur des fragments d'ADN après leur migration par électrophorèse.

Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

#### Annexe n°4 – Principes d'une amplification par chaîne (PCR) d'une séquence d'ADN

La technique de PCR ou polymérisation en chaîne est une technique d'amplification enzymatique permettant d'obtenir un grand nombre de copies identiques d'une séquence spécifique d'ADN. Elle permet ainsi d'obtenir plusieurs centaines de microgrammes d'ADN à partir de moins de 1 picogramme d'ADN initial.

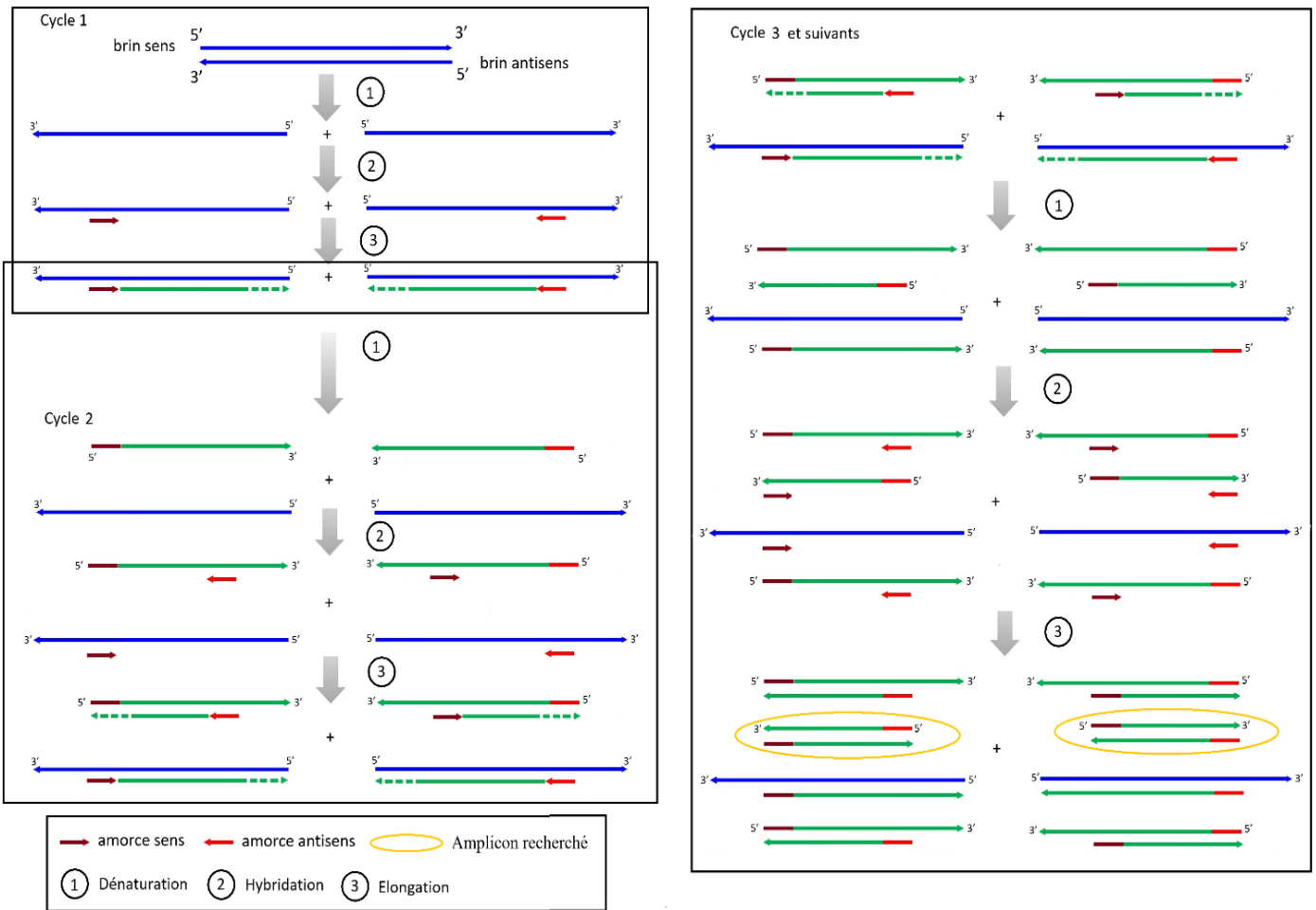
Cette technique consiste à préparer des milieux réactionnels en mélangeant notamment des désoxyribonucléotides (désoxyadénosine, desoxyguanosine, desoxycytosine, desoxythymidine), une ADN polymérase, des mélanges d'ADN (matrices brutes) dont on cherche à amplifier les séquences, et des amorces permettant de borner la séquence nucléotidique à amplifier (marqueurs spécifiques).

Elle est basée sur la répétition de cycles dans lesquels 3 étapes sont toujours présentes.

- **Dénaturation** : permet la séparation des 2 brins de la molécule d'ADN sous l'action d'une température capable de rompre les liaisons hydrogène présentes entre les 2 brins complémentaires.
- **Hybridation** : permet l'association spécifique entre les amorces et leurs séquences complémentaires cibles sur les 2 monobrans d'ADN (matrice). Cette étape permet à l'ADN polymérase de se fixer à un substrat double brin constitué par l'hybridation amorce/ADN monobrin.
- **Élongation** : permet à l'ADN-polymérase de synthétiser un brin d'ADN complémentaire à chaque matrice, à partir de l'hybridation spécifique amorce/ADN monobrin, par liaison de nucléotides sur le principe de complémentarité des nucléotides.

Potentiellement, le nombre de copies, du fragment d'ADN, double après chaque cycle selon l'expression  $(N \times 2^n)$  où N est le nombre de copies initiales, et n, le nombre de cycles d'amplification. L'expérimentateur détermine la quantité initiale d'ADN, et le nombre de cycles.

**Regarder une animation** : [https://rnbio.upmc.fr/sites/default/files/animations/bio\\_mol/pcr/pcr.html](https://rnbio.upmc.fr/sites/default/files/animations/bio_mol/pcr/pcr.html)



Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

Retrouvez éducol sur



Séquence d'intérêt (Double brin, en vert)

5'...CCTTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTTGCCAGCAGCCGCGTAATTCAGCTCCAATA...TTTTCATTAATCAACAACCGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAG...3'  
3'...GGAATTGCTCCTAGGTAACCTCCCGTTCAGACCAACGGTCGTGGCGCATTAAAGTTCGAGGTTAT...AAAAGTAATTAGTTGTTGGCTTTCAACCCCGAGCTTCTGCTAATC...5'



Séparation des 2 brins d'ADN par la température à 95 °C  
= DÉNATURATION

Séquence d'intérêt (brin sens)

5'...CCTTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTTGCCAGCAGCCGCGTAATTCAGCTCCAATA...TTTTCATTAATCAACAACCGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAG...3'

3'...GGAATTGCTCCTAGGTAACCTCCCGTTCAGACCAACGGTCGTGGCGCATTAAAGTTCGAGGTTAT...AAAAGTAATTAGTTGTTGGCTTTCAACCCCGAGCTTCTGCTAATC...5'

Séquence complémentaire (brin anti-sens)



Appariement des amorces à leurs séquences complémentaires cibles à température favorable 52 °C  
= HYBRIDATION

Séquence d'intérêt (brin sens)

5'...CCTTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTTGCCAGCAGCCGCGTAATTCAGCTCCAATA...TTTTCATTAATCAACAACCGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAG...3'  
3'...GGAATTGCTCCTAGGTAACCTCCCGTTCAGACCAACGGTCGTGGCGCATTAAAGTTCGAGGTTAT...AAAAGTAATTAGTTGTTGGCTTTCAACCCCGAGCTTCTGCTAATC...5'

Amorce sens (rouge)

5' CATTGGAGGGCAAGTCTGGT 3'

3' GTTGGCTTTCAACCCCGAG 5'

Amorce anti-sens (bleue)

3'...GGAATTGCTCCTAGGTAACCTCCCGTTCAGACCAACGGTCGTGGCGCATTAAAGTTCGAGGTTAT...AAAAGTAATTAGTTGTTGGCTTTCAACCCCGAGCTTCTGCTAATC...5'

Séquence complémentaire (brin anti-sens)



Synthèse de l'ADN complémentaire à température favorable 72 °C  
= ELONGATION

Séquence d'intérêt (brin sens)

5'...CCTTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTTGCCAGCAGCCGCGTAATTCAGCTCCAATA...TTTTCATT...AACCGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAG...3'  
3'...GGAATTGCTCCTAGGTAACCTCCCGTTCAGACCAACGGTCGTGGCGCATTAAAGTTCGAGGTTAT...AAAAGTAATTAGTTGTTGGCTTTCAACCCCGAGCTTCTGCTAATC...5'

5' CATTGGAGGGCAAGTCTGGT

Séquence complémentaire (brin anti-sens)



Résultat de l'amplification

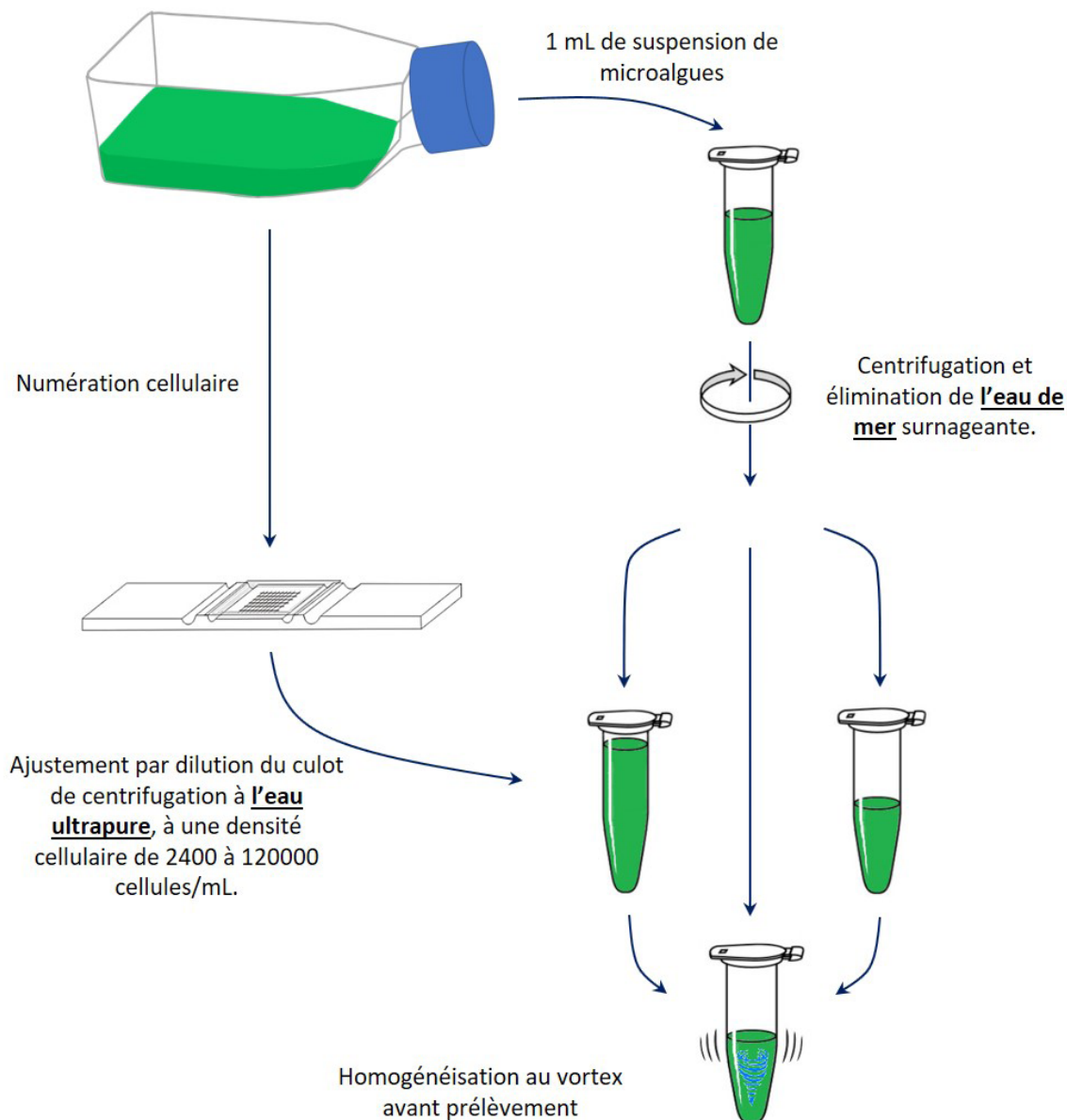
5' CATTGGAGGGCAAGTCTGGTTGCCAGCAGCCGCGTAATTCAGCTCCAATA...TTTTCATTAATCAACAACCGAAAGTTGGGGGCTC 3'  
3' GTAACCTCCCGTTCAGACCAACGGTCGTGGCGCATTAAAGTTCGAGGTTAT...AAAAGTAATTAGTTGTTGGCTTTCAACCCCGAG 5'

n copies de la séquence recherchée = Amplicons

### Annexe n°5 – Fiche technique de préparation de la matrice algale

Cette fiche technique est destinée au technicien de laboratoire pour la préparation de la matrice juste avant le TP. À conserver à 4°C jusqu'à son utilisation pour bloquer toute activité enzymatique.

La concentration des algues est un paramètre important. Une surconcentration et l'âge trop avancé de la culture peut inhiber la réaction de PCR (inhibition par le substrat et par divers encombrants cellulaires).

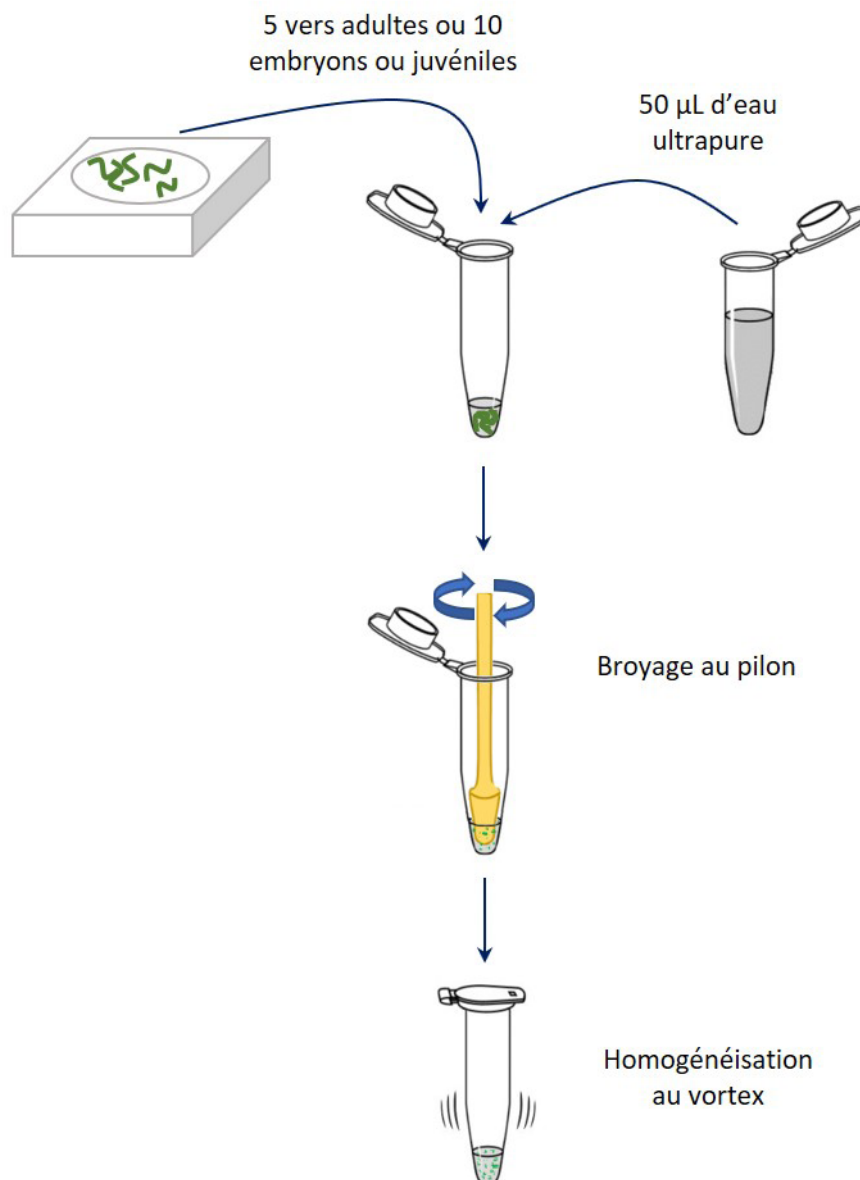


Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

### Annexe N°6 – Fiche technique de préparation de la matrice animale

Cette fiche technique est destinée au technicien de laboratoire pour la préparation de la matrice juste avant le TP. À conserver à 4°C jusqu'à son utilisation pour bloquer toute activité enzymatique.

Bien que ne présentant aucune difficulté, le broyage des vers peut heurter la sensibilité des élèves.



#### Remarque

Veiller à éliminer le maximum d'eau de mer avant l'ajout d'eau ultrapure.

Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

Retrouvez éducol sur



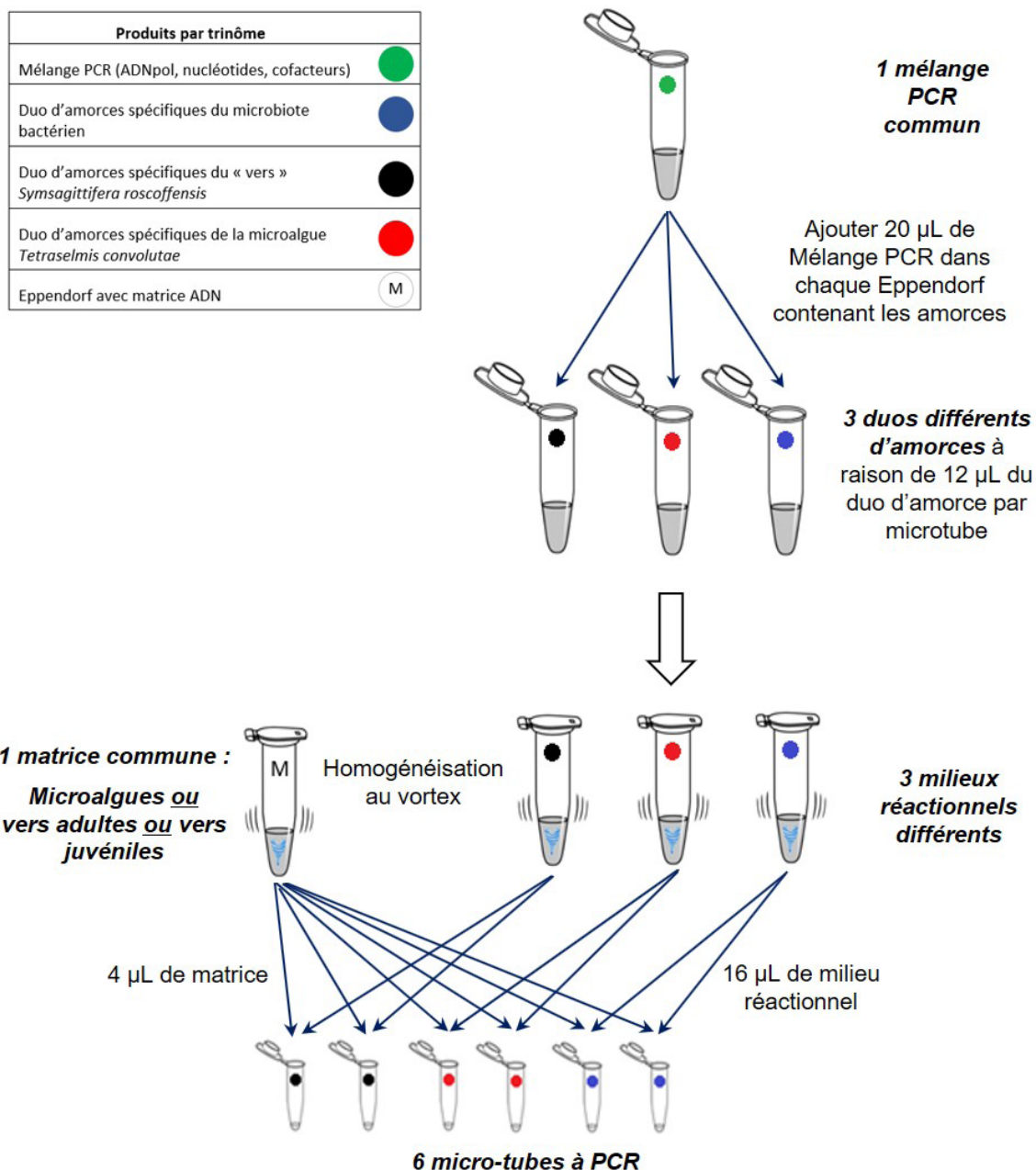


### Annexe n°7 – Fiche technique de préparation des microtubes à PCR

Cette fiche technique est conçue pour faire collaborer 3 trinômes.

Un trinôme travaille sur la matrice algale, un second sur la matrice vers adultes et le troisième sur la matrice vers juvéniles dans le but de faire le profil de chacun des organismes, qui sera révélé par électrophorèse.

Chaque trinôme réalise un doublon de chaque microtube pour pallier les erreurs de pipetage.



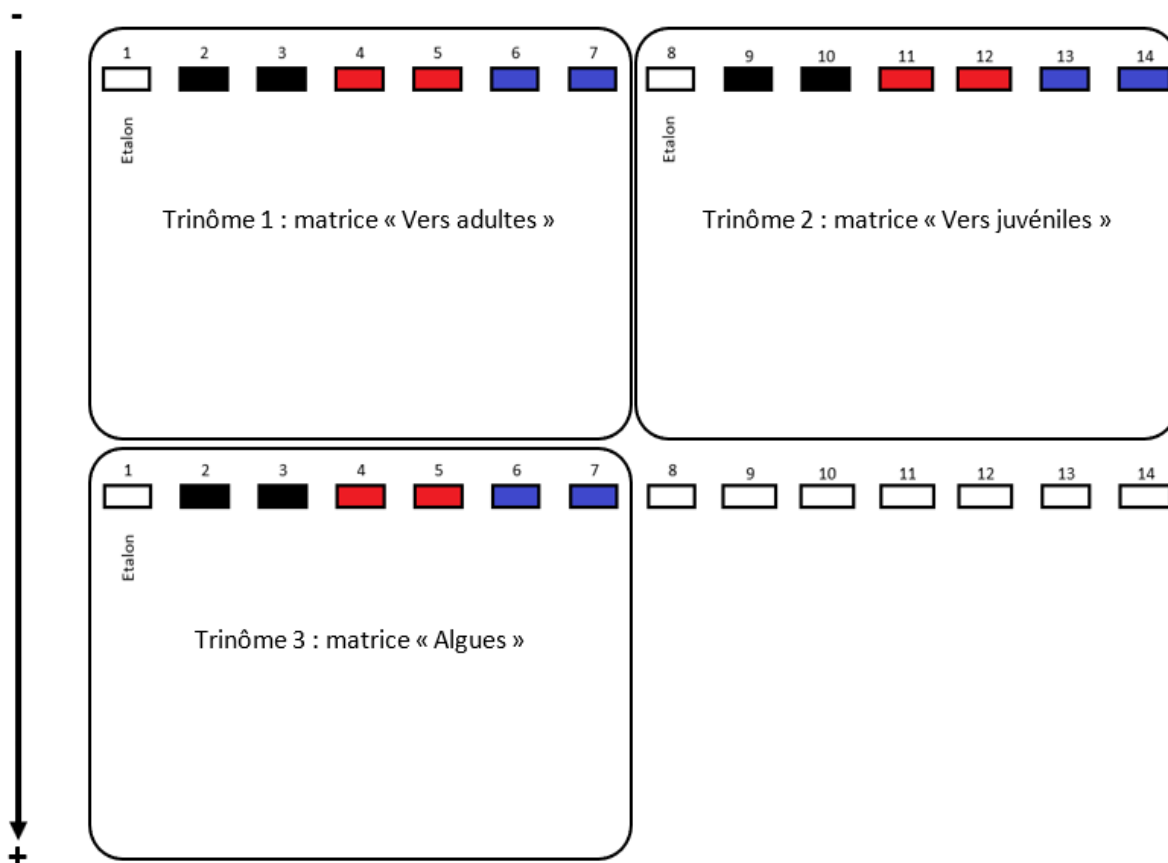
Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

Retrouvez éducol sur






### Annexe n°8 – Fiche technique pour le remplissage des gels d'électrophorèse

Dans chaque puits, faire le dépôt de marqueurs de taille (étalon, solution de fragments d'ADN de tailles connues), des produits de PCR (séquences amplifiées) du marqueur du ver, du marqueur de l'algue, du marqueur des bactéries associées (microbiote), selon le modèle proposé.



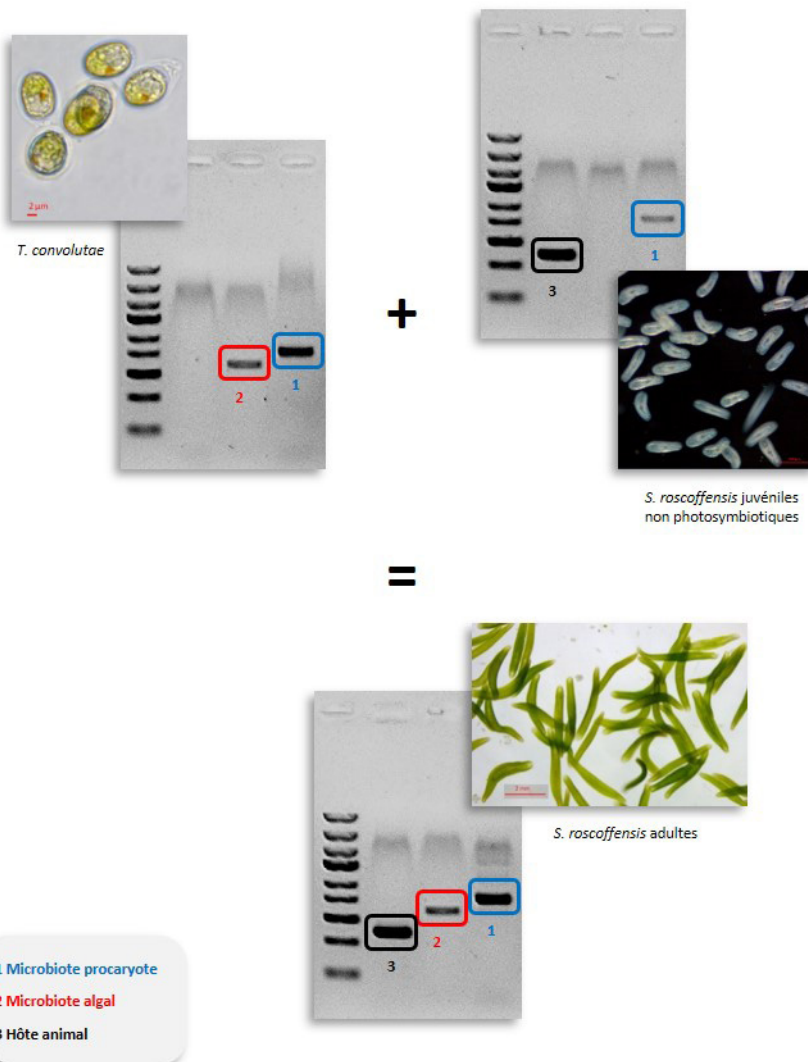
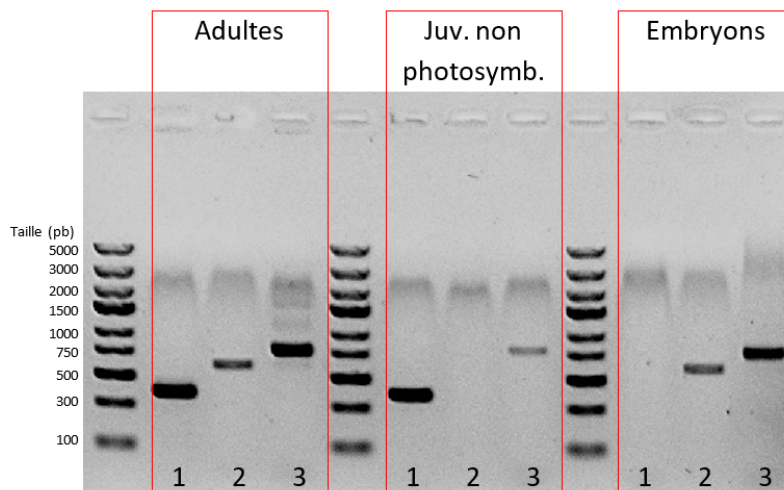
#### Rappel des codes couleurs utilisées pour les solutions contenant les séquences amplifiées

##### Gamme étalon = solution de fragments d'ADN de tailles connues

Solution contenant les séquences amplifiées du marqueur spécifique du ver <i>Symsagittifera roscoffensis</i> .	
Solution contenant les séquences amplifiées du marqueur spécifique de la microalgue <i>Tetraselmis convolutae</i>	
Solution contenant les séquences amplifiées du marqueur spécifique du microbiote bactérien associé.	

Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

Annexe n°9 – Résultats pouvant être obtenus



Remarque

L'électrophorèse révèle que l'algue possède un microbiote bactérien (les données récentes permettent d'appuyer l'hypothèse que celui-ci est différent de celui du ver).

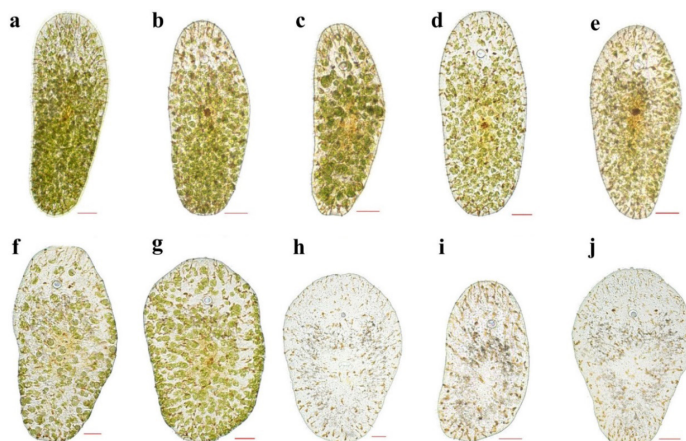
Retrouvez éducol sur



Xavier Bailly, ingénieur de recherche, Station biologique de Roscoff ;  
Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie, Lycée Théodore Monod, Le Rheu.

### Annexe n°10 – Réalisation d'un Blast pour identifier le symbiote algal principal du ver

On sait que les juvéniles non photosymbiotiques de *S. roscoffensis*, en l'absence de *T. convolutae*, peuvent établir un partenariat avec d'autres microalgues du genre *Tetraselmis*, (Provasoli, Yamasu et Manton, 1968). Le document suivant résulte d'expériences menées en laboratoire. Des juvéniles non symbiotiques sont incubés avec une seule espèce d'algue pour identifier celles capables de s'associer. Le verdissement des vers témoigne de l'acquisition de l'espèce partenaire. Seules les espèces du genre *Tetraselmis* peuvent établir ce partenariat. Elles appartiennent à son spectre d'association.



*S. roscoffensis* juvénile est capable d'établir une relation symbiotique avec certaines espèces du genre *Tetraselmis*, mais pas avec d'autres algues vertes plus éloignées. a) *Tetraselmis convolutae*, (b) *Tetraselmis chuii*, (c) *Tetraselmis marina*, (d) *Tetraselmis rubens*, (e) *Tetraselmis striata*, (f) *Tetraselmis subcordiformis*, (g) *Tetraselmis suecica*, (h) *Dunaliella salina*, (i) *Nanochloropsis* sp., (j) juvéniles aposymbiotiques non exposés à une algue (Extrait de Arboleda & Al., 2018, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bies.201800107>).

**On cherche à déterminer l'espèce de microalgue associée au ver dans son environnement, en utilisant des marqueurs génétiques et les outils d'analyse bio-informatique (en ligne) couramment utilisés dans le monde de la recherche.**



Deux populations de vers adultes symbiotiques ont été prélevées sur les sites de Pontusval à Brignogan et de Port-neuf à Moguéric dans Finistère nord.

← Géolocalisation sur Google Earth

La réalisation d'une électrophorèse sur gel d'agarose a permis d'isoler les séquences nucléotidiques partielles de l'ADNr 18S\*. Par des techniques de séquençage, on dispose des séquences nucléotidiques partielles de l'ADNr 18S (marqueur algal) séquencées à partir d'échantillons provenant de ces deux populations de vers (document 1 et 2).

(\* Le gène de l'ARNr 18S est une séquence non codante qui, une fois transcrite et repliée en boucle, va participer à la constitution de la petite sous-unité des ribosomes et des eucaryotes.

#### Consignes de travail

Identifier l'espèce d'algue associée au ver dans son habitat naturel en utilisant des séquences nucléotidiques (Document 1 et 2). Discuter des résultats obtenus.

Suivre les consignes de la fiche technique pour réaliser cette recherche à l'aide d'un outil utilisé au quotidien dans les laboratoires. (Document 3)

Retrouvez éducol sur



**Document 1 – Séquences nucléotidiques partielles de l'ADNr 18S de l'algue provenant de la population de vers prélevée à Port-Neuf, commune de Moguériec**

Échantillon\_Port\_Neuf\_Mogueriec

TACGCTTGCTCAAAGATTAAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACTGCTTATACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTAAATCAGTTATAGTTTATTTGATGGTACCTACTACTCGGATAACCGTAGTAATCTAGAGCTAATACGTGCGTAAATCCCGACTTCTGGAAGGGACGTATTTATTAGATTTAAGGCCAACCGAGCTTGCTCGTCTCTTTGGTGAATCATGATAACTCCACGAATCGCATGGCCTCGCGCCGGCGATATTTCAATCAAATTTCTGCCCTATCAATTGGCGATGGTAGGATAGAGGCCTACCATGGTGTAAACGGGTGACGGGGGATTAGGGTTTCGATTCCGGAGAGGCAGCCTGAGAAACGGCTACACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTAATTCAGGGAGGTAGTGAACAATAAACAATAACCGGGCTTCTAAGTCTGGTAATTGGAATGAGTACAATCTAAATCCCTAACGAGGATCCATTGGGGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCAGCTCCAATAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGATTTCCGGATGGGATTTGCCGGTCGCGCTTTGAGGTGTGCACTTGGTAGGTCCTATTCTTGTTCGGGGACTAGCTCCTGGGCTTCACTGTCCGGGACTAGGAGCCGACGAAGTTACTTGATATAAATAAGAGTGTTCAAAGCAAGCTACGCTCTGAATATTATTAGCATGGAATAACACGATAGGACTCTGGCTTATCTTGTTTGGTCTGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGACATTCGTATTTTCATTGTCCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTATGAAAGACGAACTTCTGCGAAAGCATTGTCAAGGATGTTTT-CATTAATCAAGAACGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGAATACCGTCCTAGTCTCAAC-CATAAACGATGCGAACTAAGGGAATTGGCGAATGttttttttGGAATGACTCTTGCCAGCACCT-TAAGAGAAATCCAAGTTTTTCGGGTTCCGGGGAGAGTATGGTTCCAAGGCTGCAACCTTAAGGAAT-TGACCGAAGGACACCCACCAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAAC-TACCAGGTCCAGACATAGTGAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGGTTGCCTTGTCAGGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCT-CAGCCTGCTAAATAGTTACTCCTACTTTGGTAGGAGGCGAACTTCTTAGAGGGACTATTGGCGTT-TAGCTAATGGAAGTGTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACG-CGCGCTACACTGATGCATTCAACAAGCCTAGCCTTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTTTGAAAC-TGCATCGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAG-CGTGATTCATCAAATCGCGTTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTAC-CGATTGAATGTGTTGGTGGAGGAGCTCGGATTGGCAGCAGTTGGTGGTTCCGCCACCGGCTATTGCTGAGAAGTCCTCCAACCGCCCCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTATCC

Retrouvez éduscol sur



## Document 2 – Séquences nucléotidiques partielles de l'ADNr 18S de l'algue provenant de la population de vers prélevée à Pontusval, commune de Brignogan.

Échantillon\_Pontusval\_Brignogan

TACGCTTGCTCAAAGATTAAGCCATGCATGTCTAAGTATAAACTGCTTATACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTAAATCAGTTATAGTTTATTTGATGGTACCTACTACTCGGATAACCGTAGTAATCTAGAGCTAATACGTGCGTAAATCCCGACTTCTGGAAGGGACGTATTTATTAGATTTAAGGCCAACCGAGCTTGCTCGTCTCTTTGGTGAATCATGATAACTCCACGAATCGCATGGCCTCGCGCCGGCGATATTTCAATCAAATTTCTGCCCTATCAATTGGCGATGGTAGGATAGAGGCCTACCATGGTGTAAACGGGTGACGGGGGATTAAGTTTCGATTCCGGAGAGGCAGCCTGAGAAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTAATTCAGGGAGGTAGTGAACAATAAACAATACCGGGCTTCTAAGTCTGGTAATTGGAATGAGTACAATCTAAATCCCTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCGGCAGCCGCGTAATTCAGCTCCAATAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTTAAAAGCTCGTAGTTGGATTTCCGATGGGATTTGCCGGTCGCGCTTTGAGGTGTGCACTGGTAGTCTATCTTGTGTCGGGGACTAGCTCCTGGGCTTCACTGTTCCGGGACCTAGGAGCCGGACGAAGTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTCAAAGCAAGCCTACGCTCTGAATATATTAGCATGGGAATAACACGATAGGACTCTGGCTTATCTTGTGGGTCGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGGACATTTCGTATTTCAATGTCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTATGAAAGACGAACTTCTGCGAAAGCATTGTCAAAGGATGTTTTCATTAATCAAGGAACGAAAGTTGGGGGCTCGAAGGACGATTAAGATACCGGTCCCTAGTCTCAACAAATAAACGATGGCCGACTAGGGATGGCAGATGTTTTTTTTGGATGACTCTGCAGGCACTAATGAGAAAATCAAGTTTTTTGGGATACCGTCTAGTCTCAACCATAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGATGTTTTTTGATGACTCTGCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTTGGGTTCCGGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGCGTGGAGCCGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAAACCTTACCAGGTCCAGACATAGTGAGGATTGACAGATGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGGTTGCCTTGT-CAGGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGTTACTCTACTTTGGTAGGAGGCGAACTTCTTAGAGGGACTATTGGCGTTTAGCTAATGGAAGTGTGAGGCAATAACAGGTCGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCTACACTGATGCATTCAACAAGCCTAGCCTTGACCGAGAGGTCCGGTAATCTTTGAAACTGCATCGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTCATCAAATCGCGTTGATTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCTGCTCCTACCGATTGAATGTGTTGGTGGAGGAGCTCGGATTGGCAGCAGTTGGTGGTTCCGCCACCGGCTATTGCTGAGAAGTCTCCAACCGCCCCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGT

Données fournies par Xavier Bailly, ingénieur de recherche, Station biologique de Roscoff ;  
Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie, Lycée Théodore Monod, Le Rheu.

## Document 3 – Fiche Technique pour la réalisation d'un Blast pour déterminer une espèce à partir de sa signature génétique.

### Principe de fonctionnement

L'outil de recherche d'alignement local de base (BLAST) est un outil de bioinformatique couramment utilisé dans le monde de la recherche. Le programme compare les séquences de nucléotides ou de protéines entrées par l'utilisateur aux banques de données internationales de séquences. Il calcule la similitude statistique des correspondances de nucléotides ou d'acides aminés des séquences entrées avec les séquences répertoriées dans la banque de données internationale. BLAST peut être utilisé pour déduire les relations fonctionnelles et évolutives entre les séquences ainsi que pour aider à identifier les membres des familles de gènes, ou bien encore identifier des espèces à partir de marqueurs spécifiques.

Retrouvez éducol sur



Pour accéder à l'outil de comparaison des séquences de nucléotides NCBI : <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Cliquer ici pour sélectionner le programme de comparaison des séquences de nucléotides

Cliquer ici pour lancer le programme

Identifiants de votre séquence

Taille de votre séquence

En cliquant sur l'entête de colonne, le tri se fait en fonction du % d'identité.

Liste des séquences proches de celle dont l'identité est recherchée

Retrouvez éducol sur



L'espèce dont la correspondance à votre séquence est la plus probable est celle en tête de classement. Un pourcentage d'identité inférieur à 100% peut être lié à une variabilité individuelle ou de la population prélevée au sein de l'espèce ou d'un séquençage imparfait avec des lacunes de nucléotides sur certaines positions.

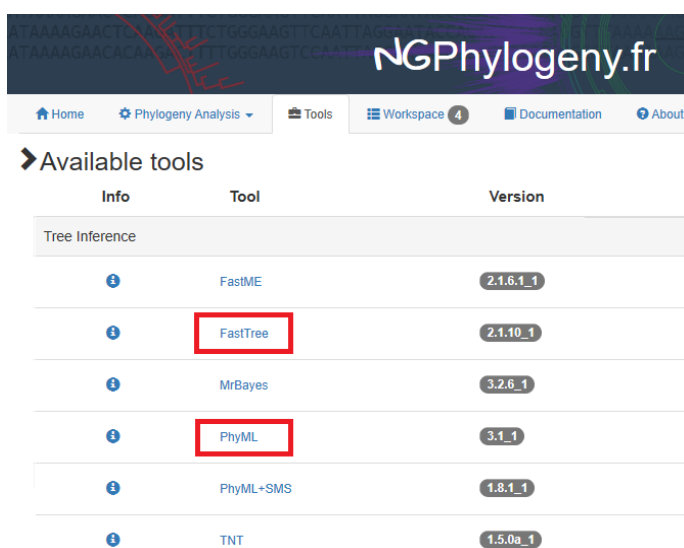
Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

### Annexe n°11 – Réalisation d'arbres phylogénétiques avec des algorithmes modélisateurs d'évolution PhyML et FastTree de NGPhylogeny pour expliquer le spectre d'association du ver avec des partenaires microalgues du genre *Tetraselmis*

**Pour aller plus loin**, on peut chercher à expliquer le spectre d'association de *Symsagittifera roscoffensis* en établissant la relation phylogénétique des 7 espèces de microalgues avec lesquelles il peut s'associer (Annexe n°10).

En utilisant les séquences partielles de l'ADNr 18S des différentes espèces de microalgues, on peut établir leur phylogénie moléculaire avec le logiciel PhyML de NGPhylogény.

Il peut être intéressant d'utiliser un autre logiciel comme FastTree utilisant un autre algorithme de comparaison de séquences. Les phylogrammes obtenus peuvent être différents. C'est l'occasion de mener une réflexion critique sur les différents algorithmes et modèles de reconstitution phylogénétiques et les interprétations à en faire.



The screenshot shows the NGPhylogeny.fr website interface. At the top, there is a navigation bar with links for Home, Phylogeny Analysis, Tools, Workspace (4), Documentation, and About. Below this, a section titled 'Available tools' lists several tools under the category 'Tree Inference'. The tools listed are FastME, FastTree, MrBayes, PhyML, PhyML+SMS, and TNT. The 'FastTree' and 'PhyML' entries are highlighted with red boxes. The version numbers for each tool are displayed in a rounded rectangle to the right of the tool name.

Info	Tool	Version
	Tree Inference	
<a href="#">i</a>	FastME	2.1.6.1_1
<a href="#">i</a>	FastTree	2.1.10_1
<a href="#">i</a>	MrBayes	3.2.6_1
<a href="#">i</a>	PhyML	3.1_1
<a href="#">i</a>	PhyML+SMS	1.8.1_1
<a href="#">i</a>	TNT	1.5.0a_1

Lien vers PhyML et FastTree de la plateforme NGPhylogeny : <https://ngphylogeny.fr/tools/>

Le document 4 donne les séquences de 9 espèces de microalgues dont 7 peuvent s'associer à *Symsagittifera roscoffensis* (annexe n°10). Il faudra copier intégralement ces séquences et leur intitulés avec le symbole (>) dans la fenêtre de dialogue des logiciels PhyML et FastTree pour l'établissement des phylogrammes.

Les séquences brutes ont été extraites au format FASTA de la banque de séquence internationale genbank de la plateforme NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) puis traitées avec les logiciels MUSCLE (<https://ngphylogeny.fr/tools/tool/263/form>) et Bioedit (<https://bioedit.software.informer.com/7.2/>).

Retrouvez éducol sur





Pour réaliser une phylogénie moléculaire, il est indispensable d'aligner les séquences suivant leurs homologies. L'outil MUSCLE utilise un algorithme permettant d'aligner des séquences. L'outil BioEdit est un éditeur de séquences qui permet ensuite à l'utilisateur d'éliminer les portions nucléotidiques non alignées (non homologues) aux extrémités 5' et 3', donc non utilisables pour la construction des relations phylogéniques avec les logiciels PhyML et FastTree.

Pour ces séquences, les discontinuités (absence de nucléotide) sont indiquées par des tirets (-).

Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

### Document 1 – Fiche technique simplifiée pour l'utilisation du logiciel PhyML de NGPhylogeny.

Lien vers PhyML de la plateforme NGPhylogeny : <https://ngphylogeny.fr/tools/tool/271/form>

The screenshot shows the NGPhylogeny.fr website interface for the PhyML 3.1.1 tool. The page has a dark header with the logo and a navigation menu. The main content area is titled 'PhyML 3.1.1' and contains several input fields and options:

- Alignment file:** A text input field with a 'Parcourir...' button. Below it, the text 'phylip/fasta format' is displayed.
- Annotation:** A red-bordered box contains the text: 'Copier-coller l'ensemble des séquences à comparer avec leurs intitulés complets'.
- interleaved format (if input is phylip):** A radio button is selected for 'Interleaved'.
- Data type:** Three radio buttons are present: 'Nucleic acids' (selected), 'Amino acids', and 'Auto detect'. A red-bordered box highlights the 'Nucleic acids' option, with a callout bubble pointing to it containing the text: 'Sélectionner la nature biochimique des molécules à comparer'.
- User input tree file (optional):** A text input field with a 'Parcourir...' button. Below it, the text 'newick format' is displayed.
- Submit:** A blue 'Submit' button is located at the bottom right, with a callout bubble pointing to it containing the text: 'Cliquer ici pour lancer le programme'.

Retrouvez éducol sur



Tool	Step	File Name	Status	
PhyML	5.	Mapping between short sequence id and names (useful to interpret some bootstrap log files if any)	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ .bt
	4.	PhyML Newick tree	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ .nhx <b>Viewer</b> ITol
	3.	PhyML Statistics	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ .bt
	2.	PhyML log	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ .bt
Upload File	1.	input_align pasted_sequence	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ .fasta MSAViewer

Visualiser le phylogramme

### Remarque

ITol (en jaune) est un outil permettant de visualiser et de paramétrer le phylogramme.

Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

Retrouvez éduscol sur



**Document 2 – Fiche technique simplifiée pour l'utilisation du logiciel FastTree de NGPhylogeny**

Lien vers FastTree de la plateforme NGPhylogeny : <https://ngphylogeny.fr/tools/tool/279/form>

**Aligned sequences file (FASTA/Phylip format)**  
 Parcourir...

**Copier-coller l'ensemble des séquences à comparer avec leurs intitulés complets**

**Nucleotide or protein alignment**  
 Nucleotide  
 Protein  
 Auto detect

**Select the model**  
 GTR  
 LG

**Use Gamma distribution**  
 Yes  
 Non-uniformity of evolutionary rates among sites may be modeled by using a discrete Gamma distribution

**Bootstrap branch support**  
 No branch support  
 Compute branch support

**Submit** (Cliquez ici pour lancer le programme)

**Visualiser le phylogramme**

Tool	Step	File Name	Status	Actions
FastTree	3.	FastTree output tree	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ 📄 ntx <b>Viewer</b> 📄 Tol
	2.	FastTree_log.txt	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ 📄 txt
Upload File	1.	input_align pasted_sequence	✓	+ ⚙️ ▶️ ⬇️ 📄 fasta <b>MSAViewer</b>

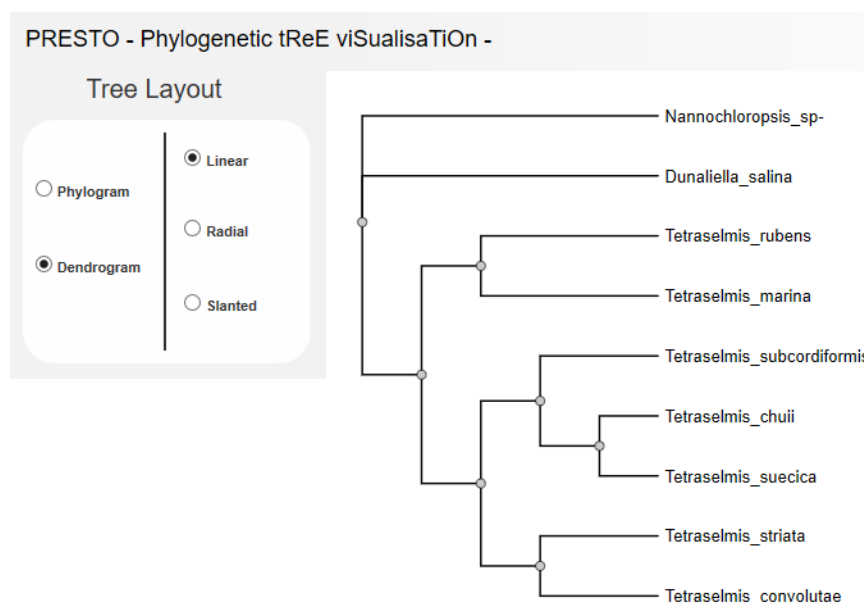
Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

Retrouvez éducol sur



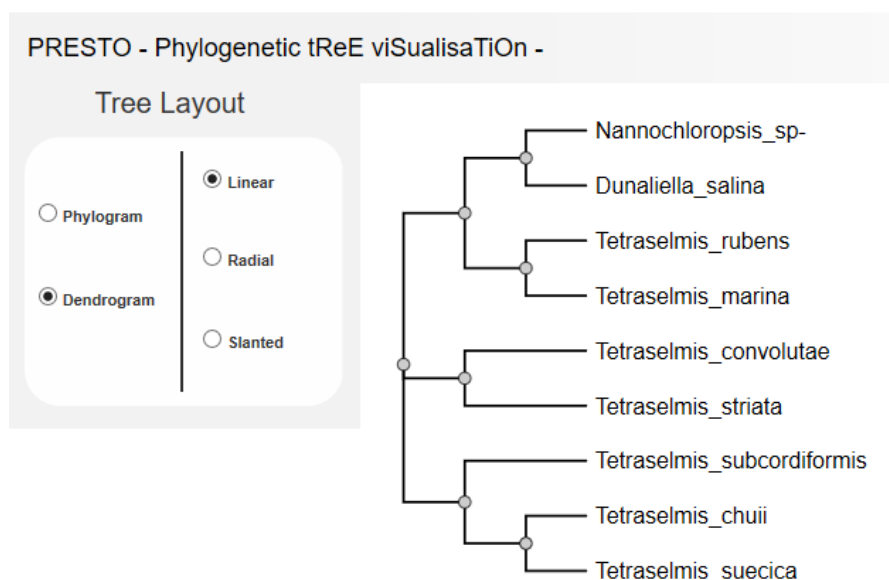
### Document 3 – Phylogrammes obtenus avec les logiciels PhylML et FastTree de NGPhylogeny

#### Phylogramme construit avec PhylML



L'algorithme du logiciel fait apparaître une proximité phylogénétique plus étroite entre les 7 espèces de microalgues auxquelles *S. roscoffensis* peut s'associer. On peut noter que toutes les espèces du spectre d'association de *S. roscoffensis* sont étroitement apparentées.

#### Phylogramme construit avec FastTree



On peut noter que 5 des 7 espèces de microalgues du spectre d'association de *S. roscoffensis* sont génétiquement proches pour les séquences comparées. *Nannochloropsis* et *Dunaliella* restent plus apparentées et sont plus éloignées des espèces du genre *Tetraselmis*. Par contre, *T. rubens* et *T. marina* sont génétiquement plus éloignées des autres espèces de *Tetraselmis* avec le traitement des mêmes séquences réalisé par un logiciel à l'algorithme différent.

Retrouvez éducol sur



Document conçu par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

### Document 4 – Séquences de l'ADNr 18S des espèces d'algues répertoriées dont on veut établir la proximité phylogénétique

Identifiant NCBI	Dénomination	Souche	Séquence de référence
U05039.1	Tetraselmis convolutae	strainRCC1564	ADNr 18S séquence partielle
KX904705.1	Tetraselmis rubens	isolate_Tetr_V_2_2	ADNr 18S séquence partielle
KY054995.1	Tetraselmis marina	strain_NZmm1W1	ADNr 18S séquence partielle
JF489950.1	Tetraselmis suecica	isolate_Tsuecica	ADNr 18S séquence partielle
JN904000.1	Tetraselmis striata	IVstrain_SAG_41.85	ADNr 18S séquence partielle
KU561107.1	Tetraselmis subcordiformis	isolate_DHmm3S1	ADNr 18S séquence partielle
KC594688.1	Tetraselmis chuii	isolate_SW4	ADNr 18S séquence partielle
JF903801.1	Dunaliella salina	strainI2	ADNr 18S séquence partielle
JX913538.1	Nannochloropsis sp.	SC-2012	ADNr 18S séquence partielle

Les séquences suivantes sont celles des 9 espèces répertoriées dans le tableau ci-avant (Source NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Les séquences brutes peuvent être téléchargées au format Fasta, sur le site NCBI en entrant leurs identifiants dans l'outil de recherche. Les séquences ci-après ont été préalablement alignées avec l'outil MUSCLE et rognées avec l'outil BioEdit pour leur utilisation directe avec les outils de construction de phylogénies PhylML et FasTree ; qui utilisent des algorithmes différents pour leur comparaison.

#### Copier – coller l'ensemble des séquences au format FASTA préalablement alignées dans la fenêtre de dialogue de PhylML et de FastTree puis lancer le programme

>Nannochloropsis\_sp.

```

ACC-TACTACTCGGATACCCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACATGCATCA-----ACTCCC-----AACTGCTTGTCGGACGG-
GATGT-----
-----ATTTATTAGATAGAAACCAATGCGGGGCAA-----CCCGGTATTGTGGTGAATCATGATAACTTTGCGGATCGC-
CGGCTTTT-----GCCA-
GCGACGAATCATTCAAGTTTCTGCCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGGTATTGGCCTACCATGGCTCTAACGGGTAACG-
GAGAATTGGGGTTCGATTCGCGAGAGGGAGCCTGAGAGACGG
CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGCGCGTAAATTACCC-AATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-
CAA-----TGCCG---GGGTTT--AACTCTGGCAATTGGAATG
AGAACAATT-TAAAT-CCCTTATCGAGGATCAATTGGAGGG-CAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGCG-GTAATTCCAGCTCC--AA-
TAGCGTATACTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCT
CGTAGTTGGATTT-CTGGCAGGGACGGCTGGTC-----GGTT-CCGATAAGGGGCCGTACTATTGTTGGTTC-CTGTCATCC-
TTGGGGAGAGC--GAT-TCTGGCATTAAAGTT
G-TTGGGGTCGGGATCC-CTATCTTTACTGTGAAAAAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGCTT---AGGC-CCTGAATACATTAG-
CATGGAATAATAAGATACGACCTTGGTGGTCTATT
TTGTTGGTTTGC-ACGCCAAGGTAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGTATTTCGATTCAATTGTCAGAGGTGAAATCTTG-
GATTTATGGAAGACGAACACTACTGCGAAAGCA-TTTACC
A-GGATGTTTTTCAATTAATCAAGAA-CGAAAGTTAGGGGATCGAAGATGATTAGATACCATCGTAGTCTTAACCATAAACTATGC-
CGACTAGGGATCGGTGGGTGCATTGT-AAGGCCCC
ATCGGCACCTTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTTCGCAAGGCTGGAACCTAAAGAAATTGACG-
GAAGGGCAC-CACCAGGAGTGG--AGCCTGCGGCTTAA
TTTGACTCAACACGGGGAACTT-ACCAGGTCCAGACATAG-TAAG-GATT-GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATCCTATGG-
GTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGAGT
GATTTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCCCGCCTGCTAAATAGT-ACTGGGAATGCTTAGCATTGCCAGAGAC-
TTCTTAGAGGGACTTTTCGGCGC-TAGGCCGAAGGAAGTT
GGGGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTCCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCGTTCAACGAGTTTA-
TAACCTTGTCCGGAAGGACCGGGTAACTT-GAAATGCGCAT
CGTGATAGGGATAGATTATTGCAACTATTAATCTTGAACGAGGAATCCTAGTAAACGCGAGTCATCAGCTCGCATTGAT-
TACGTCCTGCCCTTGTACA

```

## &gt;Dunaliella\_salina

ACCTT-TACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGTAA-----ATC-CC----GA--CTTCT-GGAAGG-  
 GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATAAAAAGGCC-AGCCGGGCTT-----GCCCGACTCTTGCGAATCATGATAACTTCACGAATCG-  
 CACGGCTTT--AT--GCCG-  
 GCGATGTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAACTTTTCGATGGTAGGATAGAGGCTACCATGGTGGTAACGGGTGACGGAG-  
 GATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCC-AATCCCAACACGGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-  
 CAA----TACCG---GGCATTTTT--GTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATC--TAAAT-CCCTAACGAGTATCCATTGGAGGGCCAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGCG-GTAATTCCAGCTCC--AA-  
 TAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTT-CGGGTGGGTTGTAGCGGTCAGCC-----T-TTGGTTAG-----TACTGCTACGGC-CTACCTTTCTCGCG-  
 GG--ACGAGCT-CCTGGGCTTAACTG  
 T-CCGGGACTCGGAATCGGCGA-GGTTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTTCAAAGCAAGCCT----ACGC-TCTGAATACATTAG-  
 CATGGAATAACACGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 T-GTTGGTCTGTAAGACCGGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGCATTCTGATTTTCATTGTGAGAGGTGAAATTCTTG-  
 GATTTATGAAAGACGAACCTTCTGCGAAAGCA-TTTGCC  
 AAGGATGTTTTCATTAATCAAGAA-CGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCGTAGTCTCAACCA-  
 TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGGTGTTTCGTTGATGACCCCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACG-  
 GAAGGGCAC-CACCAGCGTGG--AGCCTGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACTT-ACCAGGTCCAGACACGG-GGAG-GATT-GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTGTG-  
 GGTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTRCTAAATAGTCACGTCTA--CCTCGGTAGGCGCCTGAC-  
 TTCTTAGAGGACTATTGGCGT-TTAGCCAATGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT-ATCC-  
 TTGGCCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGATAGATTATTGCAATTATTAGTCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGCGAGTCATCAGCTCGCGTTGAT-  
 TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

## &gt;Tetraselmis\_chuii

ACC-TACTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGCAA-----ATC-CC----GA--CTTCT-GGAAGG-  
 GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATTTAAGGCC-GACCGAGCTT--T-GCTCGTCTTGCGGTGAATCATGATAACTTCACGAATCG-  
 CATGGCCCT-CGC---GCCG-  
 GCGATATTTCAATCAAATTTCTGCCCTATCAATTTGCGATGGTAGGATAGAGGCTACCATGGTGGTAACGGGTGACG-  
 GAGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCC-AATCCTGATACAGGGAGGTAGTGACACACTATAATAAT-  
 CAACTATCGCTGTGGTCTTGTCAAGTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATCATAACACAACCTTAACGAGGATCCATTGGAGGG-CAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGCGAGTAATTCCAGCTCC-  
 CAAATAGCGTATATTTAAGTTGCTGCAGTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTTCCGAATGGGATTTGCCGGTC-CC-----CCGTTCCCGGTGTG-----ACACTGCCAGTCTCCATCTTGTG-  
 GTGGGGAAGTACTCCCTGGGCTTACCG  
 TCCCAGGACTAGGAGCTGACGGAGTTACTTTGAATAAATAAGAGTGTTCAAAGCAAGCCT----ACGCTTCTGAATACATTAG-  
 CATGGAATAACATGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 TTGTTGGTCTGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGACATTCTGATTTTCATTGTGAGAGGTGAAATTCTTG-  
 GATTTATGAAAGACGAACCTTCTGCGAAAGCA-TTTGTC  
 AAGGATGTTTTCATTAATCAAGAA-CGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCTAGTCTCAACCA-  
 TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGACGTTTTTTTTGATGACTCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTCTGGGTTCCGGCGGGGAGATATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGAC-  
 CGAAGAGCACTCACCAGCCGTGG--AGCCCGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACTT-ACCAGGTCCAGACATAGATGAGCGACTCAGACAGATCGAGAGCTCTGTCTAGATTC-  
 TATGGGTGGTGTGCATGGCCGTATCGTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCGACCTGCTAAATAGTTACTCCTA--CTTTGGTAGGAGGTGAAC-  
 TTCTTAGAGGGACTATTGGCGT-TTAGCCAATGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT-AACC-  
 TTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTTCATCAAATCGCGTTGAT-  
 TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

Retrouvez éducol sur



## &gt;Tetraselmis\_rubens

ACC-TACTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGTAA-----ATC-CC----GA--CTCCT-GGAAGG-  
 GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATTTAAGGCC-AACCGAGCTC----T-GCTCGTCTCTTGGTGAATCATGATAACTTCACGAATCG-  
 CATGGCCTC--CGC---GCCG-  
 GCGATGTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAATTGGCGATGGTAGGATAGAGGCCCTACCATGGTGTAAACGGGTGACGGAG-  
 GATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAATGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGCGCGCAAATTACCC-AATCCTGATACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-  
 CAA----TACCG---GGCTTT-TCAAGTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATC--TAAAT-CCCTTAACGAGGATCCATTGGAGGG-CAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGCG-GTAATTCCAGCTCC-AA-  
 TAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTT-CGGATGGGACTTGCCGGTC--CG-----TCGTT-GCGATGTG-----CACTGGCCAGTC-CCATCTTGTGTGCG-  
 GGG-ACTAGCT-CCTGGGCTTCACTG  
 T-CCGGGACTAGGAGCTGACGA-GGTTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTTCAAAGCAAGCCT---ACGC-TCTGAATACATTAG-  
 CATGGAATAACACGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 CTGTTGGTCTGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGACATTCTGATTTTCATTGTGAGAGGTGAAATTCTTG-  
 GATTTATGAAAGACGAACCTTCTGCGAAAGCA-TTTGTC  
 AAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAA-CGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCTAGTCTCAACCA-  
 TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGACGTTTTTTTGTGACTCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACG-  
 GAAGGGCAC-CACCGAGCGTGG--AGCCTGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACCTT-ACCAGGTCCAGACATAG-TGAG-GATT-GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGG-  
 GTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGTTACTCCTA--CTTTGGTAGGAGGCGAAC-  
 TTCTTAGAGGACTATTGGCGT-TTAGCCAATGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT-AGCC-  
 TTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTTCATCAAATCGCGTTGAT-  
 TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

## &gt;Tetraselmis\_marina

ACC-TACTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGTAA-----ATC-CC----GA--CTTCT-GGAAGG-  
 GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATTTAAGGCC-AACCGAGCTC----T-GCTCGTCTCTTGGTGAATCATGATAACTTCACGAATCG-  
 CATGGCCTC--CGC---GCCG-  
 GCGATGTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAATTGGCGATGGTAGGATAGAGGCCCTACCATGGTGTAAACGGGTGACGGAG-  
 GATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGCGCGCAAATTACCC-AATCCTGATACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-  
 CAA----TACCG---GGCTTT-TCAAGTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATC--TAAAT-CCCTTAACGAGGATCCATTGGAGGG-CAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGCG-GTAATTCCAGCTCC-AA-  
 TAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTT-CGGATGGGACTTGCCGGTC--CG-----TCGTT-GCGATGTG-----CACTGGCCAGTC-CTATCTTGTGTGCG-  
 GGG-ACTAGCT-CCTGGGCTTCACTG  
 T-CCGGGACTAGGAGCTGACGA-GGTTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTTCAAAGCAAGCCT---ACGC-TCTGAATACATTAG-  
 CATGGAATAACACGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 CTGTTGGTCTGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGACATTCTGATTTTCATTGTGAGAGGTGAAATTCTTG-  
 GATTTATGAAAGACGAACCTTCTGCGAAAGCA-TTTGTC  
 AAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAA-CGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCTAGTCTCAACCA-  
 TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGACGTTTTTTTGTGACTCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACG-  
 GAAGGGCAC-CACCGAGCGTGG--AGCCTGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACCTT-ACCAGGTCCAGACATAG-TGAG-GATT-GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGG-  
 GTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGTTACTCCTA--CTTTGGTAGGAGGCGAAC-  
 TTCTTAGAGGACTATTGGCGT-TTAGCCAATGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT-AGCC-  
 TTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTTCATCAAATCGCGTTGAT-  
 TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

Retrouvez éducol sur



## &gt;Tetraselmis\_subcordiformis

ACC-TACTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGTAC-----ATC-CT---GA--CTTCT-GGAAAG-GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATTTAAGGCC-GACCGAGCTT---T-GCTCGTCTTGCGGTGAATCATGATAACTTCACGAATCG-CATGGCCTC-CGC---GCCG-  
 GCGATATTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAATTTGCGGATGGTAGGATAGAGGCTACCATGGTGGTAACGGGTGACGGG-GAATTAGGGTTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCC-AATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-CAA---TACCG---GGCTTT-TCAAGTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATC--TAAACAACCTTAACGAGGATCCATTGGAGGG-CAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGCG-GTAATTCCAGC-TCC--AATAGCGTATATTTAAGTTGCTGCAGTTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTT-CGGATGGGATTTGCCGGTC-CG-----TCGTT-TCGATGTG-----CACTGGCCAGTC-CCATCTTGTGTGCG-GGG-ACTAGCT-CCTGGGCTTAACTG  
 T-CCGGGACTAGGAGCTGACGA-GGTTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTTCAAAGCAAGCCA----TCGC-TCTGAATACATTAG-CATGGAATAACATGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 TTGTTGGTCTGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGACATTTCGATTTTCATTGTGAGAGGTGAAATTCTTG-GATTTATGAAAGACGAACCTTCTGCGAAAGCA-TTTGTC  
 AAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAA-CGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCTAGTCTCAACCA-TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGACGTTTTTTTGATGACTCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACG-GAAGGGCAC-CACCAGGCGTGG--AGCCTGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACTT-ACCAGGTCCAGACATAG-TGAG-GATT-GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGG-GTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGTTACTCCTA--CTTTGGTAGGAGGTGAAC-TTCTTAGAGGACTATTGGCGT-TTAGCCAATGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT--AACCTTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTTCATCAAATCGCGTTGAT-TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

## &gt;Tetraselmis\_suecica

ACC-TACTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGCAA-----ATC-CC---GA--CTTCT-GAAAGG-GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATTTAAGGCC-GACCGAGCTT---T-GCTCGTCTTGCGGTGAATCATGATAACTTCACGAATCG-CATGGCCCT-CGC---GCCG-  
 GCGATATTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAATTTGCGGATGGTAGGATAGAGGCTACCATGGTGGTAACGGGTGACG-GAGAATTAGGGTTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCC-AATCCTGATACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-CAA---TACCG---GGCTTT-TCAAGTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATC--TAAACAACCTTAACGAGGATCCATTGGAGGG-CAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGCG-GTAATTCCAGC-TCC--AATAGCGTATATTTAAGTTGCTGCAGTTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTT-CGGATGGGATTTGCCGGTC-CG-----CCGTT-CCGGTGTG-----CACTGGCCAGTC-TCATCTTGTGTGTTG-GGG-ACTAGCT-CCTGGGCTTCACTG  
 T-CCGGGACTAGGAGCTGACGA-GGTTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTTCAAAGCAAGCCT----ACGC-TCTGAATACATTAG-CATGGAATAACATGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 TTGTTGGTCCGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGACATTTCGATTTTCATTGTGAGAGGTGAAATTCTTG-GATTTATGAAAGACGAACCTTCTGCGAAAGCA-TTTGTC  
 AAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAA-CGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCTAGTCTCAACCA-TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGACGTTTTTTTGATGACTCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACG-GAAGGGCAC-CACCAGGCGTGG--AGCCTGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACTT-ACCAGGTCCAGACATAG-TGAG-GATT-GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGG-GTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGTTACTCCTA--CTTTGGTAGGAGGTGAAC-TTCTTAGAGGACTATTGGCGT-TTAGCCAAGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT--AACCTTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTTCATCAAATCGCGTTGAT-TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

Retrouvez éducol sur





>Tetraselmis\_convolutae

ACC-TACTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGGGCTAATACGTGCGTAA-----ATC-CT----GA--CTTCT-GGAAGG-GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATTTAAGGCC-GACCGAGCTT---T-GCTCGTCTTGGCGTGAATCATGATAACTTCACGAATCG-CATGGCCTCCGCGC---GCCG-  
 GCGATGTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAATTTGCGATGGTAGGATAGAGGCCACCATGGTGGTAACGGGTGACG-GAGAATTAGGGTTCGATTCCGGATAGGGAGCCTGAGAAACGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGCGCGCAAATTACCC-AATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-CAA----TACCG---GGCTTT-TCAAGTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATC--TAAACAACCTTAACGAGGATCCATTGGAGGG-CAAGTCTGGTTGCCAGCAGCCGC--GTAATTCAGC-TCC--AATAGCGTATATTTAAGTTGCTGCAGTTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTT-CGGATGGGATTTGCCGGTC-CG-----CCGTT-TCGGTGTG-----CACTGGCCAGTC-CCATCTTGTGTGCG-GGG-ACTAGCT-CCTGGGCTTCACTG  
 T-CCGGGACTAGGAGCTGACGA-GGTTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTTCAAAGCAAGCCT----ACGC-TCTGAATACATTAG-CATGGAATAACATGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 TTGTTGGTCTGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGGCATTTCGATTTTCATTGTCAGAGGTGAAATCTTG-GATTTATGAAAGACGAACTTCTGCGAAAGCATTTTGTC  
 AAGGATGTTTTTCATTAATCAACAACCGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCCTAGTCTCAACCA-TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGACGTTTTTTTGATGACTCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACG-GAAGGGCAC-CACGAGCGTGGGCAGCCTGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACCTTAACCAGGTCCAGACATAG-TGAG-GATT--GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATG-GGTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGTTACTCCTA---CTTTGGTAGGAGGTGAAC-TTCTTAGAGGGACTATTGGCGT-TTAGCCAATGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT-AGCC-TTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTTCATCAGATCGCGTTGAT-TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

>Tetraselmis\_striata

ACC-TACTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGTAA-----ATC-CC----GA--CTTCT-GGAAGG-GACGT-----  
 -----ATTTATTAGATTTAAGGCC-GACCGAGCTT---T-GCTCGTCTTGGCGTGAATCATGATAACTTCACGAATCG-CATGGCCTC-CGC---GCCG-  
 GCGATGTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAATTTGCGATGGTAGGATAGAGGCCACCATGGTGGTAACGGGTGACG-GAGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGG  
 CTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGCGCGCAAATTACCC-AATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAAATAA-CAA----TACCG---GGCTTT-TCAAGTCTGGTAATTGGAATG  
 AGTACAATC--TAAACAACCTTAACGAGGATCCATTGGAGGG-CAAGTCTGG-TGCCAGCAGCCGC--GTAATTCAGC-TCC--AATAGCGTATATTTAAGTTGCTGCAGTTAAAAAGCT  
 CGTAGTTGGATTT-CGGATGGGATTTGCCGGTC-CG-----CCGTT-TCGGTGTG-----CACTGGCCAGTC-CCATCTTGTGTGCG-GGG-ACTAGCT-CCTGGGCTTCACTG  
 T-CCGGGACTAGGAGCTGACGA-GGTTACTTTGAGTAAATTAGAGTGTTCAAAGCAAGCCT----ACGC-TCTGAATACATTAG-CATGGAATAACATGATAGGACTCTG--GCTTATC  
 TTGTTGGTCTGTGAGACCAGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGGCATTTCGATTTTCATTGTCAGAGGTGAAATCTTG-GATTTATGAAAGACGAACTTCTGCGAAAGCA-TTTGTC  
 AAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAA-CGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATTAGATACCGTCCTAGTCTCAACCA-TAAACGATGCCGACTAGGGATTGGCAGACGTTTTTTTGATGACTCT  
 GCCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCCG--GGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACG-GAAGGGCAC-CACGAGCGTGG--AGCCTGCGGCTTAA  
 TTTGACTCAACACGGGAAAACCT-ACCAGGTCCAGACATAG-TGAG-GATT--GACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATG-GGTGGTGGTGCATGGCCGT-TCTTAGTTGGTGGGTT  
 GCCTTGTGAGTTGATTCCGGTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGTTACTCCTA---CTTTGGTAGGAGGTGAAC-TTCTTAGAGGGACTATTGGCGT-TTAGCCAATGGAAGTG  
 TGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGCGCTACACTGATGCATTCAACGAGCCT-AGCC-TTGACCGAGAGGTCCGGGTAATCTT-TGAAACTGCAT  
 CGTGATGGGGCTAGATTATTGCAATTATTAATCTTCAACGAGGAATGCCTAGTAAGCGTGATTTCATCAGATCGCGTTGAT-TACGTCCCTGCCCTTTGTACA

Séquences préparées par Lucas Filleur, enseignant de biologie-écologie et Yann Renault, enseignant de SVT ; Lycée Théodore Monod, Le Rheu

Retrouvez éducol sur



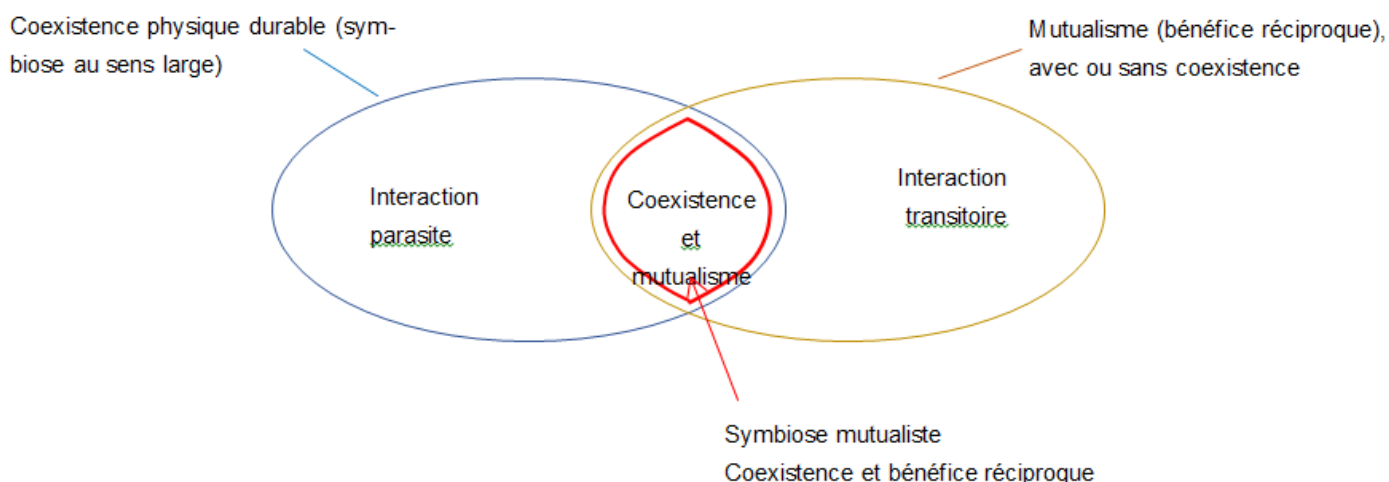
### Annexe n°12 – Les interactions entre espèces

Le terme *mutualisme* a été proposé par Van Breneden (1875) pour désigner « **des organismes qui se procurent l'un l'autre des services** ». Actuellement on distingue la coopération (pour des interactions à bénéfices réciproques entre individus d'espèces identiques ou non) du mutualisme (restreint aux relations interspécifiques à bénéfices réciproques). Les partenaires peuvent interagir transitoirement, comme lors de la pollinisation, ou de la dispersion des graines par les frugivores.

Dans d'autres situations, les partenaires sont associés plus ou moins durablement au cours de leur vie : on parle de symbiose.

Pour certains auteurs, le terme de **symbiose au sens large** (du grec sun-, avec, et bios, vie) désigne une coexistence durable, impliquant tout ou partie du cycle de vie de deux organismes, quels que soient les échanges entre eux-ci. La symbiose comprendrait alors le mutualisme, le commensalisme et le parasitisme (Mushegian et Ebert, 2016).

Une seconde définition restreint le terme **symbiose aux coexistences durables et mutualistes** (en rouge sur la figure (Laloy 1906, Sélosse 2001)). Il s'agit pour eux d'une relation à bénéfices réciproques, équivalent au mutualisme, excluant de fait le commensalisme (neutre pour l'hôte) et le parasitisme (négatif pour l'hôte). Il est difficile de placer une limite entre mutualisme et parasitisme qui représente davantage deux situations extrêmes d'un continuum.



Relations entre symbiose et mutualisme. (*Biologie évolutive*, p 557)

#### Place du mutualisme dans les interactions entre deux organismes

Partenaire A	Partenaire B (Hôte)	Type d'interaction
+	+	Mutualisme
+	-	Parasitisme (dont prédation)
+	0	Commensalisme
0	-	Amensalisme
0	0	Neutralisme
-	-	Compétition

(+) effet favorable ; (-) effet défavorable ; (0) aucun effet

Retrouvez éduscol sur



Le **mutualisme** : les deux partenaires tirent bénéfice de l'association.

Le **parasitisme** : seul un des deux partenaires tire bénéfice de l'association, l'autre en tire un inconvénient.

Le **commensalisme** : seul un des deux partenaires tire bénéfice de l'association, l'autre n'en tire aucun avantage ni inconvénient.

Le **neutralisme** : aucun des deux partenaires ne tire ni avantage, ni bénéfice de l'association.

La **compétition** : il existe une rivalité intraspécifique ou interspécifique pour l'accès aux ressources limitées du milieu.

*Biologie évolutive*, Thomas, Lefèvre, Raymond - Edition 2010, De Boeck