



THEME 2A - De la plante sauvage à la plante domestiquée

TP6 - La plante domestiquée, l'exemple de la carotte



Le développement de l'espèce humaine est étroitement lié au développement des **pratiques culturelles**, en particulier pour la production alimentaire (graines, fruits, tubercules ...). Ainsi, depuis le début de l'Holocène (-11 000 ans), de nombreuses plantes sauvages ont été cultivées puis améliorées par des **techniques de sélection** puis de **croisements dirigés**. Actuellement, la carotte (*Daucus carota*) est une des plantes cultivées les plus consommées dans le monde (20% de la consommation humaine).

Problème posé : Comment l'Homme a-t-il produit la carotte cultivée que nous connaissons actuellement ?

Matériel et données :

- Manuel BELIN p270 à 277 + p256-257 (manipulations) et documents 1 à 4
- Echantillons biologiques : Carotte sauvage, carottes cultivées (différentes variétés)
- Matériel pour chromatographie (Eprouvette à bouchon, papier à chromatographie, solvant, hotte)
- Microscope, Loupe binoculaire, lame, lamelle, lame de rasoir, colorant carmino-vert, eau distillée, phloroglucine chlorhydrique
- PC équipé du logiciel GenieGen2 et des fichiers psy1.edi et psy2.edi

Propositions d'activités	Capacités / Critères de réussite
<p><u>ACTIVITE 1 : Comparaison de la carotte sauvage et de la carotte cultivée</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Réalisez une comparaison de la carotte sauvage et la carotte cultivée (parties aériennes, fleurs, racines) afin de déterminer leurs différences et ressemblances ➤ Réalisez l'expérience de mise en évidence de la lignine (Voir fiche protocole) afin d'identifier l'organe végétal correspondant au tubercule de carotte ➤ Récapitulez vos observations de la façon la plus pertinente <p><u>ACTIVITE 2 : Identifier les gènes impliqués dans la synthèse du carotène</u></p> <p><i>La couleur de la carotte cultivée est due à la synthèse d'un pigment appelé carotène. Sa synthèse nécessite plusieurs enzymes (protéines).</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Réalisez le protocole proposé afin d'identifier les pigments des échantillons proposés. ➤ Schématisez les résultats obtenus. Qu'en déduisez-vous ? ➤ Analysez le document 3 afin d'expliquer les différences de couleur des 2 carottes. ➤ Utilisez le logiciel GenieGen2 pour identifier l'origine possible de ces différences. <p>En fin de séance, rangez le matériel et nettoyez la paillasse</p>	<p>Suivre un protocole (coupe végétale) <i>Respect des consignes et sécurité, coupes végétales (fines, correctement colorées, exploitables)</i></p> <p>Utiliser un microscope optique <i>Préparation microscopique soignée (bulles d'air, eau), Mise au point correcte et grossissement pertinent, Objet centré, Identification de la lignine et de l'organe</i></p> <p>Présenter les résultats à l'écrit <i>Techniquement correct renseigné correctement, organisé pour répondre à la question</i></p> <p>Gérer et organiser le poste de travail</p>

Protocole de chromatographie et de coloration de la lignine

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel biologique

- Carottes de couleur autre qu'orange (jaune, blanche, violette, rouge)
- tranche de racine de carotte orange déjà colorée à la **phloroglucine chlorhydrique**

Matériel pour chromatographie :

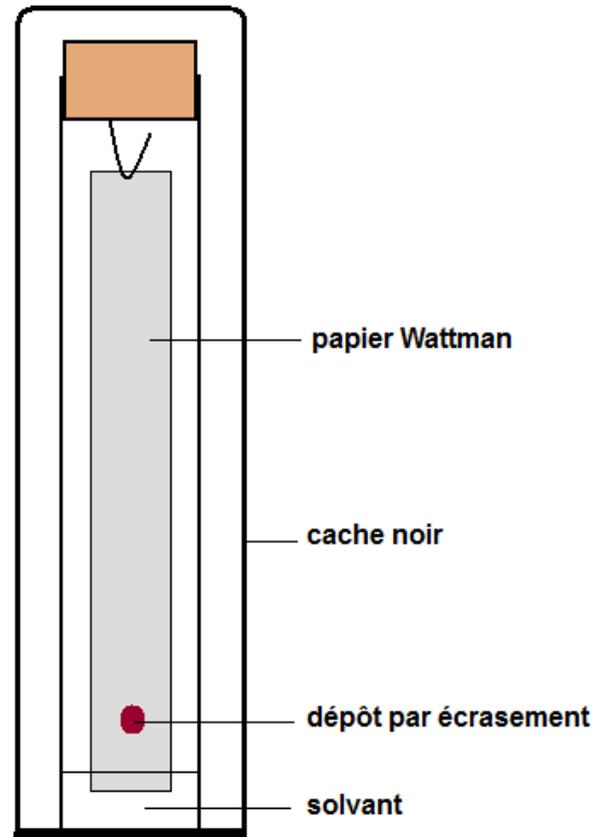
- agitateur,
- 1 bande de papier Wattman,
- règle,
- crayon à papier,
- crayon à verre ou feutre effaçable,
- chronomètre,
- 1 éprouvette (ou équivalent),
- 1 bouchon avec crochets de suspension,
- 1 cache noir pouvant recouvrir l'éprouvette,
- solvant à chromatographie

Matériel pour coloration :

- lames de rasoir ou scalpel
- solution de phloroglucine à 2%
- Bêchers de 50 ml ou coupelles profondes
- pinces longues
- lunettes, gants
- solution **d'acide chlorhydrique**



Dispositif de chromatographie :



Protocole de la chromatographie sur une variété différente de la carotte orange :

Avertissement :

Préparer l'éprouvette 5 minutes à l'avance pour saturer son atmosphère en solvant

Protocole de dépôt

- **Écraser** directement une coupe transversale assez fine de racine de carotte sur le papier Wattman avec un agitateur.
- **Répéter** plusieurs fois l'opération pour obtenir un dépôt bien concentré.

Durée de la migration ascensionnelle : 20 à 30 minutes.

Étant donnée la durée de la migration appeler l'examineur pour obtenir un résultat permettant de traiter l'étape « présentation des résultats) tout en terminant le protocole

Protocole de coloration de la lignine : (Phloroglucine Chlorhydrique)

- **Réaliser** des coupes fines de carotte d'épaisseur d'environ 2 mm.
- **Immerger** ces coupes de racines de carotte **15 à 20 minutes** dans la solution de **phloroglucine**
- Les **immerger 5 minutes** dans l'**acide chlorhydrique** qui révèle la coloration rouge des tissus lignifiés.
Appeler l'examineur pour vérifier
- la coloration rouge des tissus lignifiés.
Appeler l'examineur pour vérifier.

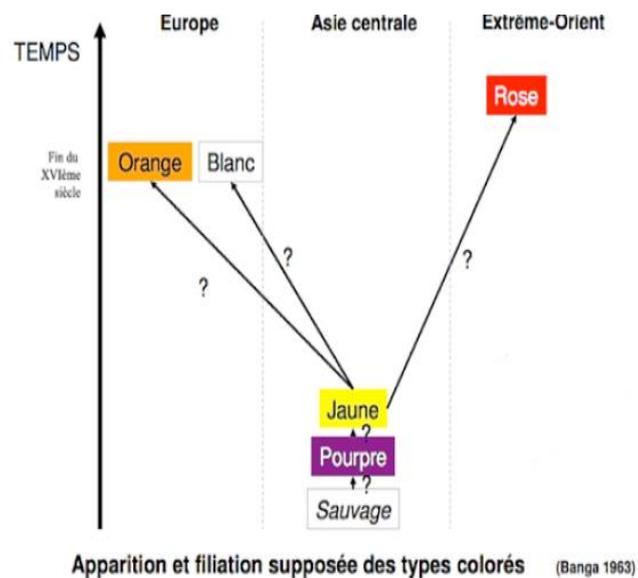
Document 1 : L'origine de la carotte cultivée

- La carotte a une histoire assez longue qui débute probablement en Afghanistan en 3000 av JC. De nombreuses colonies de plantes ancestrales sont présentes, en particulier des variétés blanches à jaunes mais également des variétés pourpres (violette).

- Les Romains ont cultivé cette plante qu'ils utilisaient pour leur racine mais aussi pour leurs feuilles qui permettaient de relever les plats (comme du persil).

- A partir du XVI^{ème} siècle, les Hollandais ont réalisé des **croisements dirigés** entre variétés pourpre et blanche pour obtenir une carotte orange. Ce travail de sélection avait pour objectif de montrer leur fidélité à la Maison d'Orange, une principauté protestante de France.

- Étant donné son importance actuelle dans l'alimentation occidentale, on a du mal à s'imaginer que, jusqu'à récemment, la carotte n'était consommée que de façon marginale (pour le bétail). En effet, elle n'est consommée par l'Homme que depuis les années 1910-1920.



Document 2 : Comparaison de la carotte sauvage et de la carotte cultivée

Carotte sauvage



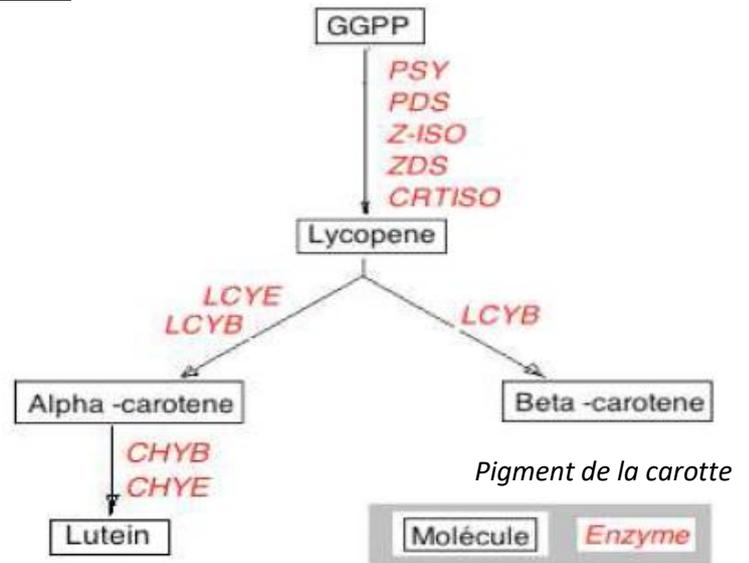
Carotte cultivée



Document 3 : La synthèse de carotène chez la carotte

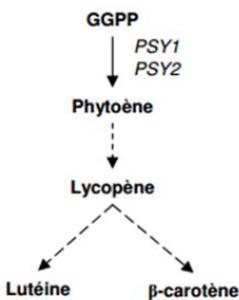
- La couleur orange des carottes dépend de la synthèse d'un pigment orange appelé **carotène**, dont il existe 2 types : l'**alpha carotène** et le **bêta carotène** qui est accumulé chez la carotte.

- La synthèse du carotène dépend d'une cascade de réactions métaboliques impliquant de nombreuses enzymes, notamment les **enzymes PSY** qui transforment le **GGPP** et **lycopène**, un pigment rouge présent dans la tomate. Le lycopène est ensuite transformé en bêta-carotène par l'enzyme **LCYB**.

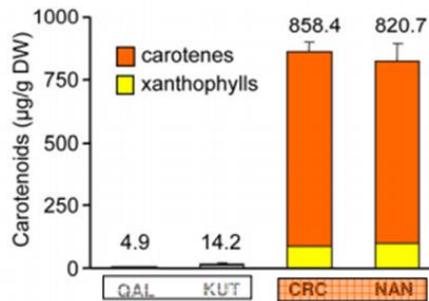


Document 4 : Expression des gènes PSY 1 et 2 chez plusieurs types de carotte

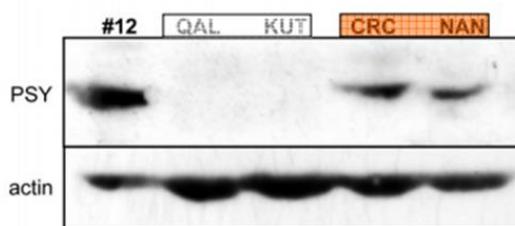
QAL : carotte blanche sauvage
KUT : carotte blanche cultivée
CRC et NAN : carottes orange



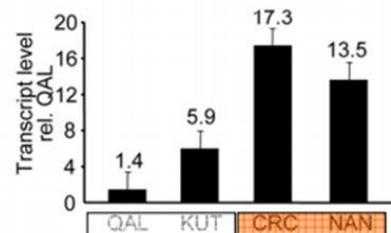
B. Carotenoid content



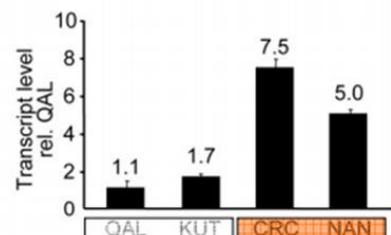
C. Western blot analysis



D. DcPSY1 transcript levels



E. DcPSY2 transcript levels



Maass et al. 2009

Document 5 : Des carottes OGM ?

- Les analyses génétiques et le séquençage des génomes des plantes domestiquées ont montré que les différences génétiques entre les plantes ancestrales et domestiquées sont très faibles. Parfois, seuls une dizaine de gènes présentent des différences de séquence ou d'expression. Les scientifiques envisagent ainsi de réaliser une **sélection avec marqueurs**. Ceci permet de vérifier que les lignées produites possèdent bien les gènes d'intérêt.
- Actuellement, il n'existe aucun OGM de carotte commercialisé. Cependant, des chercheurs américains (Morris et al. 2007) ont produit des **OGM de carotte** exprimant un **transporteur de calcium** de plante (sCAX1). Les études réalisées chez la souris et l'humain montrent que l'absorption du calcium est augmentée de l'ordre de 40 à 50%. De telles carottes pourraient donc aider à lutter contre l'**ostéoporose**.
- Enfin, les techniques actuelles pourraient permettre de modifier subtilement les êtres vivants, en particulier grâce à la technique **Crispr-Cas9** qui permet d'éditer des séquences d'ADN génomiques.

Sources intéressantes :

- <https://www.nature.com/articles/ng.3565> (article nature genetics sur le séquençage et la production de carotène chez la carotte PDF accessible gratuitement)
- <https://www.nature.com/articles/ng.3574> (article sur le séquençage du génome / non accessible)
- <https://www.pnas.org/content/105/5/1431> (Article de PNAS sur l'OGM de carotte)
- <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Marche/carotte.htm>
- <http://www.lanutrition.fr/bien-dans-son-assiette/aliments/legumes/carotte/petite-histoire-de-la-carotte.html>
- http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=carotte_nu#la-petite-histoire-de-la-carotte