

Le déclenchement de la rhizogenèse dans des boutures de peuplier noir

Contexte

Le gène **PhyB2** (codant pour la protéine PhytochromeB2) est connu pour contribuer, chez certaines plantes, à la sensibilité à la photopériode (durée du jour par rapport à la durée de la nuit). Cette sensibilité est bien utile à la plante pour que l'adaptation de son organisme à un changement de saison se fasse au bon moment. Par exemple il serait risqué pour la plante de se fier à la température en fin d'hiver pour sortir ses feuilles. Un mois de février très doux pourrait être suivi d'une période de gel qui détruirait les jeunes feuilles.

On cherche à tester l'hypothèse selon laquelle la sortie des racines sur une bouture de peuplier prélevée en janvier dépend de la photopériode et du génotype de l'arbre pour le gène PhyB2.

Consignes

Partie A : Appropriation du contexte, proposition d'une stratégie et activités pratiques

(durée recommandée : 2 séances pour la globalité)

Après avoir bien compris les ressources et les protocoles fournis ci-après, élaborer une stratégie de résolution afin de vérifier que la rhizogenèse des boutures d'un peuplier dépend à la fois de la photopériode mais aussi de son génotype pour le gène PhyB2.

Appeler le professeur pour formaliser votre proposition à l'oral.

Mettre en œuvre les protocoles 1 à 4.

Partie B : Communication des résultats ; conclusion (durée recommandée : à préciser)

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

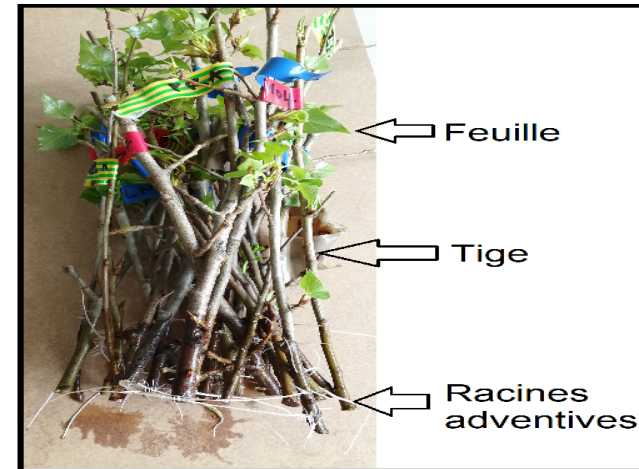
Appeler l'examineur pour obtenir éventuellement une ressource complémentaire.

Conclure, à partir de l'ensemble des données, sur **la validité de l'hypothèse du départ**.

Le déclenchement de la rhizogenèse dans des boutures de peuplier noir

Ressource 1

Le peuplier noir se reproduit en dispersant des graines (reproduction sexuée) mais aussi par les branches qui tombent pendant l'hiver dans la rivière et qui vont s'enliser en aval dans des alluvions (bancs de sable...). Ces tiges produisent ensuite, dès que les conditions sont favorables, des racines à l'origine d'un nouvel arbre (reproduction asexuée).



Boutures prélevées en janvier ayant produit des racines adventives et des feuilles après séjour dans un vase rempli d'eau placé à 20°C près d'une fenêtre.

Le déclenchement de la rhizogenèse dans des boutures de peuplier noir

Ressource 2

Date du dernier gel pour diverses localités et photopériode correspondante en France

	Durée du jour par 24h			
date	Lille	Le Mans	Bordeaux	Avignon
15 janvier	8h32	8H52	09h14	9h19
31 janvier	9h17	9H32	09h49	9h53
15 février	8h32	10H19	10h30	10h33
28 février	9h17	11H02	11h09	11h11
15 mars	11h54	11H55	11h56	11h56
31 mars	12h55	12H51	12h46	12h45
15 avril	13h52	13H42	13h32	13h29
30 avril	14h46	14H31	14H15	14h11
15 mai	15h34	15H14	14H53	14h48
31 mai	16h12	15H48	15H23	15h17

Date du dernier gel*	2 mai	22 avril	15 mars	25 février
----------------------	-------	----------	---------	------------

* médiane du dernier gel sur 30 ans

Sources :

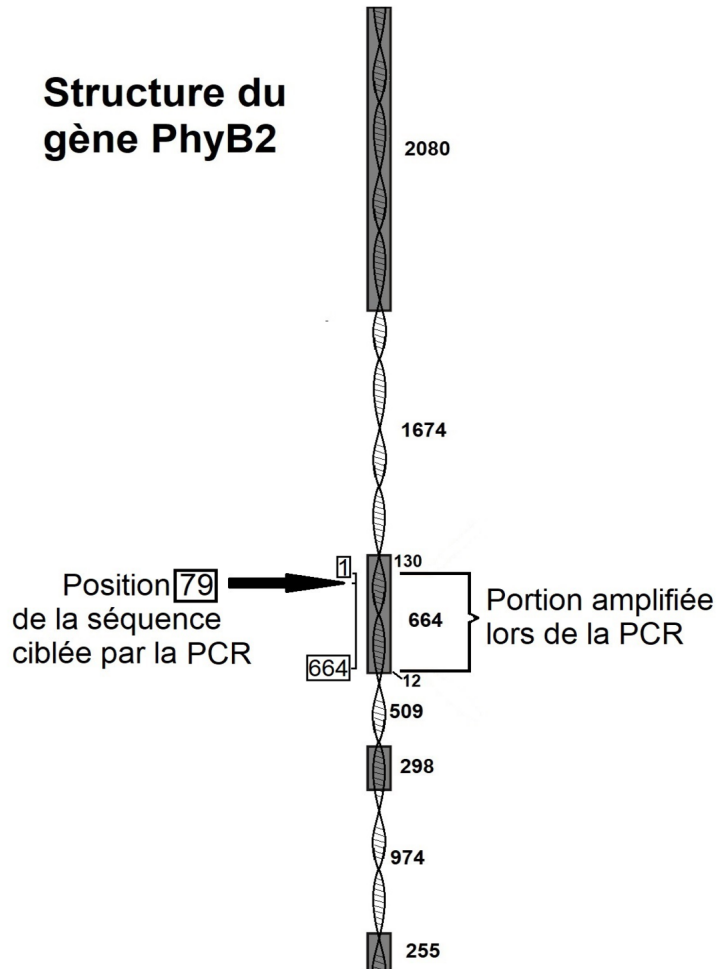
<https://calendriersolaire.com/calendrier?month=2026-05&location=Le+Mans%2C+Pays+de+la+Loire&weekstart=monday&showdaylength=on>

<https://leaftide.com/fr/dates-gel/>

Le déclenchement de la rhizogenèse dans des boutures de peuplier noir

Ressource 3

Structure du gène PhyB2



légende:



Exon



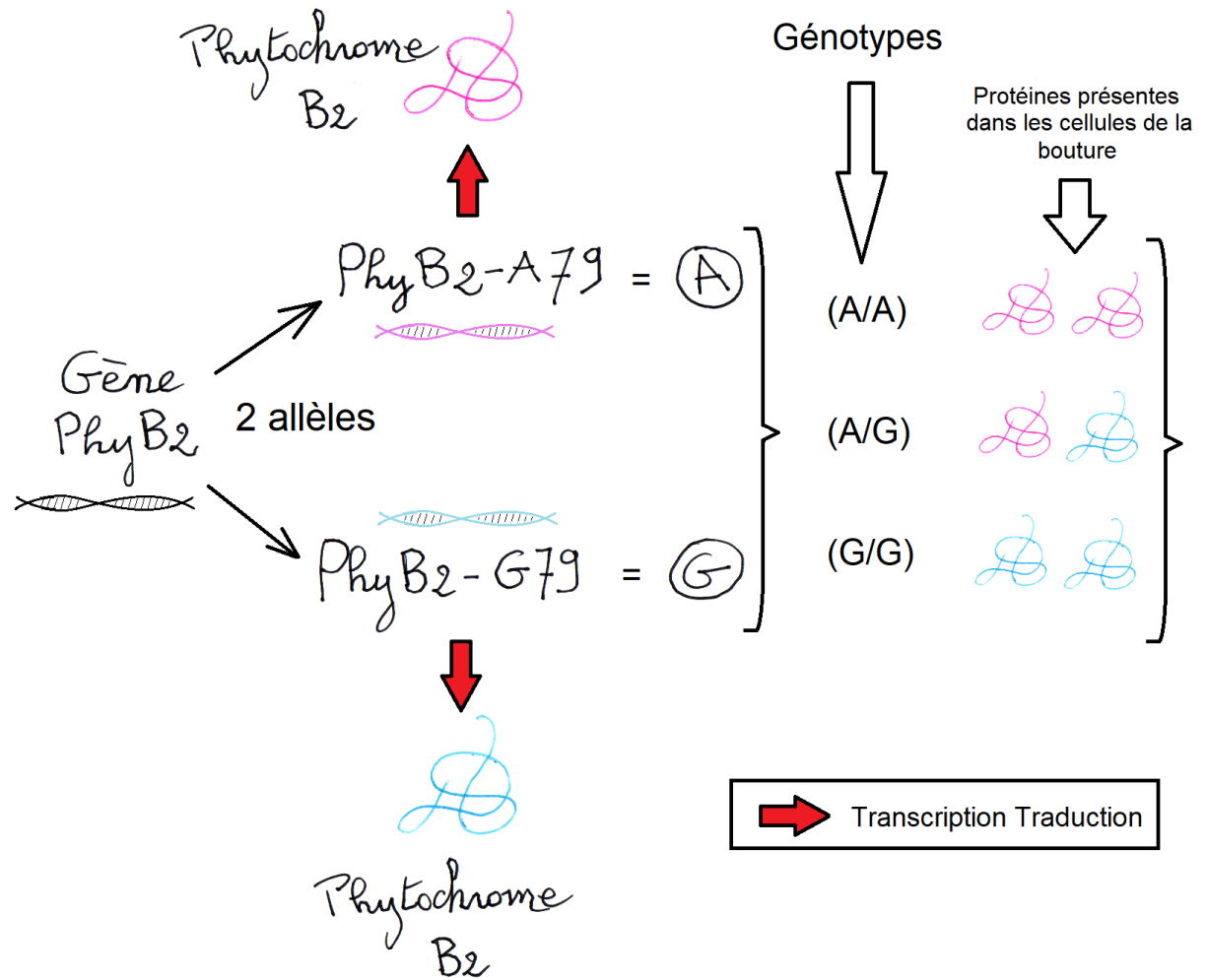
Intron

1674

nombre de nucléotides

79

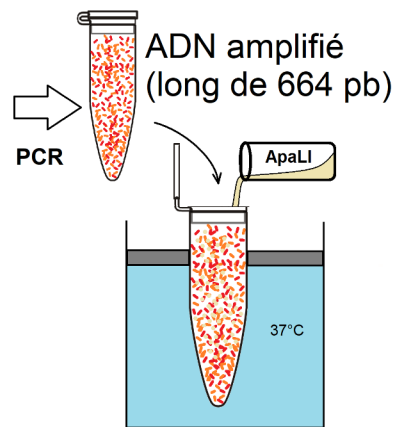
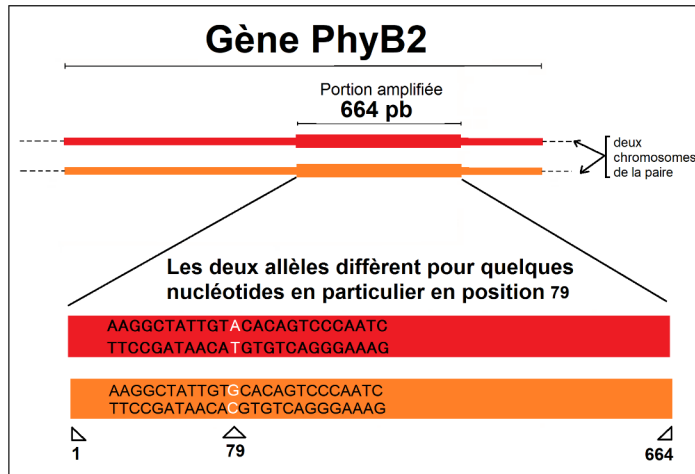
position dans la séquence



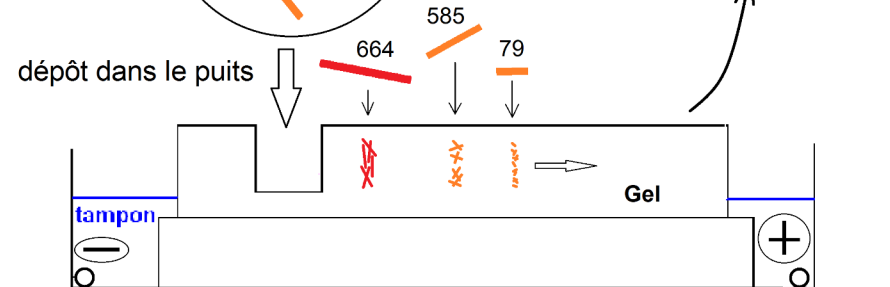
Diversité des génotypes pour le gène PhyB2 chez les peupliers noirs en France. On trouve deux versions du gène en France qui se distinguent en particulier sur la position 79 de la portion amplifiée : le brin codant présente un A ou un G selon la version.

Ressource 4

DIGESTION DE L'AMPLIFIAT D'UN GÈNE PAR UNE ENZYME DE RESTRICTION



Digestion
30 minutes



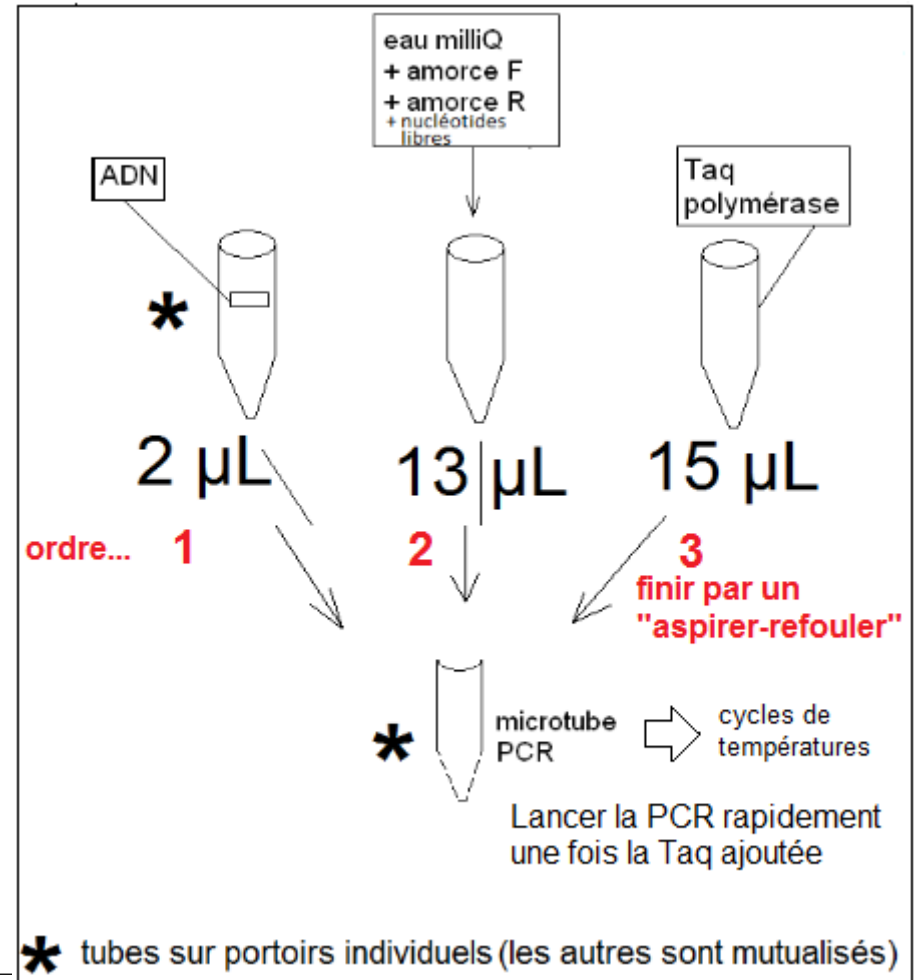
Le déclenchement de la rhizogenèse dans des boutures de peuplier noir

Protocole 1

Matériel :

- ADN étiqueté d'un peuplier noir sur lequel on prélèvera des boutures (l'ADN a été extrait au préalable par une autre équipe) ;
- deux amorces encadrant la portion ciblée du gène PhyB2 et nucléotides libres;
- ADN-polymérase (Taq polymerase) ;
- micropipette 0-20µl ;
- mini-tube PCR maintenu dans la glace;
- thermocycleur avec le programme pré-enregistré des températures successives à appliquer.

Mise en œuvre du protocole de PCR **avec de l'ADN de peuplier**



Le déclenchement de la rhizogenèse dans des boutures de peuplier noir

Protocole 2

Matériel :

- micropipette (0-10µl ou 0-20µl) ;
- mini-tube Eppendorf ;
- ADN à digérer ;
- tube contenant l'enzyme dans du tampon ;
- bain-marie à 37°C.

Mise en œuvre du protocole de **digestion des ADN amplifiés**

Protocole de digestion d'un ampliat d'ADN par une enzyme de restriction :

1) Introduire dans un mini-tube Eppendorf successivement :

- 2,5 µL de l'ADN obtenu par la PCR
- 7,5 µL du **tampon avec l'enzyme** puis mixer par un « aspirer-refouler ».

2) Mettre à incuber 30 minutes au bain marie 37°C.

Protocole 3

Matériel :

- cassette Flashgel®;
- micropipette de dépôt (0-10µl ou 0-20µl) ;
- dispositif de migration (générateur et système de visualisation des bandes).

Soumettre des ADN digérés à une électrophorèse pour déterminer les génotypes :

- déposer chaque ADN digéré dans un puits du gel (**9 µl**) ;
- déposer le marqueur de taille (2 µl) ;
- lancer la migration en mettant sur 1 le générateur ;
- suivre la migration et l'arrêter à temps.

Le déclenchement de la rhizogenèse dans des boutures de peuplier noir

Protocole 4

Matériel :

- scotch large;
- ciseaux ;
- gros marqueur indélébile ;
- 2 ou 3 chambres de croissance avec pour chacune une lampe branchée sur un programmateur.

Mise en œuvre du protocole pour obtenir des racines sur les boutures :

- préparer les boutures dont le génotype pour PhyB2 est ou sera connu (longueur, étiquette)
- répartir les boutures en 2 ou 3 lots identiques dans 2 ou 3 chambres de croissance dont la photopériode est contrôlée.
- régler les programmeurs.