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 réalisée par les **organismes autotrophes** qui produisent de la matière organique (glucose) à partir de molécules minérales (CO_2) et d'énergie lumineuse. La capture de l'énergie lumineuse a lieu durant la **phase photochimique** de la photosynthèse et nécessite des **pigments** (chlorophylle). Ces derniers utilisent l'énergie lumineuse pour cliver (casser) la molécule d'eau (H_2O) en O_2, H^+ et des électrons (e^-) : c'est la **photolyse de l'eau**.

Problème posé : Comment déterminer l'action des pigments et le fonctionnement général de la photosynthèse ?

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*
ACTIVITE 1 : Identifier les pigments végétaux et leur capacité d'absorption de lumière ➢ **ETAPE 1 : Proposez une stratégie** pour identifier les pigments et leur rôle. ➢ **ETAPE 2 : Réalisez les manipulations proposées** pour identifier les différents pigments de la feuille et déterminer les radiations absorbées par la solution de pigments proposée. **☎Appelez le professeur pour vérification** ➢ **ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats** sous une forme judicieuse. Complétez vos observations avec les documents 1 à 3. **ACTIVITE 2 : Identifier la nécessité d'un accepteur d'électrons dans la photosynthèse** ➢ **ETAPE 1 : Proposez une stratégie** pour identifier la nécessité d'un accepteur d'électrons durant la phase photochimique de la photosynthèse. ➢ **ETAPE 2 : Réalisez la manipulation ExAO proposée** afin d'identifier les échanges gazeux réalisés durant la photosynthèse. **☎Appelez le professeur pour vérification** ➢ **ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats** sous une forme judicieuse. Complétez vos observations avec les documents 4 à 6. **En fin de séance, rangez le matériel et fermez la session informatique.**	**Suivre un protocole** *Respect des consignes et du protocole, travail organisé et propre, obtention de résultats fiables (localisation photosynthèse, identification des différents pigments et des radiations absorbées).* **Manipuler du matériel ExAO** *Respect du protocole (volumes prélevés, pas d'oublis d'étape, durées respectées …), paramétrage convenable du logiciel, utilisation de la touche F12 pour ajouter des marqueurs, obtention de résultats fiables.* **Présenter les résultats à l'écrit** ***Techniquement** correct **renseigné** correctement, **organisé** pour répondre à la question* **Gérer et organiser le poste de travail**

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)

faible migration ***forte migration***

- **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.

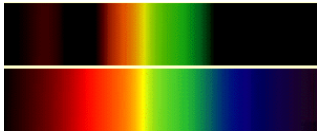
PROTOCOLE - Identifier les capacités d'absorption des pigments végétaux

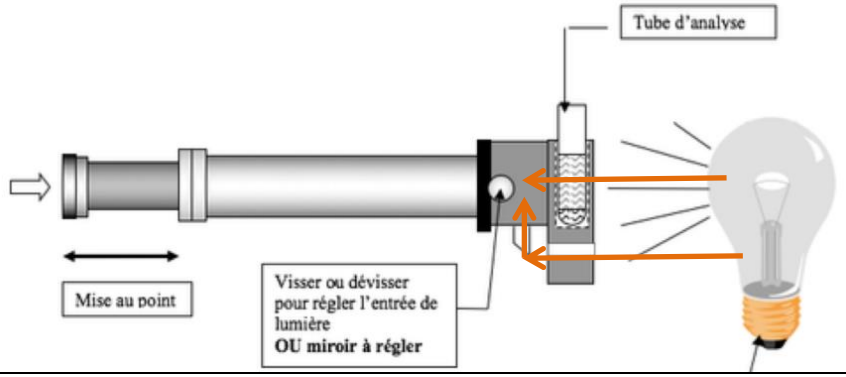
Matériel mis à disposition

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

- **Prélevez 1 mL de solution** de pigments végétaux et **remplir le tube**
- **Placez le tube dans le spectroscope** et **régler l'arrivée de la lumière** sur le prisme au moyen du **miroir**
- **Se placer bien en face d'une source de lumière** (face à la fenêtre ou à une lampe par exemple)
- **Observer les 2 spectres** (celui du haut est passé par la solution alors que celui du bas non)
- **En déduire les radiations absorbées** par la solution de pigments (puis comparez avec celle d'éthanol

Vu dans le spectroscope





PROTOCOLE – Identification du devenir de l'eau (H_2O) et de la nécessité d'un accepteur d'électrons

Matériel mis à disposition

- Une chaîne d'acquisition ExAO comprenant une sonde à O_2
- Un bioréacteur et un dispositif d'agitation (agitateur et turbulent)
- **Suspension de thylakoïdes extraits de feuilles d'épinard**
- Papier absorbant
- Eau distillée
- Seringue 1 mL avec aiguille
- Solution d'accepteur d'électrons (réactif de Hill)
- Fiche technique (Pasco CAPSTONE)

- **Vérifier que le barreau aimanté (turbulent)** est présent dans le bioréacteur.
- **Démarrer l'agitation** pour vérifier que le turbulent tourne correctement.
- **Verser votre filtrat dans l'enceinte** selon sa capacité (remplir le bioréacteur).
- *(Facultatif) Ajouter de l'eau et de la glace dans le compartiment situé autour.*
- **Fermer l'enceinte** et vérifier l'absence de bulle d'air.
- **Placer le cache** à l'avant et **vérifier que le boitier LED est bien installé** à l'arrière de l'enceinte.
- **Placez la sonde à O_2** dans le logement approprié au sein du couvercle du bioréacteur.
- **Prélever 0,2 mL de la solution** d'accepteur d'électrons dans la seringue.
- **Lancer l'enregistrement des mesures** en cliquant sur l'icône « triangle »
- **Durant l'expérience, modifier les conditions comme suit :**
  - à t=0 minutes, l'enceinte est à l'obscurité (**cache installé !**)
  - à t=3 minutes, allumer le boitier LED en **blanc** (éclairage LED situé contre l'enceinte).
  - à t=6 min, **injecter 0,2 mL d'accepteur d'électrons** en maintenant l'éclairement en blanc.
  - à t=9 min, éteindre le boitier LED (obscurité) et enregistrer jusqu'à 12 minutes.

PROTOCOLE – Localisation de la photosynthèse (Facultatif)

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.

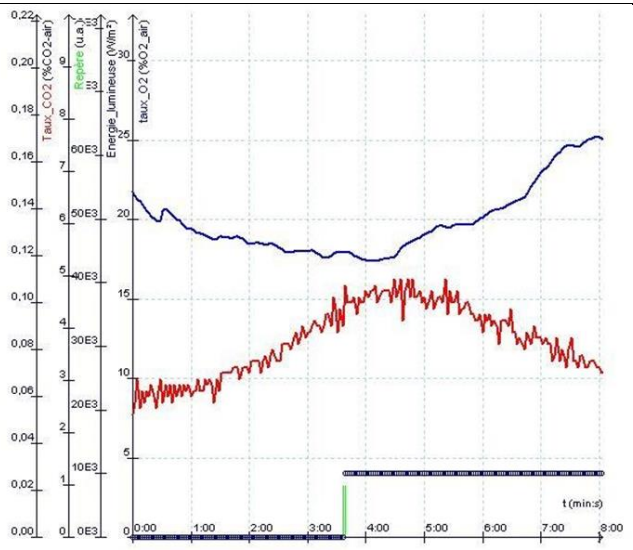
Matériel mis à disposition

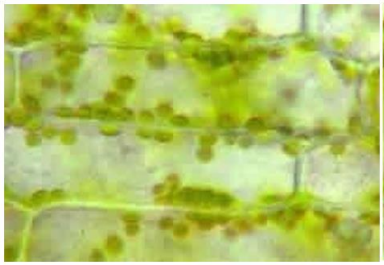
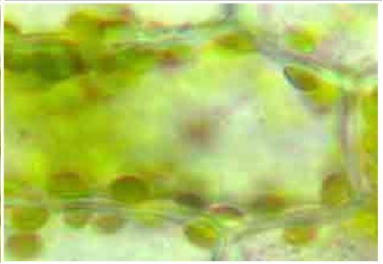
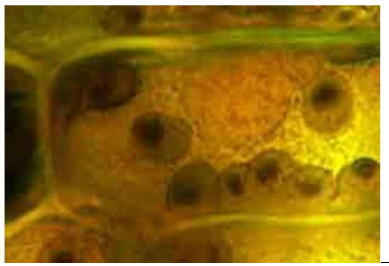
- 1 microscope
- 2 lames et 2 lamelles
- pince
- ciseaux
- flacon d'eau iodée
- flacon d'eau distillée
- deux verres de montre
- un feutre
- **2 fragments de feuille d'Elodée** placés dans le lugol pendant 4h, soit en présence soit en absence de lumière.

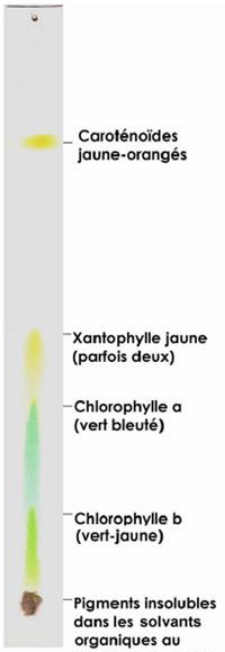
A l'aide de pinces, **prélevez une feuille de chaque fragment** (éclaire / non éclairé)

- **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**

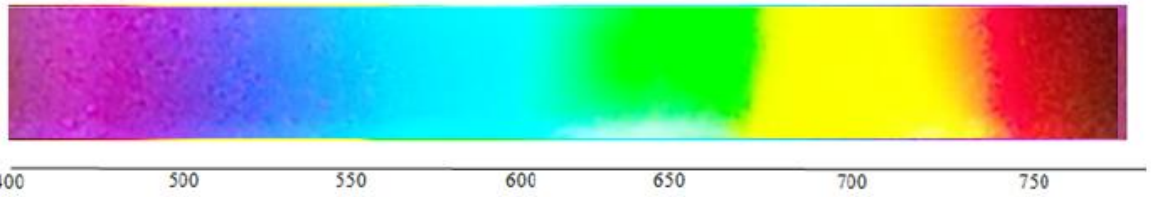
FICHE SECOURS



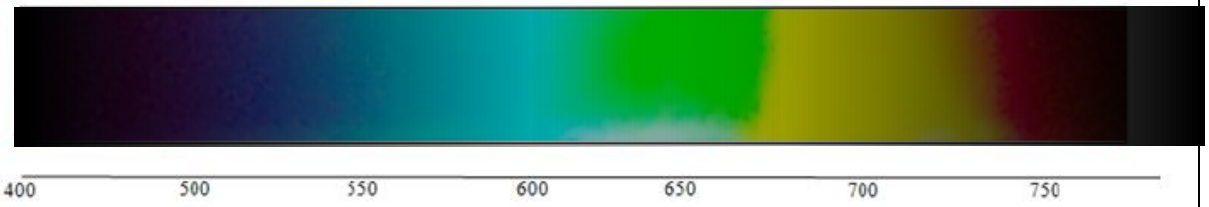
	MO x400	MO x1000
A - Feuille d'Élodée montée dans de l'eau		
B - Feuille d'Élodée montée dans de l'eau additionnée d'eau iodée		



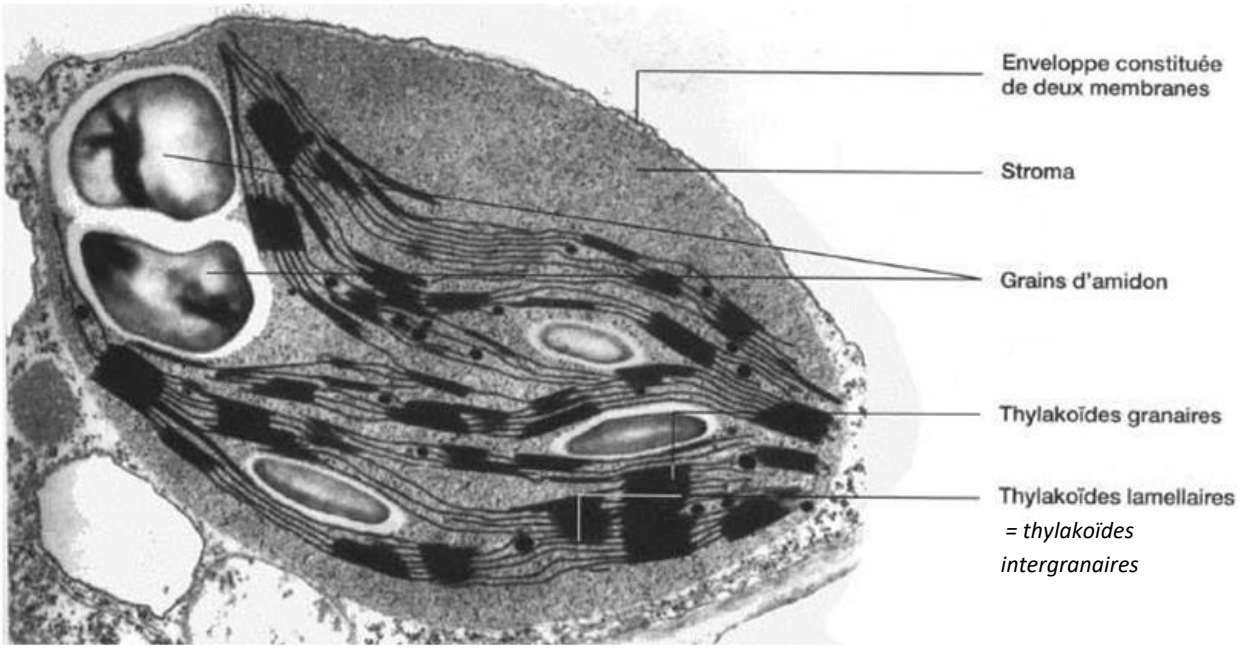
Spectre d'absorption de la solution d'éthanol



Spectre d'absorption de la solution de pigments

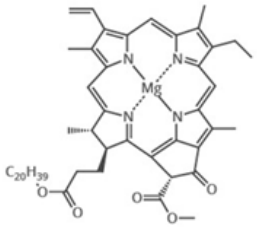


Document 1 : Structure du chloroplaste observé au microscope électronique à transmission (MET)



Document 2 : Les pigments et les couleurs des végétaux

Chlorophylle



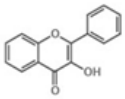
Chlorophylle a

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

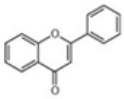
Xanthophylles

Lutéine

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.

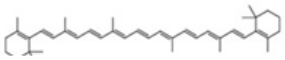


Flavonol



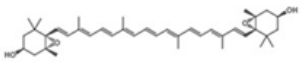
Flavone

Carotènes



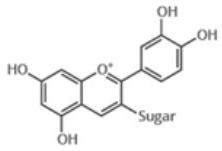
Bêta-Carotène

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

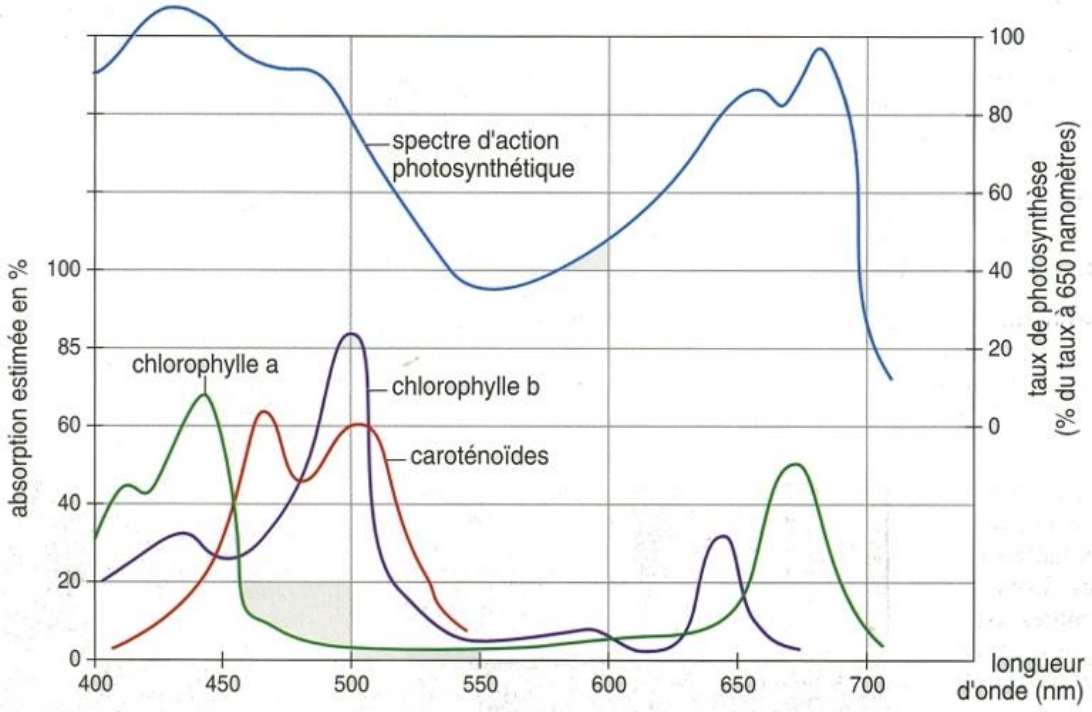


Anthocyane (oignon)

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

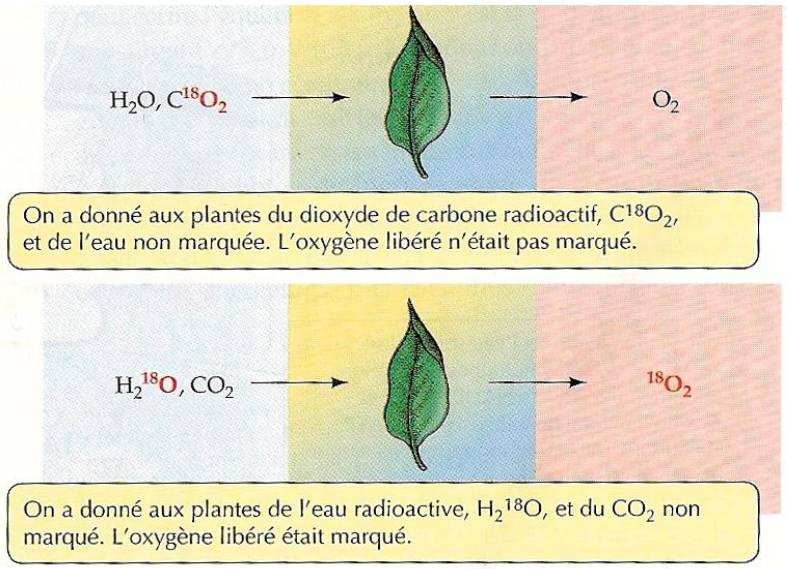


Document 4 : Expérience de Ruben et Kamen (1940)

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 :

$6\ CO_2 + 12\ H_2{}^{18}O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ {}^{18}O_2 + 6\ H_2O$

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.

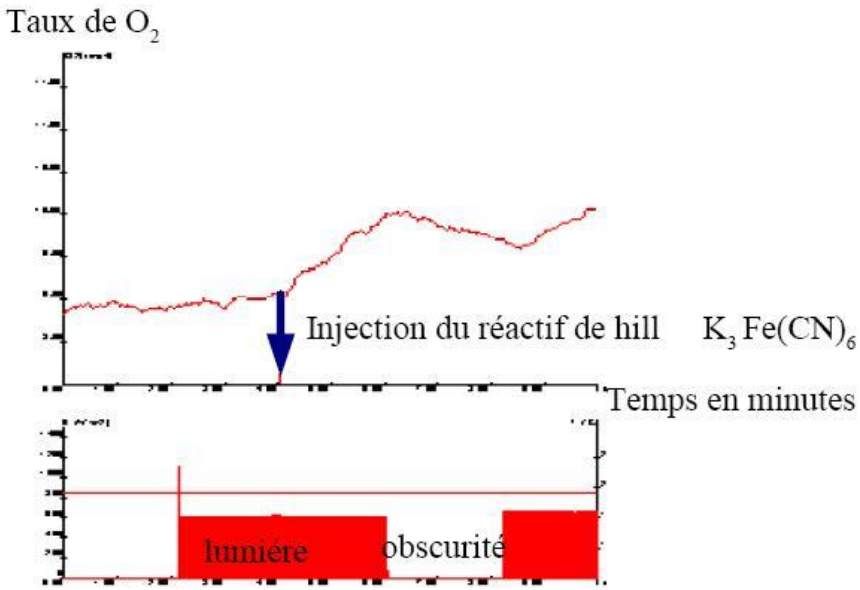


Document 5 : Expérience de Hill (1955)

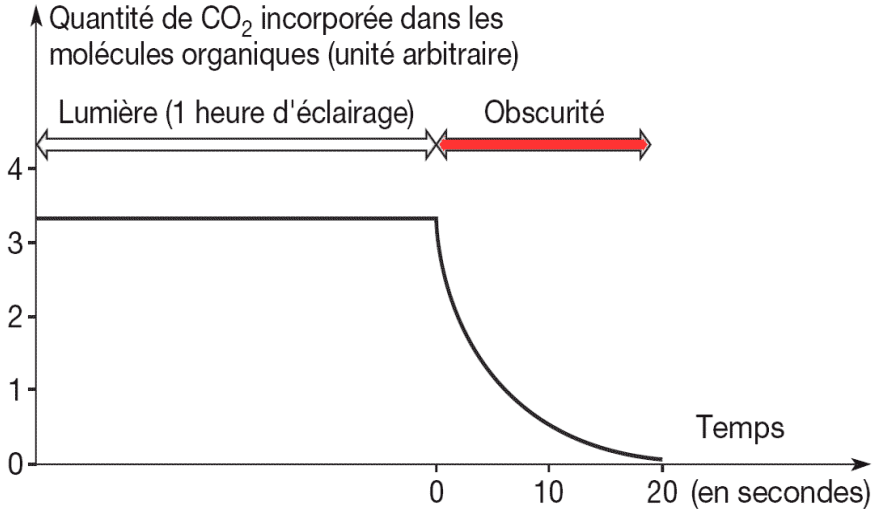
En 1955, Hill extrait des chloroplastes d'épinards et il montre que **les chloroplastes isolés ne peuvent pas produire d'O_2,** même lorsqu'ils sont éclairés. Il faut donc un apport d'une molécule venant du reste de la cellule (cytoplasme).

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 6 : 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** ($^{14}CO_2$).

Ils montrent que la fixation du CO_2 se produit encore pendant quelques secondes après avoir arrêté l'éclairement. 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.