

Examen M2 “Concepts et méthodes en biologie” – 20 octobre 2023
Les « araignées d’eau » (total : 28 pts)

Ces insectes (qui ne sont pas des araignées) sont caractérisés par la présence de très longues pattes. Tout d’abord, nous allons essayer de comprendre par quels mécanismes génétiques ces longues pattes ont évolué chez l’espèce *Microvelia longipes*. **Les questions 12-15 sont indépendantes.**

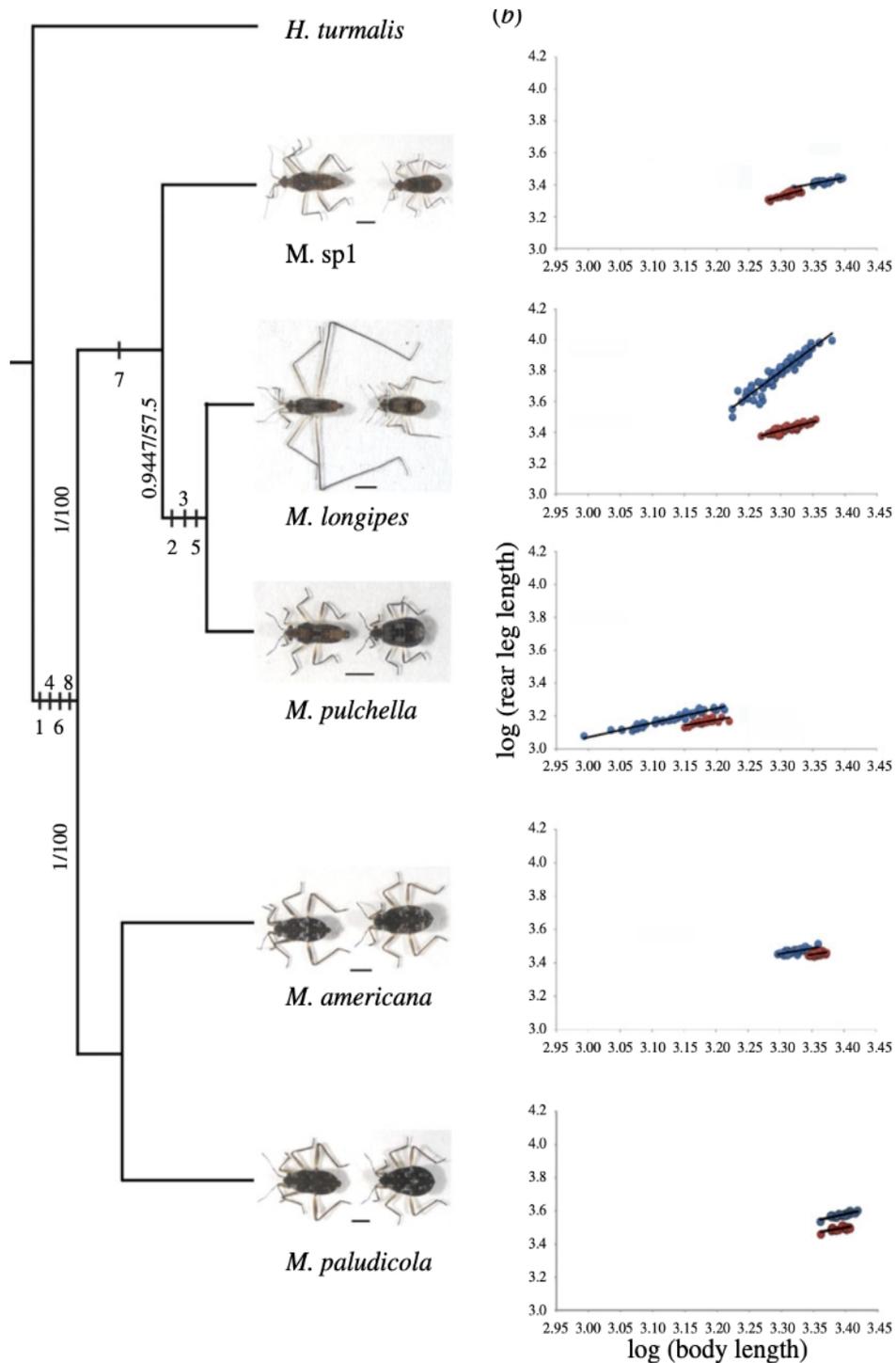


Fig. 1. Arbre phylogénétique de cinq espèces du genre *Microvelia*. Des photos de mâles (à gauche) et de femelles (à droite) illustrent la différence entre sexes. La barre d’échelle représente 1 mm. (b) Les relations d’échelle des données log-transformées entre la longueur des pattes arrières et la longueur du corps ont été estimées chez les mâles (bleu) et les femelles (rouge).

1) Quelles sont les particularités des pattes arrières de *Microvelia longipes* par rapport aux quatre autres espèces ? (de manière absolue et par rapport à la taille du corps) (2 pts)

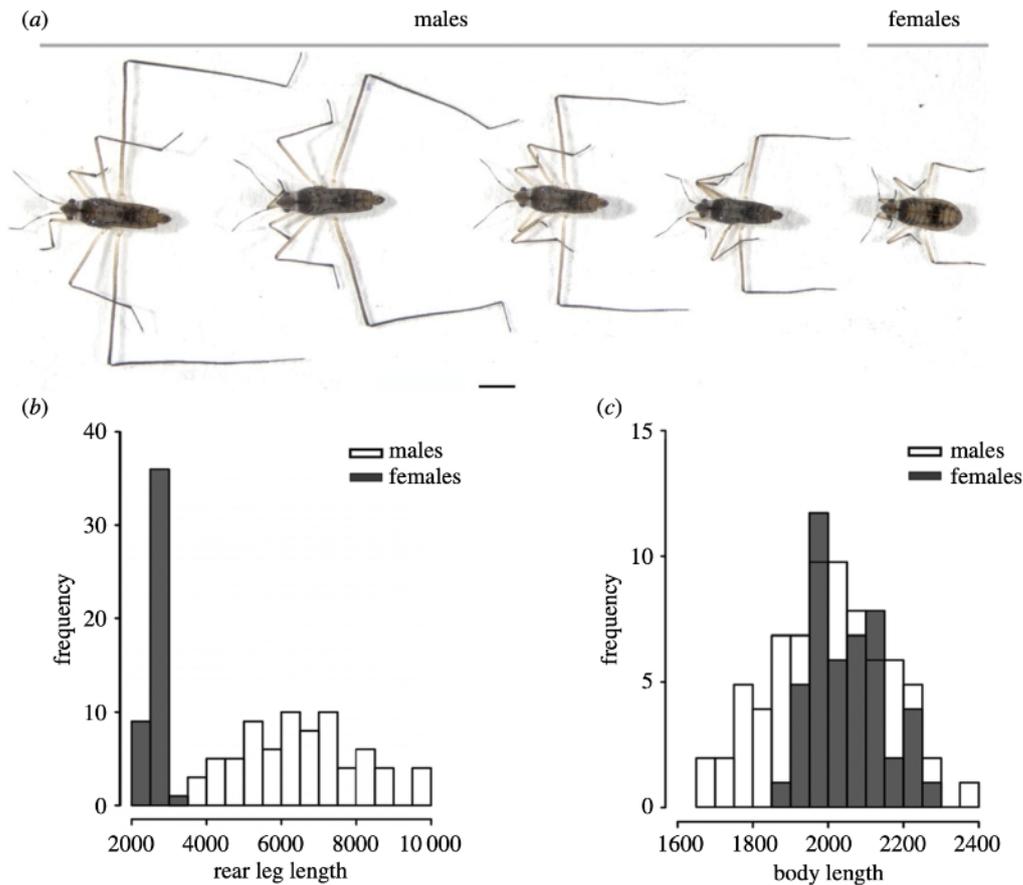


Fig. 2. Variation de la longueur de la patte arrière chez *M. longipes*. (a) Photos de quatre mâles et une femelle. (b) Distributions des longueurs de patte arrière et (c) des longueurs du corps des mâles (blanc) et des femelles (gris) d'une population naturelle collectée en Guyane française. Les mesures des pattes et du corps sont en micromètres.

2) Si la figure 1 représente la variation interspécifique, que représente la figure 2 ? (0,5 pt)

3) Les mêmes données ont été représentées en Figure 2b-c et sur le 2^e graphique de la Figure 1. Selon vous, quelle représentation apporte plus d'information ? Justifiez votre réponse. (2 pts)

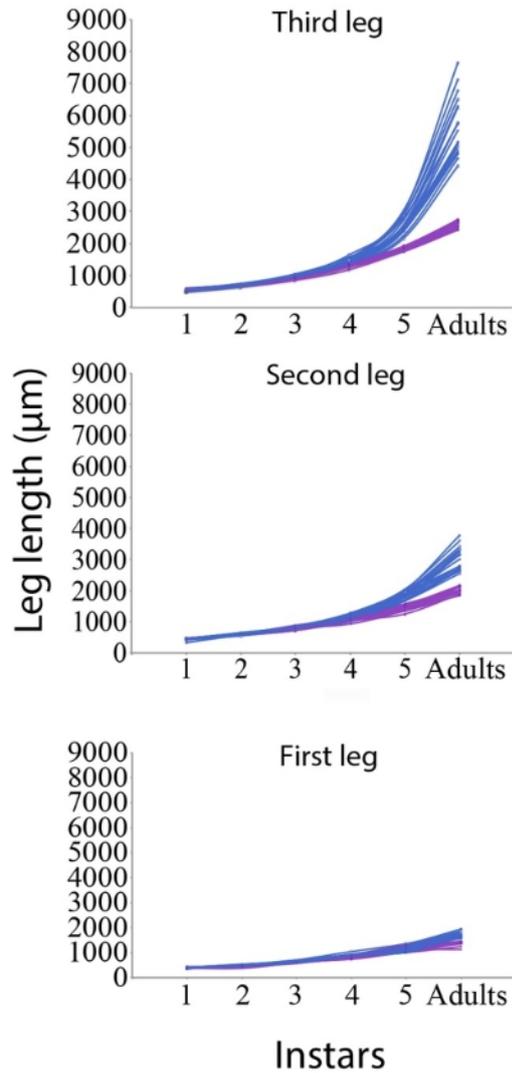
Les araignées d'eau pondent des œufs, dont éclosent des larves de 1^{er} stade larvaire. Ces larves vont effectuer 4 mues successives et la larve de 5^e stade larvaire va rentrer en métamorphose et donner un adulte.

4) Représentez le cycle de vie d'une araignée d'eau. (2 pts)

La taille des pattes a été mesurée au cours du développement des araignées d'eau au laboratoire, chez des mâles et chez des femelles *M. longipes*.

5) D'après la figure 3, à partir de quel stade le développement des pattes arrière du mâle commence-t-il à diverger de celui des autres pattes ? (1 pt)

Fig. 3. Longueur des pattes au cours du développement chez les mâles (bleu) et les femelles (violet) de l'espèce *M. longipes*. Chaque ligne représente la dynamique de croissance des pattes d'un seul individu jusqu'à l'âge adulte.



Afin de trouver des gènes expliquant l'accroissement plus rapide des pattes arrières des mâles de *M. longipes*, les chercheurs décident de lancer une expérience de RNAseq.

6) Expliquer en 10-15 lignes environ les différentes étapes du protocole de RNAseq. (3 pts)

Les chercheurs décident de réaliser 3 réplicats par condition (c'est-à-dire 3 séquençages RNAseq de matériel biologique pour chaque condition étudiée).

7) Pourquoi faut-il faire des réplicats dans une expérience de RNAseq ? (1 pt)

8) Sachant que les chercheurs disposent d'assez d'argent pour analyser 4 conditions (avec 3 réplicats pour chaque condition), quelles sont les conditions/échantillons que vous leur suggèreriez pour cette expérience RNAseq ? Justifiez (2 pts)

Les chercheurs ont ainsi identifié 30 gènes candidats potentiellement impliqués dans l'accroissement plus rapide des pattes arrières des mâles de *M. longipes*, dont le gène *BMP11*.

9) Interprétez les résultats de la figure 4. (1 pt)

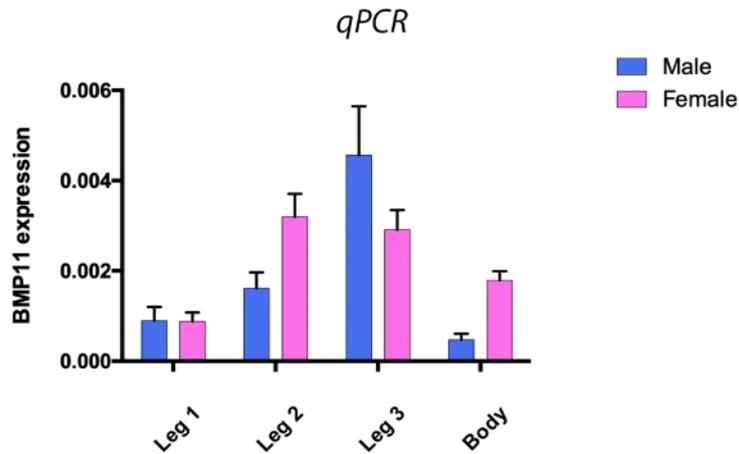


Fig. 4. Niveau d'expression du gène *BMP11* mesuré par RT-PCR quantitative (qPCR) dans des pattes de *M. longipes* disséquées au 5^e stade larvaire.

L'interférence ARN (ARNi ou RNAi) est un mécanisme par lequel des molécules d'ARN double brin conduisent à la suppression de l'expression de gènes comportant la même séquence que l'ARN double brin, par le biais de la répression traductionnelle ou transcriptionnelle.

10) Faites un schéma expliquant le fonctionnement du RNAi. (2 pts)

Pour inhiber le gène *BMP11*, les chercheurs ont injecté des RNAi dans des individus *M. longipes* (Fig. 5).

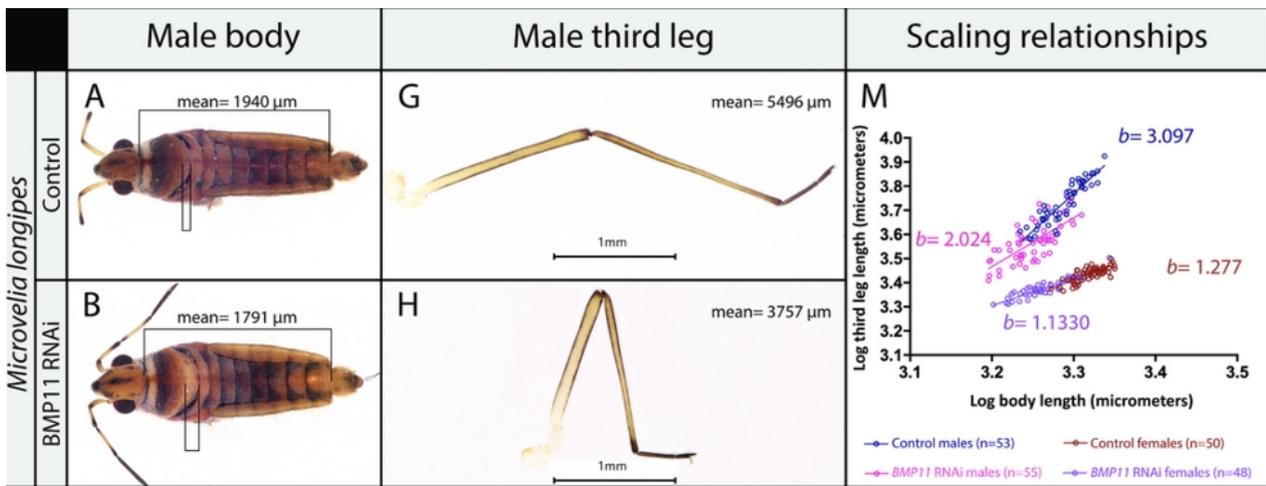


Fig. 5. Effet du RNAi *BMP11* sur la croissance du corps et des pattes arrières de *M. longipes*. Control= témoin = injection de solution tampon sans RNAi.

11) Interprétez les résultats de la figure 5 (et en particulier l'expérience témoin). (3 pts)

Ecologie et évolution des araignées d'eau

M. longipes est détecté principalement dans les petites flaques d'eau de pluie, tandis que *M. pulchella* se trouve aussi bien dans les eaux temporaires que dans les eaux plus stables. *M. longipes* pond surtout ses œufs sur des radeaux flottants alors que *M. pulchella* les pond dans la boue autour de l'eau. Ces deux espèces occupent donc des niches différentes.

12) Complétez la phrase précédente. (0,5 pt)

Les araignées d'eau mâles défendent de petits radeaux sur lesquels les femelles peuvent pondre des oeufs. Si un autre mâle s'approche, une bataille peut s'engager et seulement un des deux mâles ressort vainqueur et devient maître du radeau flottant. Les mâles se battent avec leurs pattes.

13) Proposez une expérience pour tester si les mâles aux plus grandes pattes gagnent plus souvent les combats. (2 pts)

14) Que pourrait-il arriver à la longueur des pattes des mâles si les mâles ne rencontrent jamais de mâles rivaux sur plusieurs générations ? Justifiez. (3pts)

15) Quelle est la différence entre la sélection artificielle et l'évolution expérimentale ? Laquelle de ces deux méthodes utiliseriez-vous pour faire évoluer les mâles avec des pattes encore plus grandes ? (3pts)

Solutions

1) chez toutes les espèces : plus la taille du corps augmente, plus la longueur des pattes augmente.
Particularités des pattes arrières de *Microvelia longipes* :

- les pattes des mâles sont plus grandes que les pattes des autres espèces
- les pattes des mâles sont plus grandes que les pattes des femelles (dimorphisme sexuel, alors qu'il n'y a pas de différence chez les autres espèces, mis-à-part chez *M. sp1* où les mâles sont plus gros et ont des pattes un peu plus grandes mais qui restent proportionnelle à leur corps)
- le rapport longueur des pattes arrières sur longueur du corps est plus élevé pour les mâles que pour les femelles (alors que ce rapport est identique chez les mâles et femelles pour les autres espèces)

2) variation intraspécifique

3) le graphique de la figure 1, car on voit comment varie la longueur des pattes en fonction de la longueur du corps, alors que cette information n'apparaît pas sur la Figure 2.

4) Le cycle de vie doit indiquer :

- cercle avec des flèches allant d'un stade à un autre : oeuf, larve 1^e stade, larve 2^e stade, larve 3^e stade, larve 4^e stade, larve 5^e stade, adulte
- stades séparés par des mues et une métamorphose (à indiquer sur les flèches)
- mâles et femelles adultes → gamètes → fécondation → oeuf

5) Le développement des troisièmes pattes commence à diverger au 4-5^{ème} stade.

6) RNAseq :

- dissection des organes/tissus
- extraction des ARN
- reverse transcription pour produire de l'ADNc
- préparation de la banque d'ADN (avec amorces particulières contenant des codes barres différents pour chaque échantillon)
- séquençage haut-débit des banques
- attribution des reads à chaque échantillon
- mapping des reads sur les séquences codantes de l'espèce concernée
- quantification des ARNm de chaque gène

7) car il peut y avoir des variations lors de l'obtention des résultats de RNAseq entre les individus ou entre les organes : contamination, tissus mal préservés, ARN qui se dégradent, différences entre individus, etc. En faisant plusieurs réplicats, on ne va s'intéresser qu'aux gènes qui varient de la même façon chez tous les réplicats. De plus, les réplicats permettent d'avoir suffisamment d'échantillons pour pouvoir faire des statistiques et identifier les gènes exprimés de façon significativement différente selon les conditions.

8) 4 conditions :

- mâles versus femelles
- pattes arrières du 4^e stade larvaire versus 3^e stade larvaire
- ou alors pattes arrières versus pattes avants pour le 4^e stade larvaire

9) - qRT-PCR donc mesure la quantité d'ARNm du gène BMP11 présents dans les tissus

- Le gène BMP11 est exprimé dans les 3 paires de pattes au 5^e stade larvaire et aussi dans le corps entier (qui comprend les pattes donc peut-être pas d'autres tissus accumulant l'ARNm).
- Son expression est plus élevée dans les pattes les plus postérieures.

- Elle est plus forte chez les mâles que chez les femelles pour les pattes 3, plus forte chez les femelles que chez les mâles pour les pattes 2, et de même niveau chez les mâles et femelles pour les pattes 1

10) – injection d'ARN double brin dans un individu (embryon ou larve)

- l'ARN double brin reconnaît les ARNm qui possèdent la même séquence et entraîne l'inhibition de leur expression.

11) - témoin : l'injection de tampon sans RNAi n'a pas d'effet sur la taille des pattes et du corps

- RNAi BMP11 sur les femelles : animaux plus petits et le rapport longueur pattes arrière sur longueur du corps est inchangé

- RNAi BMP11 sur les mâles : animaux plus petits et le rapport longueur pattes arrière sur longueur du corps est plus faible

- Interprétation : le gène BMP11 semble stimuler la croissance des organes. Une expression plus forte dans les pattes arrière au cours du 4-5^e stade larvaire chez les mâles pourrait expliquer que ces pattes soient plus grandes que celles des femelles et que celles des autres paires de pattes.

12) niches écologiques

13) - mettre des petits radeaux avec des mâles de différentes tailles de pattes (un mâle par radeau) puis faire venir un autre mâle ayant des pattes de taille différente, enregistrer plusieurs dizaines de combats et voir si c'est toujours le mâle aux longues pattes qui gagne

Ceci sera juste une corrélation. Cela ne permettra pas de démontrer avec certitude que ce sont les pattes qui jouent.

Une autre série d'expérience pourrait être faite en raccourcissant les pattes de différentes tailles avec des ciseaux, s'il est montré que cette manipulation n'empêche pas les mâles de se battre.

14) Si la compétition entre mâles conduit à des pattes plus grandes, alors en l'absence de mâles rivaux sur plusieurs générations, les pattes sont susceptibles de devenir plus petites. Cela est dû au fait que le maintien de tels traits sexuels exagérés est généralement coûteux pour un individu. Les longues pattes consomment plus de matériaux organiques pour leur développement et plus d'énergie pour leur entretien et fonctionnement.

15) La sélection artificielle consiste à faire se reproduire des individus qui présentent le trait de caractère que l'on cherche à sélectionner. C'est une sélection dirigée qui peut soit augmenter, soit diminuer la valeur d'un trait donné. L'évolution expérimentale revient à modifier l'environnement, les conditions de vie et de laisser la population évoluer et éventuellement s'adapter à ces conditions environnementales sur plusieurs générations. C'est un processus exploratoire dans lequel les individus développent des stratégies pour faire face à un problème. Pour sélectionner une taille de jambe plus petite, il est donc plus efficace d'utiliser la sélection artificielle.

Examen préparé à partir des articles suivants :

Toubiana, W., & Khila, A. (2019). Fluctuating selection strength and intense male competition underlie variation and exaggeration of a water strider's male weapon. *Proceedings of the Royal Society B*, 286(1901), 20182400.

Toubiana, W., Armisén, D., Viala, S., Decaras, A., & Khila, A. (2021). The growth factor BMP11 is required for the development and evolution of a male exaggerated weapon and its associated fighting behavior in a water strider. *PLoS biology*, 19(5), e3001157.