

Contexte

Chez les abeilles (*Apis mellifera*), les membres d'une même colonie partagent certaines caractéristiques, qui sont directement liées à leur microbiote intestinal composé de nombreuses espèces de microorganismes, dont des bactéries. Par exemple, chaque colonie d'abeilles possède un profil olfactif particulier lié à son microbiote intestinal qui la différencie d'une colonie voisine. Les molécules odorantes émanant des abeilles arrivant à la ruche sont reconnues par les vigiles postés à l'entrée, ce qui permet d'évincer les intrus ne présentant pas le profil olfactif commun à la colonie.

On cherche à identifier si, selon leur microbiote, les abeilles étudiées sont susceptibles d'appartenir ou non à la même colonie.

Consignes

Partie A : Appropriation du contexte et activité pratique (durée recommandée : 30 minutes)

La stratégie adoptée consiste à identifier, pour une abeille de référence appartenant à une colonie déterminée et deux abeilles inconnues, la présence de certaines bactéries dans leur microbiote intestinal grâce aux tailles des fragments d'ADN bactériens amplifiés.

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

Partie B : Présentation et interprétation des résultats, poursuite de la stratégie et conclusion (durée recommandée : 30 minutes)

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

***Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examineur** pour vérifier votre production et obtenir une ressource complémentaire*

Discuter la pertinence de la stratégie utilisée pour identifier l'appartenance d'une abeille à une colonie.

***Appeler l'examineur** pour présenter votre proposition à l'oral*

Conclure, à partir de l'ensemble des données, sur l'appartenance ou non des trois abeilles à une même colonie.

Protocole

Matériel :

- ADN amplifié par PCR, spécifique de bactéries intestinales des abeilles :
 - A = abeille de référence appartenant à la colonie identifiée et dont le microbiote comprend les deux bactéries *Gilliamella apicola*, et *Snodgrassella alvi* ;
 - B = abeille inconnue B ;
 - C = abeille inconnue C ;
- marqueurs de poids moléculaires ;
- micropipettes 20 µL + cônes stériles
- gels d'électrophorèse avec puits ;
- dispositif d'électrophorèse et sa fiche protocole ;
- becher pour verser le tampon de migration ;
- cache noir pour observer la migration en cours ;
- chronomètre ;
- poubelle de table.

Étapes du protocole à réaliser :

- **réaliser** une électrophorèse des fragments d'ADN des deux tubes.

L'ADN amplifié est spécifique des bactéries :

- *Gilliamella apicola*, caractérisée par un fragment de 210 pb ;
- *Snodgrassella alvi* est caractérisée par un fragment de 128 pb.

Sécurité :



Précautions de la manipulation :



Ressources

La reconnaissance des abeilles d'une colonie :

Les abeilles butineuses de chaque colonie sont porteuses de molécules odorantes spécifiques déterminantes pour permettre l'accès à la ruche. Or, la signature chimique propre à chaque colonie est déterminée par la composition du microbiote intestinal commun à toutes les abeilles de la colonie.

La technique d'amplification d'ADN par PCR :

Cette technique permet d'obtenir, à partir d'un échantillon contenant de nombreuses molécules d'ADN en très petites quantités, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique de longueur définie. Pour cela, on réalise une succession de réactions de réplication de l'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces qui définissent la séquence à amplifier. Ce fragment sera ensuite facilement identifiable après électrophorèse sur gel d'agarose.

L'électrophorèse sur gel d'agarose :

Cette technique permet théoriquement la séparation de fragments d'ADN en fonction de leur taille sous l'effet d'un champ électrique. Cette séparation s'effectue à travers la matrice du gel d'agarose : les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures.