



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

TP3 - La photosynthèse et la capture de l'énergie lumineuse



La **photosynthèse** est une réaction du **métabolisme autotrophe** qui produit de la matière organique (glucose) à partir de molécules minérales (CO_2). La capture de l'énergie lumineuse nécessite la présence de **pigments**. On cherche à retrouver le fonctionnement général de la photosynthèse (équation bilan et localisation) mais aussi à comprendre quels sont les **pigments photosynthétiques** et **leur rôle** dans la photosynthèse.

Problème posé : Comment déterminer le fonctionnement général de la photosynthèse et le rôle des pigments ?

Matériel et données :

- Manuel BELIN p222 à 225 et documents 1 à 6
- Microscope, lame, lamelle, élodée, lugol (eau iodée)
- Matériel ExAO (bioréacteur, agitateur magnétique, turbulent) avec sonde à O_2 et sonde pH, lampe, solution de pigments d'épinards et spectroscope
- Matériel pour chromatographie (feuilles d'épinard, bande de papier Whatman, pinces, emporte-pièce, éprouvette, solvant, hotte à flux laminaire)

Propositions d'activités	Capacités / Critères de réussite
<p><u>ACTIVITE 1 : Localiser la photosynthèse et identifier les échanges gazeux réalisés</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ETAPE 1 : Proposez une stratégie pour déterminer la localisation de la photosynthèse et son équation bilan. ➤ ETAPE 2 : Réalisez la manipulation ExAO afin d'identifier les échanges gazeux réalisés durant la photosynthèse. Complétez vos observations avec les <u>documents 1 à 3</u>. ➤ ETAPE 2 : Réalisez une observation microscopique pour localiser la photosynthèse dans la cellule (Voir <u>document 4</u>) <p style="text-align: center;">☎ Appelez le professeur pour vérification</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous une forme judicieuse. <p><u>ACTIVITE 2 : Identifier les différents pigments végétaux et leur capacité d'absorption de lumière</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ETAPE 1 : Proposez une stratégie pour identifier les pigments et leur rôle. ➤ ETAPE 2 : Réalisez une chromatographie de pigments pour identifier les pigments de la feuille. ➤ ETAPE 2 : Utilisez le spectroscope pour déterminer les radiations absorbées par la solution de pigments proposée (Voir <u>document 5 et 6</u>) <p style="text-align: center;">☎ Appelez le professeur pour vérification</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous une forme judicieuse. <p>En fin de séance, <u>rangez le matériel</u> et <u>fermez la session informatique</u>.</p>	<p style="text-align: center;">Suivre un protocole</p> <p style="text-align: center;"><i>Respect des consignes et du protocole, travail organisé et propre, obtention de résultats fiables (localisation photosynthèse, identification des différents pigments et des radiations absorbées).</i></p> <p style="text-align: center;">Utiliser un microscope optique</p> <p style="text-align: center;"><i>Préparation microscopique soignée (bulles d'air, eau), Mise au point correcte et grossissement pertinent, Objet correctement centré, Rangement du microscope</i></p> <p style="text-align: center;">Présenter les résultats à l'écrit</p> <p style="text-align: center;"><i>Techniquement correct renseigné correctement, organisé pour répondre à la question</i></p> <p style="text-align: center;">Gérer et organiser le poste de travail</p>

PROTOCOLES – Détermination des échanges gazeux de la photosynthèse par ExAO

Matériel mis à disposition

- Une chaîne d'acquisition ExAO comprenant une sonde à O₂, une sonde à pH permettant d'évaluer la présence de CO₂
- Un bioréacteur et un dispositif d'agitation (agitateur et turbulent)
- **fragments d'Elodée**
- Papier absorbant
- Eau distillée

- Fiche technique (Latis Bio)

- **Préparer l'enceinte** pour les mesures. Pour une mesure optimale, il est conseillé de remplir complètement l'enceinte afin d'éviter les bulles d'air.
- **Paramétrer** une mesure de 20 minutes des concentrations de dioxygène et de dioxyde de carbone dans l'enceinte, avec une agitation constante et modérée.
- **A 4 minutes, ouvrez les volets de l'enceinte** pour permettre l'éclairement.
- **A 12 minutes, refermez les volets** pour arrêter l'éclairement.
- En fin d'expérience, **enregistrer votre travail** dans le répertoire proposé par le professeur
- **Ranger et nettoyer le matériel** ExAO (bien rincer les sondes à l'eau distillée).



PROTOCOLES – Localisation de la photosynthèse

Ressources supplémentaires :

Le **lugol** ou **eau iodée** est un réactif spécifique de l'amidon. L'**amidon** est une molécule formée de nombreuses molécules de glucose reliées entre elles, ce qui représente une forme de stockage du glucose produit par la photosynthèse. En présence de ce glucide, l'amidon prend une couleur violet foncé à noir. S'il n'y a pas d'amidon, l'eau iodée reste d'une couleur jaune – orangé.

Matériel mis à disposition

- un microscope
- 2 lames et 2 lamelles
- pince
- ciseaux
- flacon d'eau iodée
- flacon d'eau distillée
- deux verres de montre
- un feutre
- **2 fragments de feuille d'Elodée** placés dans le lugol pendant 4h, soit en présence soit en absence de lumière

- A l'aide de pincettes, **prélevez une feuille de chaque fragment** (éclairé / non éclairé)
- **Déposez chaque échantillon sur une lame**
- **Ajoutez une goutte d'eau** et déposez la lamelle
- **Annotez chaque lame** pour ne pas confondre les échantillons (éclairé / non éclairé)
- **Observez** au microscope chaque échantillon
- **Faire de même** pour la feuille placée à l'obscurité puis **comparer**



PROTOCOLE - CHROMATOGRAPHIE

Principe de la chromatographie : c'est une technique de séparation des substances présentes dans un mélange ; elle utilise la migration d'un liquide (solvant) sur un support solide (papier...). Les constituants du mélange sont entraînés plus ou moins loin suivant leurs propriétés physico-chimiques (masse, polarité, solubilité...). Les pigments solubles dans le solvant migrent sur le papier de chromatographie et se répartissent de la façon suivante :

Chlorophylle b (vert jaune), chlorophylle a (vert bleuté), xanthophylle (jaune), caroténoïdes (orangé)



- **Préparer** l'éprouvette : **suspendre** le papier à chromatographie à l'aide d'un crochet fixé sur un bouchon, le **placer** dans l'éprouvette pour **repérer** le niveau du solvant à mettre (le papier doit tremper d'un demi-cm dans le solvant). **Veiller** à prendre le papier uniquement par les bords sans poser vos doigts sur la zone de migration ;
- **Retirer** le papier, **verser** le solvant jusqu'au niveau repéré et **fermer** l'éprouvette sans le papier ;
- **Tracer** un trait au crayon à 2 cm du bas de la bande de papier pour marquer l'emplacement du dépôt ;
- la tache de pigments doit être aussi petite et foncée que possible. Pour cela **écraser**, à l'aide d'un agitateur, un petit morceau de feuille à l'emplacement prévu, **répéter** l'opération 5 fois, sur le même emplacement, en renouvelant le morceau de feuille ;
- **Suspendre** le papier à chromatographie, le **placer** dans l'éprouvette en vérifiant que les dépôts de pigments sont bien situés au-dessus du niveau du solvant et **fermer** ;
- **Recouvrir** l'éprouvette d'un cache noir et **laisser migrer** le solvant à l'obscurité pendant 15 minutes.



PROTOCOLE - Identifier les capacités d'absorption des pigments végétaux

Matériel mis à disposition

- Un spectroscope
- 2 microtubes
- Une solution d'éthanol
- **Une solution de pigments de feuilles d'épinards (préparée à l'avance).**

- Prélevez
- **Déposez chaque échantillon sur une lame**
- **Ajoutez une goutte d'eau** et déposez la lamelle
- **Annotez chaque lame** pour ne pas confondre les échantillons (éclairé / non éclairé)
- **Observez** au microscope chaque échantillon
- **Faire de même** pour la feuille placée à l'obscurité puis **comparer**



Spectre d'absorption de la solution alcoolique



400 500 550 600 650 700 750

Spectre 1



400 500 550 600 650 700 750

Spectre d'absorption de la solution alcoolique



400 500 550 600 650 700 750

Spectre 1



400 500 550 600 650 700 750

Spectre d'absorption de la solution alcoolique



400 500 550 600 650 700 750

Spectre 1



400 500 550 600 650 700 750

Spectre d'absorption de la solution alcoolique



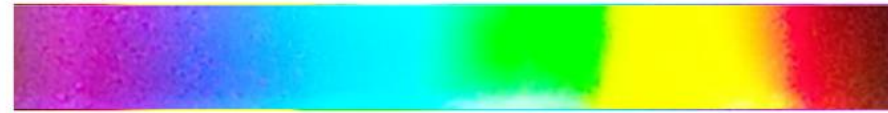
400 500 550 600 650 700 750

Spectre 1



400 500 550 600 650 700 750

Spectre d'absorption de la solution alcoolique



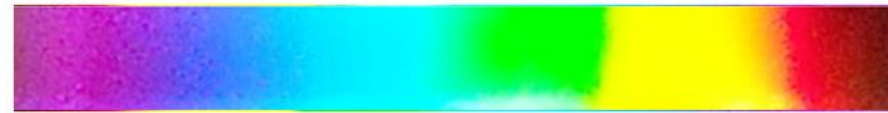
400 500 550 600 650 700 750

Spectre 1



400 500 550 600 650 700 750

Spectre d'absorption de la solution alcoolique



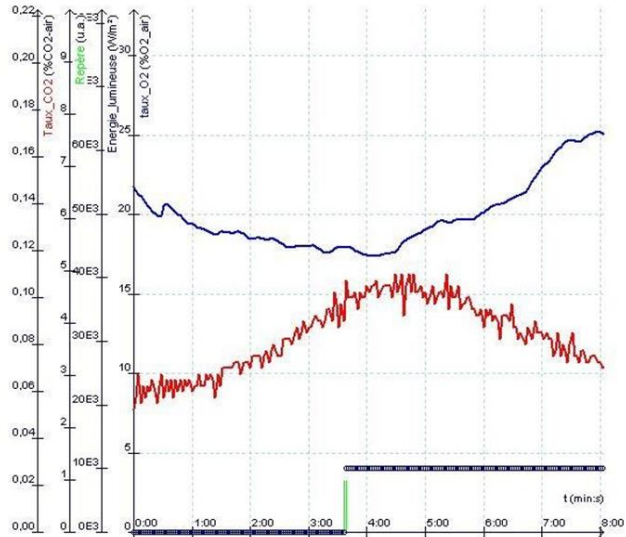
400 500 550 600 650 700 750

Spectre 1

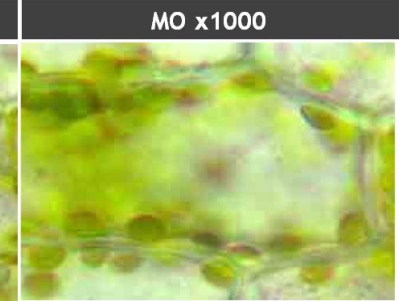
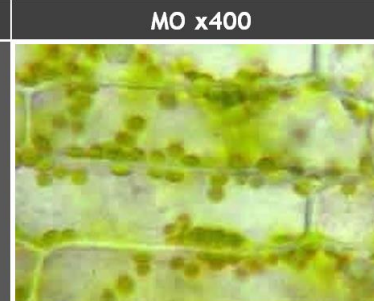


400 500 550 600 650 700 750

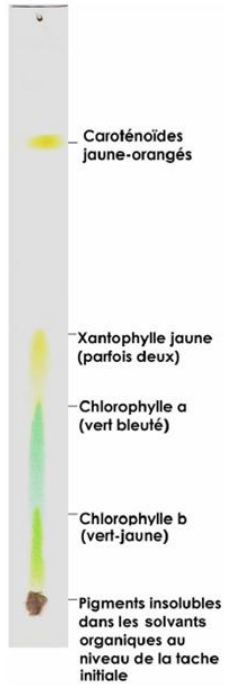
FICHE SECOURS



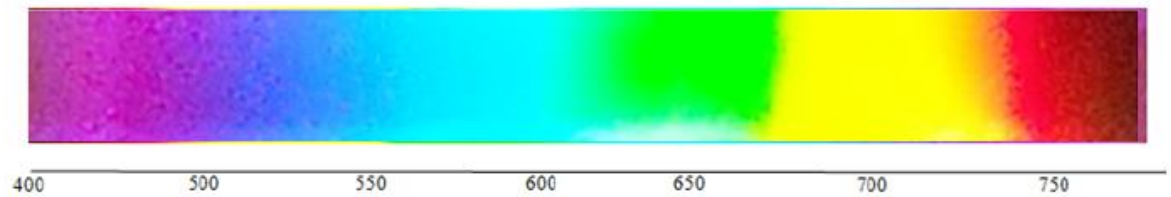
**A - Feuille d'Élodée
montée dans de l'eau**



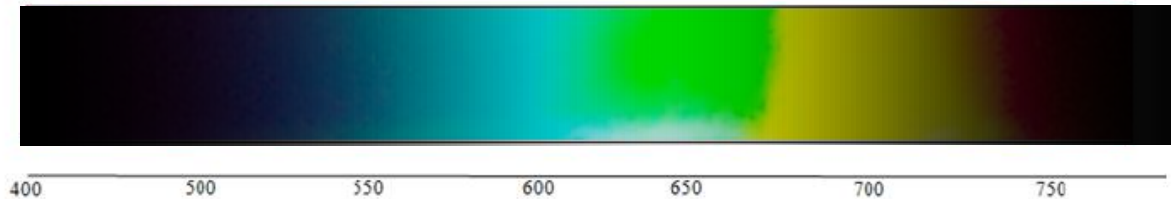
**B - Feuille d'Élodée
montée dans de l'eau
additionnée d'eau iodée**



Spectre d'absorption de la solution d'éthanol

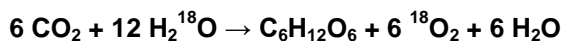


Spectre d'absorption de la solution de pigments

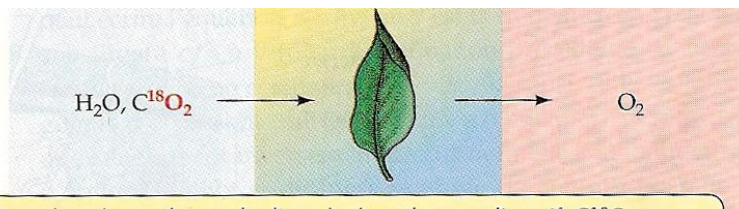


Document 1 : Expérience de Ruben et Kamen (1940)

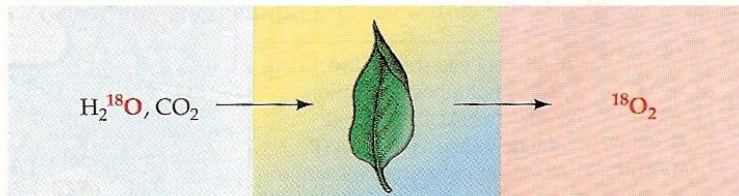
En 1940, Ruben et Kamen placent une suspension d'algues vertes fortement éclairée, en présence de CO_2 , dans de l'eau dont l'oxygène ^{16}O est remplacé par l'isotope ^{18}O (H_2^{18}O). Ils suivent le devenir de l'isotope ^{18}O et obtiennent des résultats qui peuvent se résumer par l'équation suivante :



Ils prouvent ainsi que la lumière permet l'oxydation de l'eau : on parle de **photolyse de l'eau**. L'eau est alors clivée en H^+ , électrons et O_2 .



On a donné aux plantes du dioxyde de carbone radioactif, C^{18}O_2 , et de l'eau non marquée. L'oxygène libéré n'était pas marqué.



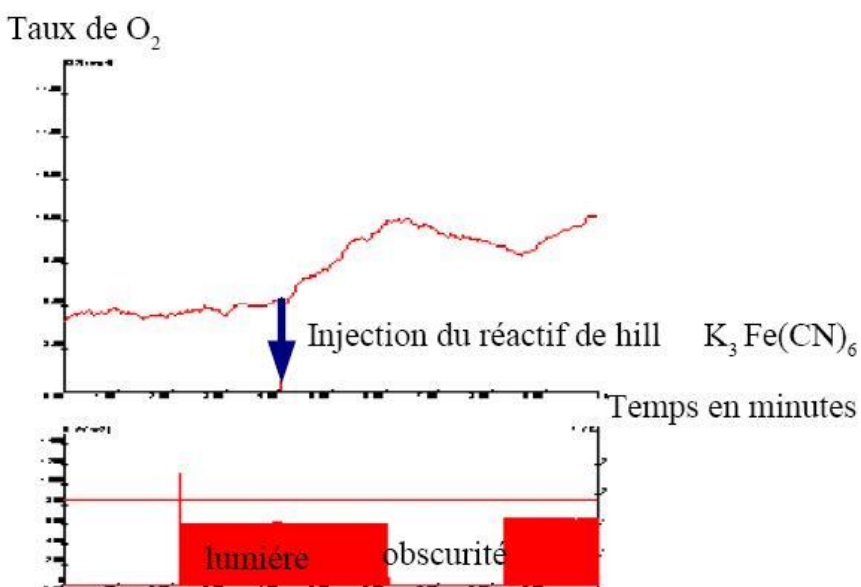
On a donné aux plantes de l'eau radioactive, H_2^{18}O , et du CO_2 non marqué. L'oxygène libéré était marqué.

Document 2 : Expérience de Hill (1955)

En 1955, Hill extrait des chloroplastes d'épinards et il montre que **les chloroplastes isolés ne peuvent pas produire d' O_2** , même lorsqu'ils sont éclairés. Il faut donc un apport d'une molécule venant du reste de la cellule (cytoplasme).

Il prouve que cette molécule correspond à un **accepteur d'électron (le réactif de Hill)**. C'est une **molécule oxydée (R)** qui peut accepter des électrons et des ions H^+ (RH_2). Ce sont les éléments produits par la photolyse de l'eau.

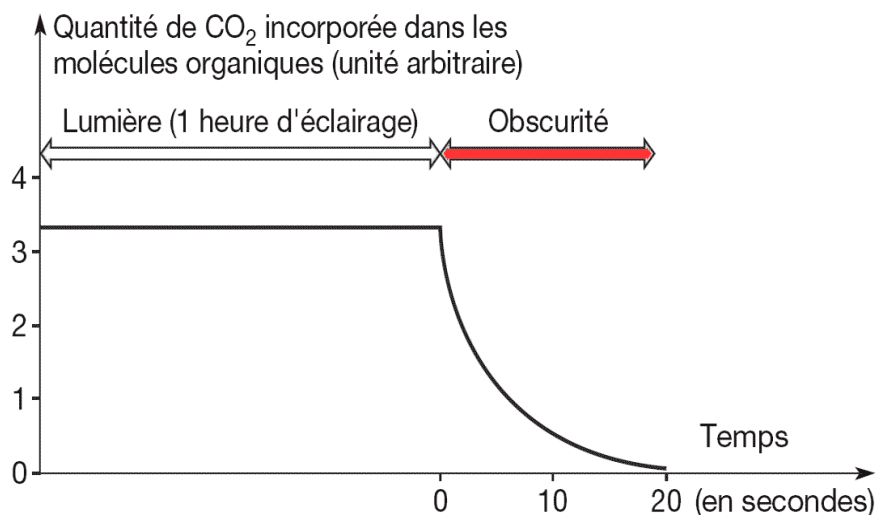
Il montrera également que le CO_2 n'est pas nécessaire à ces réactions.



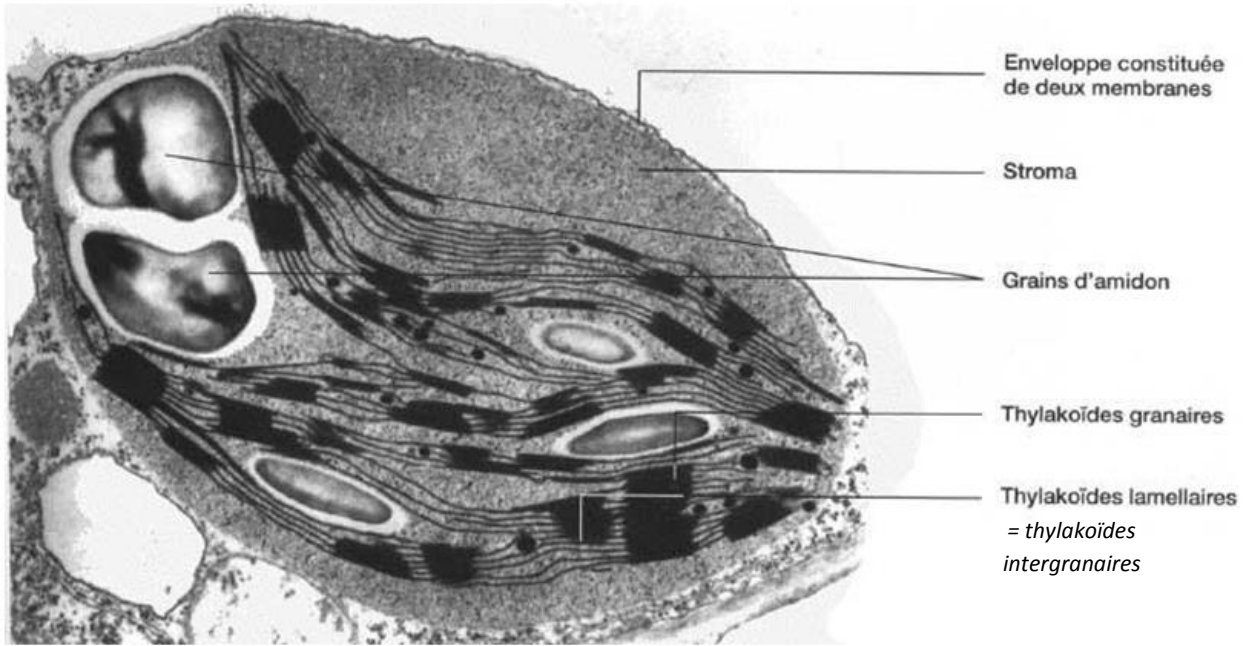
Document 3 : Expérience de Gaffron (1951)

En 1951, Gaffron et ses collaborateurs travaillent sur une suspension d'algues vertes unicellulaires (*Scenedesmus*). Ces algues sont cultivées dans un milieu contenant du **dioxyde de carbone radioactif ($^{14}\text{CO}_2$)**.

Ils montrent que la fixation du CO_2 se produit encore pendant quelques secondes après avoir arrêté l'éclairage. Ils en déduisent que la fixation consomme des molécules énergétiques produites grâce à la lumière. Il s'agit de **composés intermédiaires** (RH_2 et ATP) qui sont produits grâce à la photolyse de l'eau.

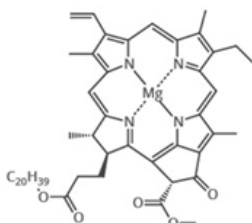


Document 4 : Structure du chloroplaste observé au microscope électronique à transmission (MET)



Document 5 : Les pigments et les couleurs des végétaux

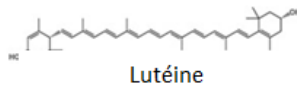
Chlorophylle



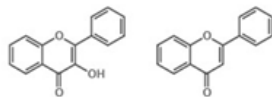
Chlorophylle a

Les chlorophylles a sont « vert émeraude » et les chlorophylles b sont « vert pomme ». Elles captent les longueurs d'onde bleu et rouge.

Xanthophylles

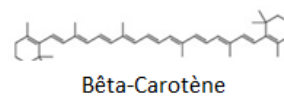


Les xanthophylles font partie des caroténoïdes et sont de couleur jaune, comme la lutéine et les flavones. Ces composés absorbent les radiations violettes et bleues.

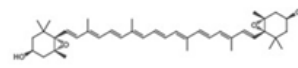


Flavone

Carotènes

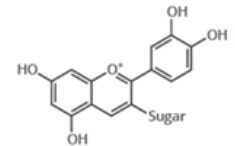


Les carotènes font également partie des caroténoïdes mais sont de couleur orange, comme le bêta-carotène et la violaxanthine. Ces composés absorbent les radiations bleues et cyan (bleu turquoise).



Violaxanthine

Anthocyanes



Les anthocyanes sont de couleur rouge à violacée, comme le lycopène. Ces composés ne participent pas à la photosynthèse (présents dans les vacuoles)



Lycopène (tomate)

Document 6 : Comparaison des spectres d'action de la photosynthèse et d'absorption des pigments

