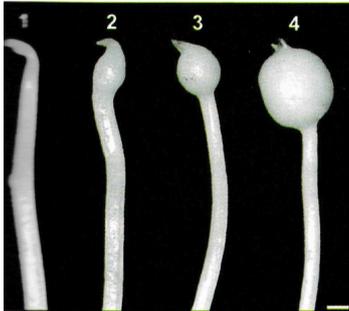
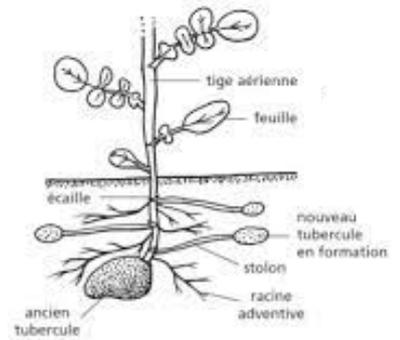


Livret d'exercice n°3

Chez la pomme de terre, la tubérisation affecte l'extrémité des stolons souterrains qui se comportent comme des puits de stockage. Le saccharose issu de la sève élaborée est transformé en amidon stocké dans les amyloplastes du tubercule.



Document a

Localisation de la tubérisation d'un stolon.

Les extrémités de stolons (1 à 4) appartiennent à un même plant et sont observées au bout de dix semaines de culture. La barre d'échelle mesure 2 mm.

Du CO₂ marqué au ¹⁴C est fourni au niveau foliaire pendant une heure (pulse). Quatre heures après la fin de cette phase de pulse, les stolons sont récupérés et coupés longitudinalement. La radioactivité est révélée qualitativement par autoradiographie ou quantifiée après extraction



Document b

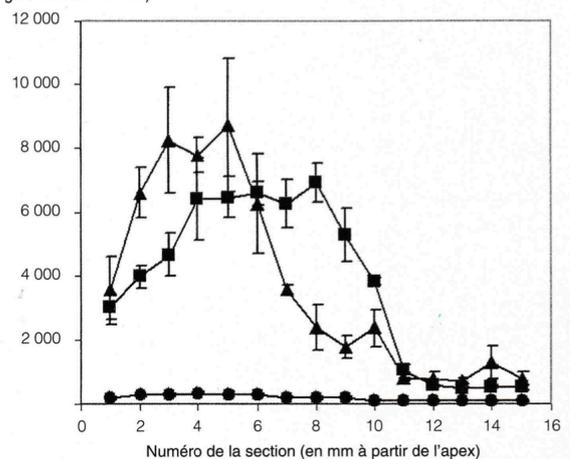
Autoradiographie d'une C.L. de stolon au stade 3 après traitement au ¹⁴CO₂.

Les tirets marquent la limite du bourgeon apical. La barre d'échelle mesure 2 mm. L'autoradiographie aboutit à la formation de grains d'argent sombres.

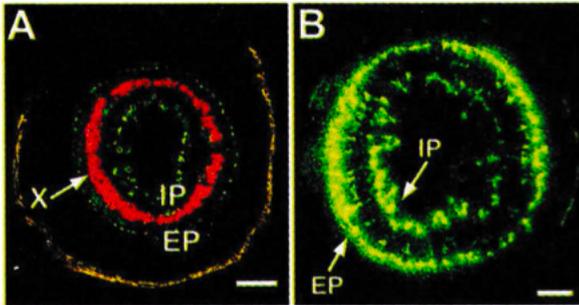
Document c

Quantification de la radioactivité. La radioactivité est mesurée dans des sections transversales effectuées tous les mm (0 = position de l'apex) sur des stolons aux stades 1 (ronds), 2 (triangles) et 3 (carrés).

Quantité de radioactivité
(en coups par minute
et par mg de matière fraîche)



La carboxyfluorescéine (CF) est une molécule qui peut être transportée dans le phloème mais qui ne peut pas traverser les membranes. Une solution contenant la CF est injectée dans les feuilles. Quatre heures plus tard, des coupes sont effectuées de façon à localiser la CF (document 4.1d).

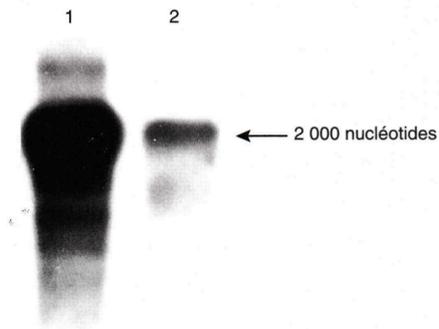


Document d

Localisation de la CF sur des coupes de stolon et tubercule

A : coupe d'un stolon en début de tubérisation (stade 1) ; B : coupe d'un tubercule en formation (stade 4). La CF est visualisée en vert. X : faisceaux de xylème (en rouge) ; faisceaux internes (IP) et externes (EP) de phloème. La barre d'échelle mesure 0,5 mm (A) ou 2 mm (B).

SUT1 est un cotransporteur protons / saccharose connu chez la pomme de terre et supposé permettre la charge du phloème au niveau foliaire. Les ARN totaux sont extraits de feuille et de tubercule en formation, séparés par électrophorèse puis mis en présence d'une sonde marquée constituée de la séquence complémentaire de l'ARNm de SUT1 (ADNc, technique du Northern blot).

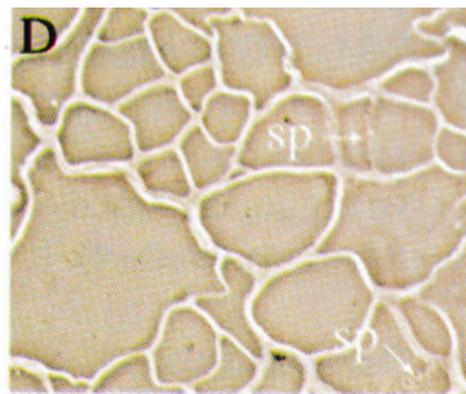
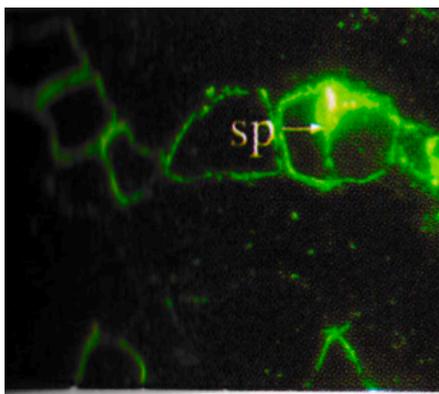


Document e

Expression du cotransporteur SUT1

Le Northern blot est obtenu à partir d'ARN de feuille (1) ou de tubercule en formation (2) et avec l'ADNc de SUT1. L'indication 2000 nt signifie 2000 nucléotides.

Des coupes transversales de tubercule au stade 1 sont mises en présence d'anticorps anti-SUT1. Des anticorps secondaires liés à la fluorescéine sont rajoutés avant observation microscopique.



Document f

Immunolocalisation de SUT1

Observations au microscope à épifluorescence (C) et au microscope à contraste de phase (D) de la région du phloème de tubercule. sp : crible. G : x 2500.

L'expression de SUT1 est empêchée spécifiquement dans le tubercule par la technique des ARN anti-sens. On mesure ensuite la quantité d'amidon à différents stades de développement des tubercules (document 4.1g).

	Stade 1	Stade 2
Sauvage	71,5 +/- 10	233 +/- 26
Plant avec ARN anti-sens	19,2 +/- 6	252 +/- 25

Document g

Quantité d'amidon dans les différents tubercules en formation, en mmol par gramme de matière sèche.