

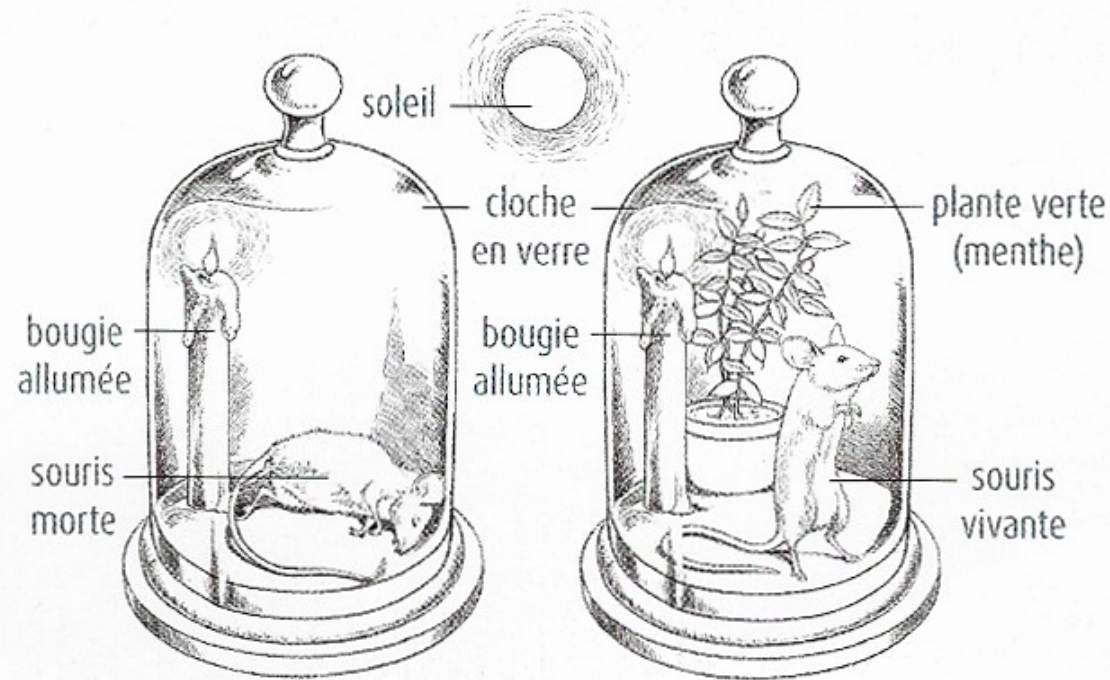
Thème A : De la plante sauvage à la plante domestiquée

Chapitre A2 :
**La plante, productrice de matière
organique**

Problématique : Quels sont les mécanismes de la photosynthèse et à quoi sert la matière organique produite ?

I. Les deux étapes de la photosynthèse

Comment la lumière est-elle utilisée par les végétaux ?



1 Expérience de Joseph Priestley

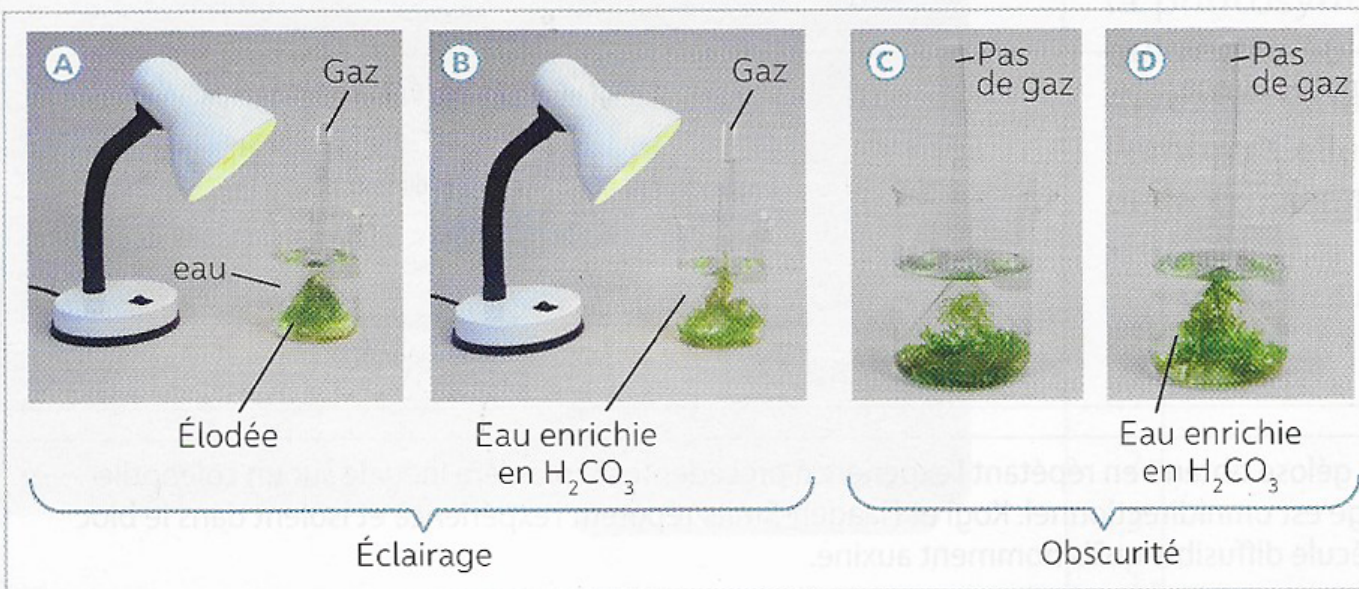
(1733-1804). En 1771, Joseph Priestley plaça sous une cloche en verre éclairée par la lumière du Soleil, une bougie allumée et une souris. Il ajouta ou non un pied de menthe. Après quelques heures, il observa la combustion de la bougie et le comportement de la souris.

**Les expériences de Charles Bonnet ²
(1720-1793) et Jan Ingenhousz (1730-1799).**

En 1747, Charles Bonnet plaça des rameaux de vigne dans des récipients remplis d'eau. Voici ses observations : « Dès que le soleil commença à échauffer l'eau des vases, je vis paraître sur les feuilles des rameaux beaucoup de bulles semblables à de petites perles. J'en observai aussi, mais en moindre quantité, sur les pédicules et sur les tiges. Le nombre et la grosseur de ces bulles augmentèrent à mesure que l'eau s'échauffa davantage. Les feuilles en devinrent même plus légères ; elles se rapprochèrent de la superficie de l'eau. Toutes disparurent après le coucher du soleil. Elles reparurent le lendemain matin, lorsque cet astre vint à darder ses rayons sur les poudriers. »

En 1780, Jan Ingehhousz caractérisa le gaz présent dans les bulles comme on pourrait le faire aujourd'hui grâce au dispositif ci-dessous. Ce gaz rallume une allumette incandescente.

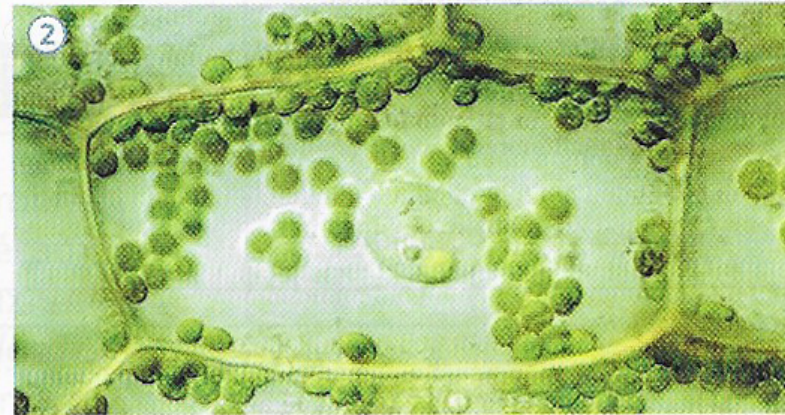




a Résultats d'expérience de recueil de gaz chez l'Élodée

Le test du tison consiste à mettre en contact une allumette incandescente et le gaz à identifier ; si celle-ci se rallume alors le gaz est de l'O₂. Ce test est positif pour les montages A et B.

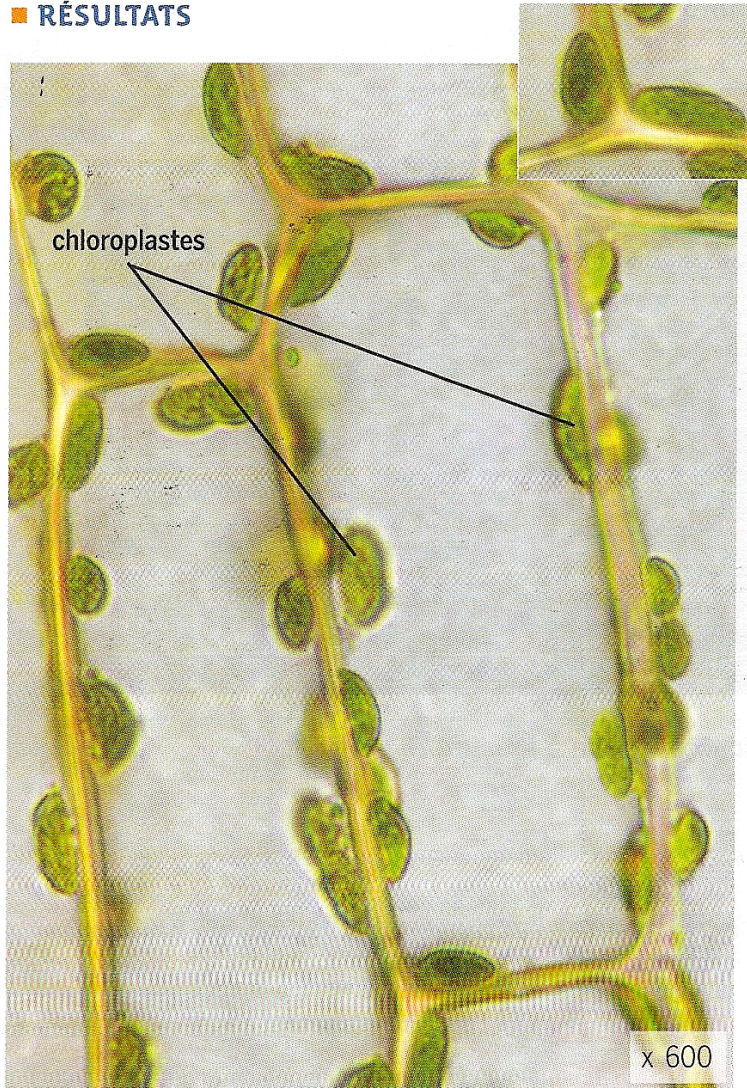
*H₂CO₃ ou acide carbonique ; ajouté dans l'eau, il constitue une source de CO₂ pour les végétaux aquatiques.



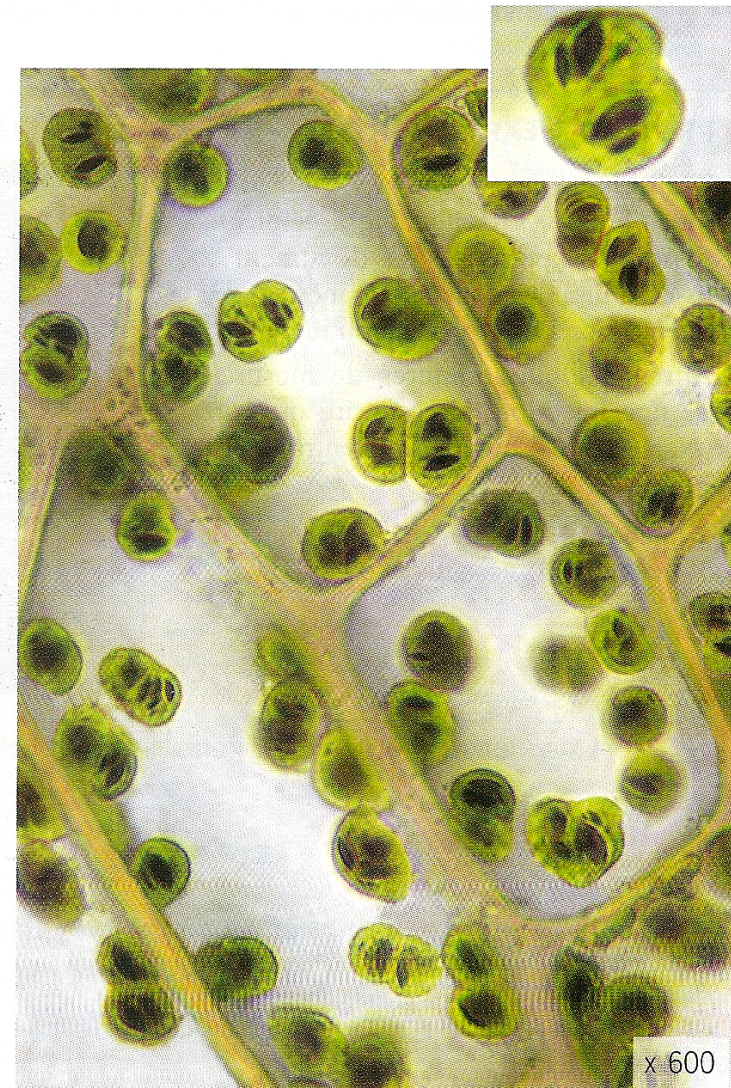
- ① Observation pour A et B.
- ② Observation pour C et D.

b Observations microscopiques de feuilles d'Élodée prélevées dans le montage précédent. Les feuilles ont été colorées au Lugol (aussi appelé eau iodée).

■ RÉSULTATS



Cellules d'un rameau placé à l'obscurité, coloration à l'eau iodée



Cellules d'un rameau placé à la lumière, coloration à l'eau iodée

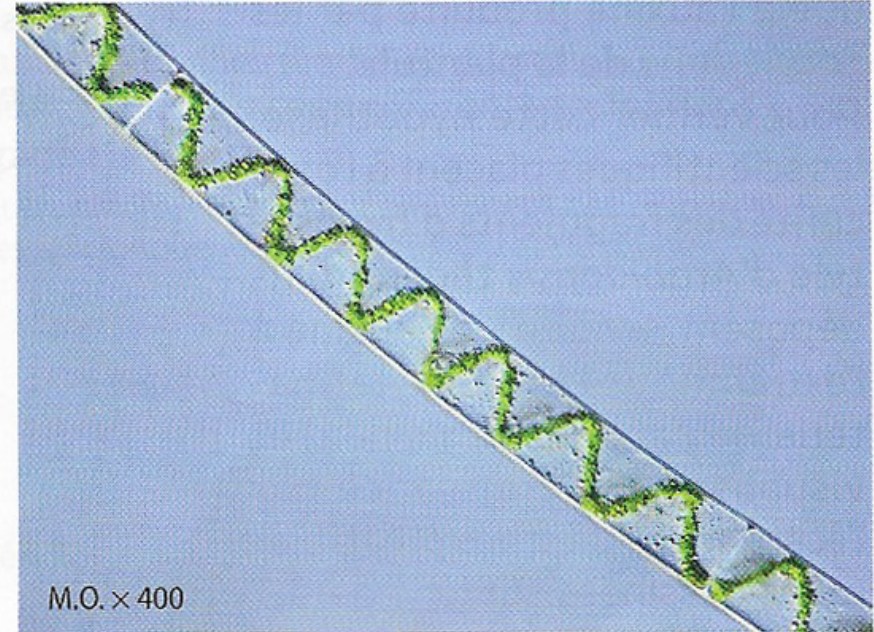
Rameaux d'élodée

Doc. 1 Des observations qui permettent de localiser la photosynthèse.

L'expérience de Théodor Engelmann (1843-1909)

Les chimistes Pelletier et Caventou ont, en 1817, isolé le pigment vert des feuilles qu'ils appelèrent « chlorophylle ». En 1882, Engelmann cherche à vérifier si ce pigment joue un rôle dans la photosynthèse. Pour cela, il utilise l'algue *Spirogyra* chez qui la « chlorophylle » (on sait aujourd'hui qu'il s'agit du chloroplaste) prend une forme de ruban spiralé. Il ajoute à la préparation des bactéries *Bacterium thermo* douées d'un **chimiotactisme** positif pour le dioxygène.

Chimiotactisme : effet d'attraction exercé par une substance chimique.



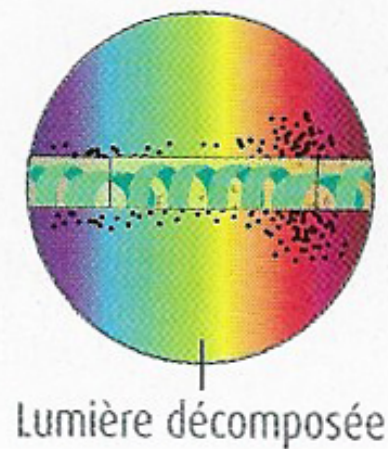
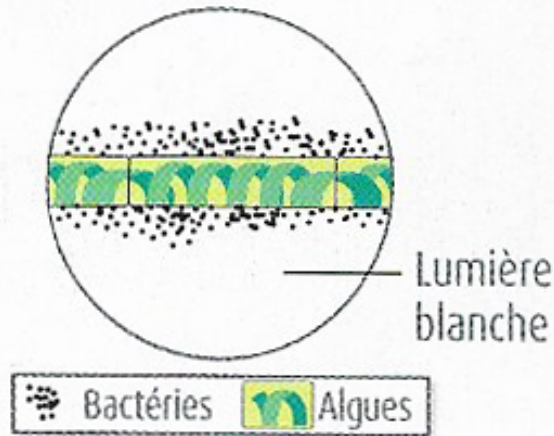
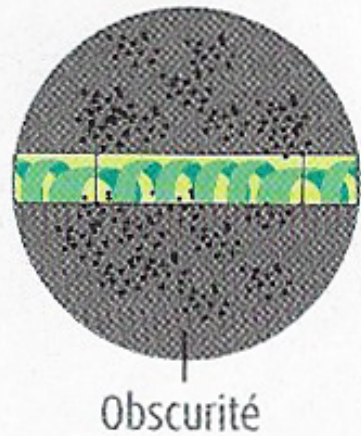
M.O. × 400

a Algue *Spirogyra*

Technique employée : microscopie optique

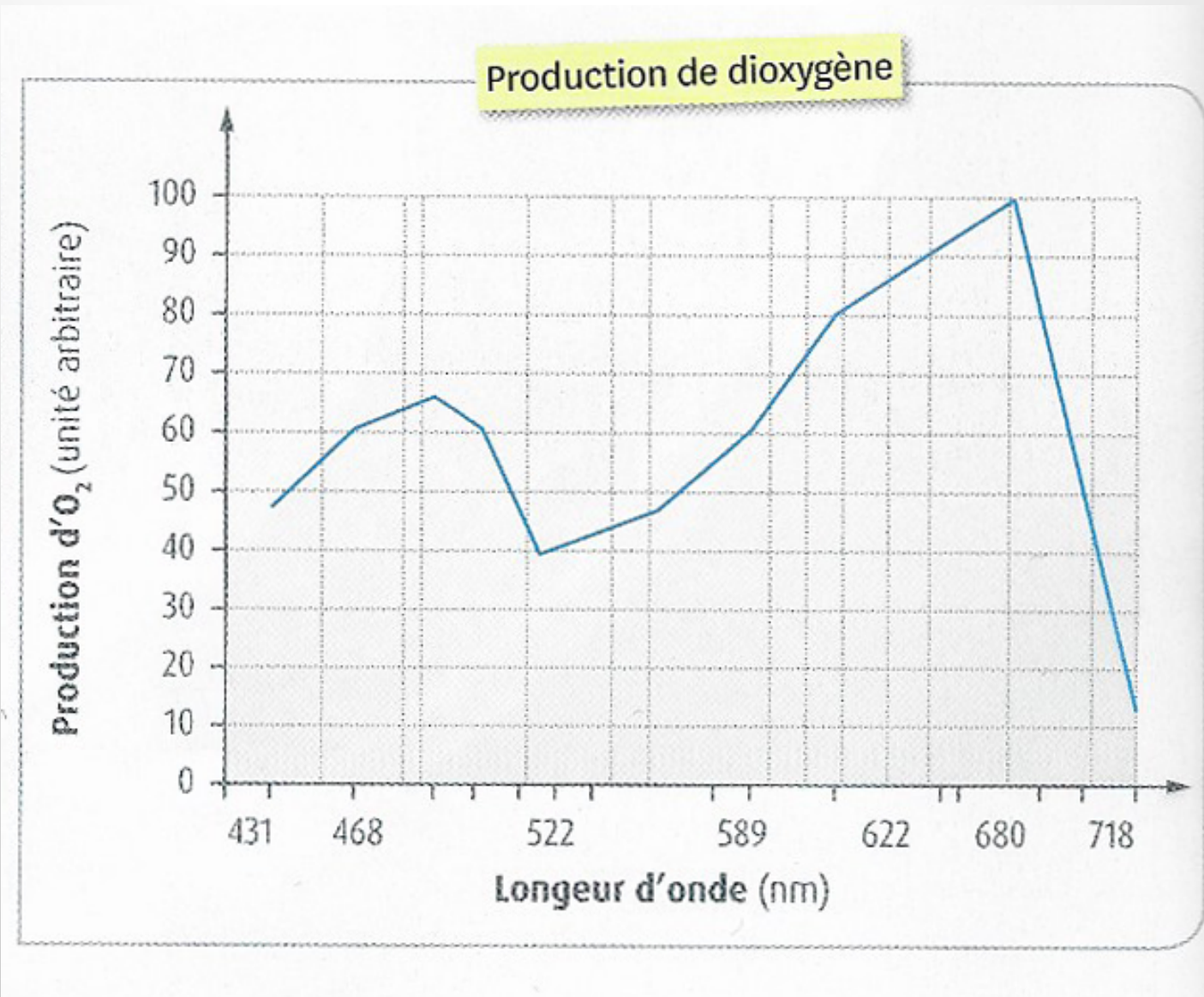
Résultats de l'expérience d'Engelman

Répartition des bactéries



3 **L'expérience de Theodor Engelman (1843-1909).** En 1884, Theodor Wilhelm Engelman place une algue photosynthétique filamenteuse dans une goutte d'eau contenant des bactéries *Bacterium termo*, qui sont attirées par le dioxygène. Il éclaire différentes portions de l'algue par des lumières de différentes longueurs d'onde et observe la répartition des bactéries.

Mesures réalisées
sur le principe de
l'expérience
d'Engelman



Observation d'un chloroplaste au MET

Les cellules chlorophylliennes des plantes vertes renferment de nombreux **chloroplastes** : ce sont des organites ovoïdes de 1 à 4 μm d'épaisseur et de 3 à 10 μm de longueur.

Un chloroplaste est délimité par une double membrane (une membrane interne et une membrane externe).

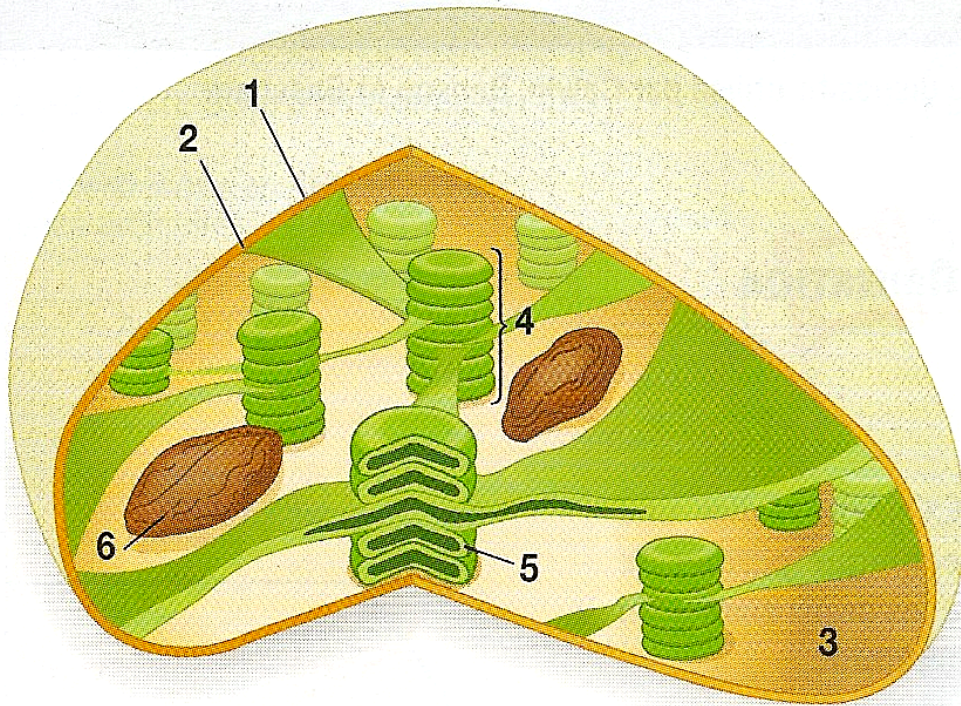
L'intérieur du chloroplaste est rempli d'une substance homogène au microscope et appelée **stroma**.

Dans ce stroma, on peut observer de très nombreux sacs aplatis de taille variable, limités chacun par une membrane plasmique. Certains sacs forment des empilements appelés **granums**.

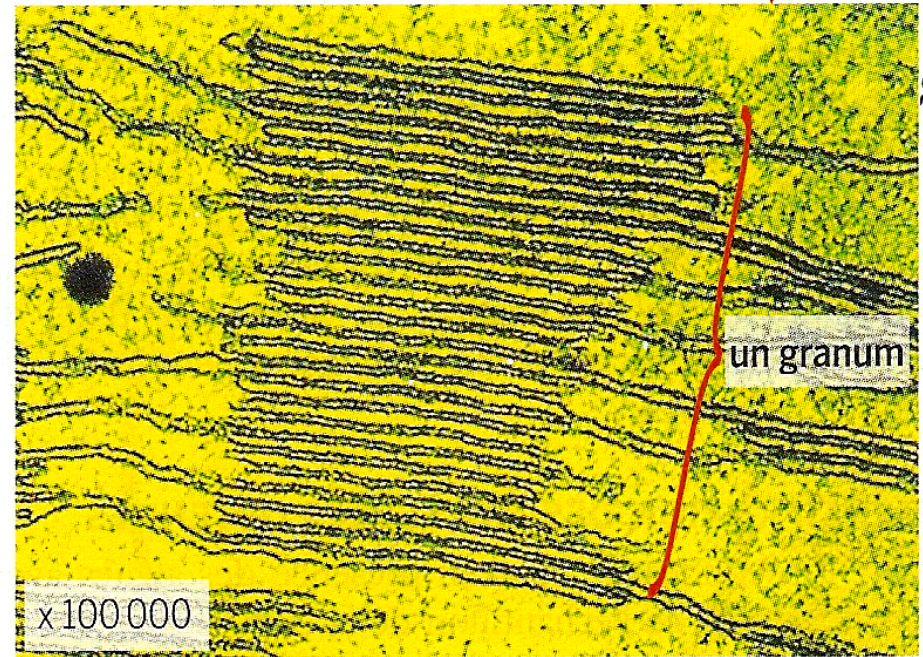
Le stroma peut parfois renfermer des **grains d'amidon**.



Un chloroplaste observé au microscope électronique à transmission (MET)



- | | |
|----------------------|--------------------|
| 1 : membrane externe | 4 : granum |
| 2 : membrane interne | 5 : thylakoïde |
| 3 : stroma | 6 : grain d'amidon |



Un granum est constitué par un empilement de disques appelés thylakoïdes.

Un **thylakoïde** est constitué par une membrane formant une sorte de sac aplati. C'est dans l'épaisseur des membranes des thylakoïdes que sont enchâssées les molécules de **chlorophylle**.

Doc. 2 La structure d'un chloroplaste, révélée grâce au microscope électronique.

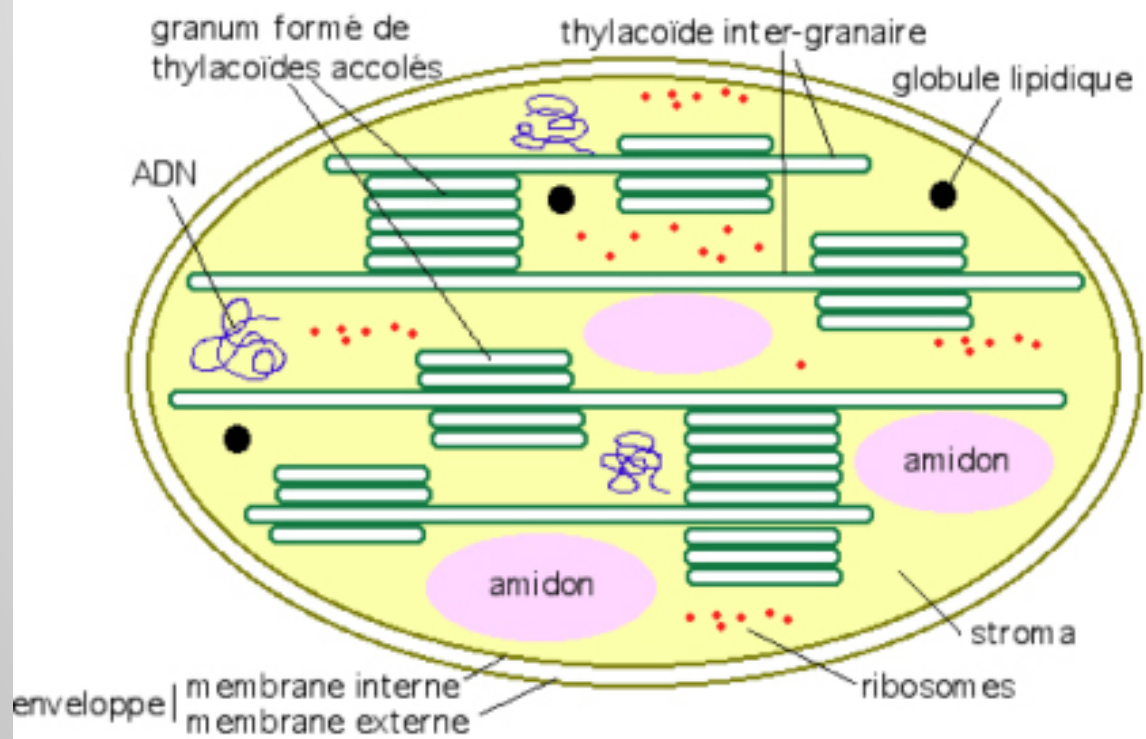
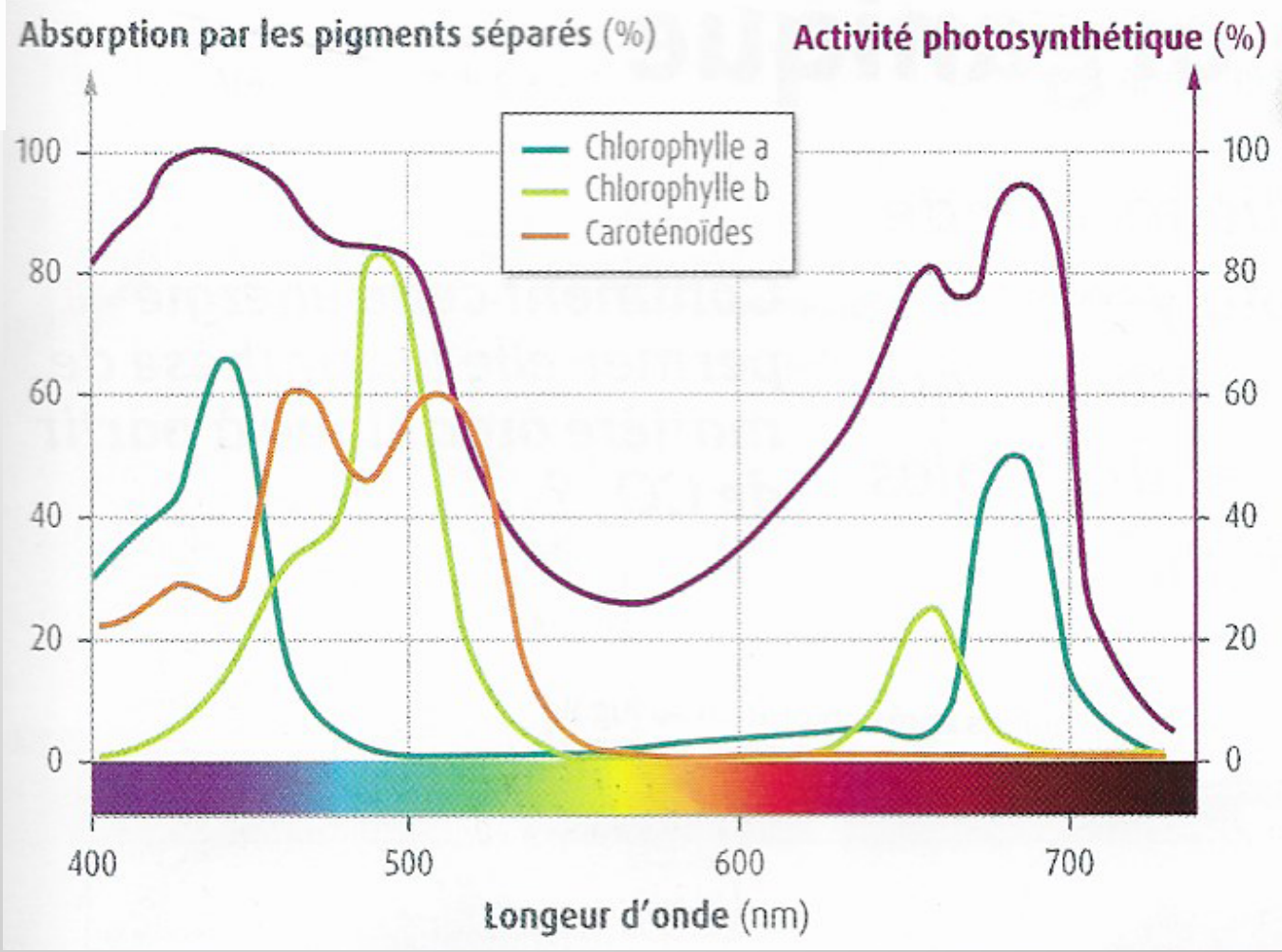
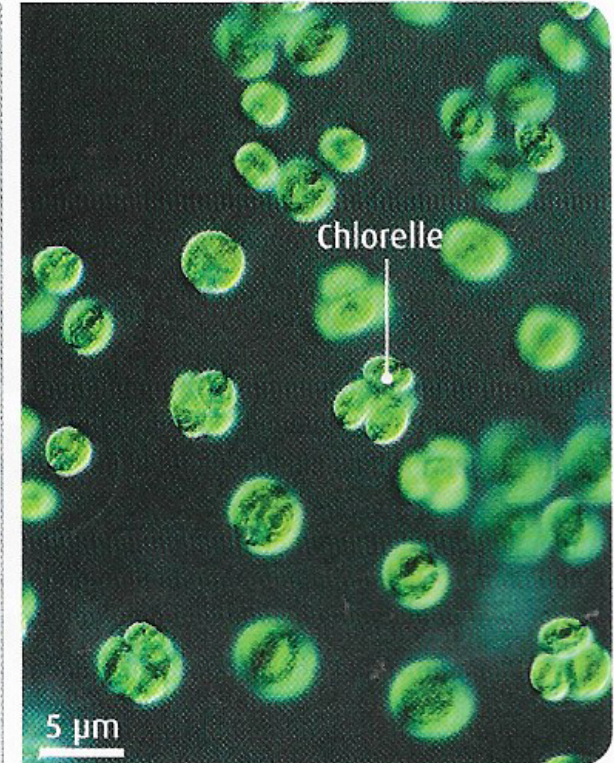
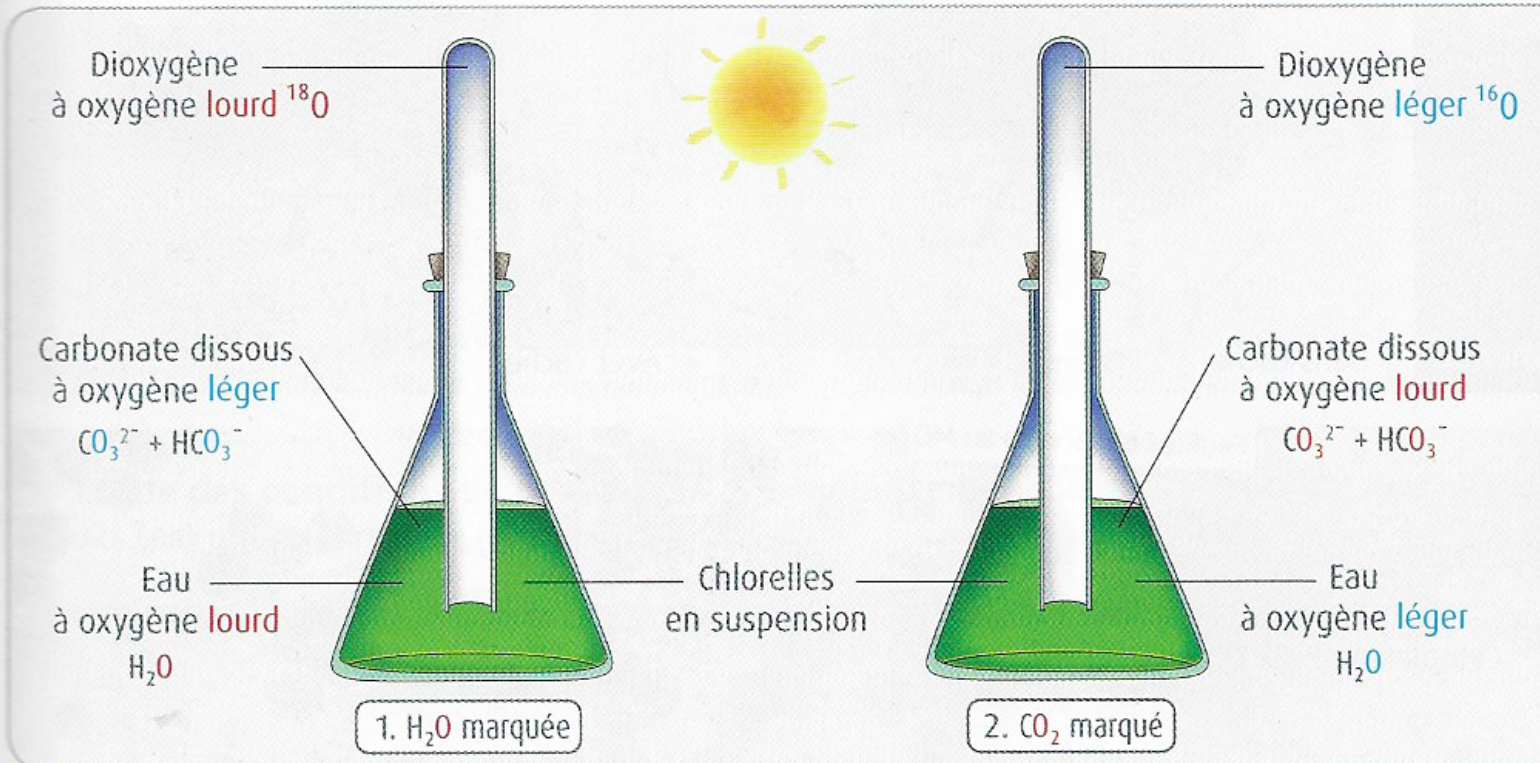


Schéma d'un chloroplaste

4 Spectre d'absorption de différents pigments photosynthétiques. En 1817, Pierre-Joseph Pelletier (1788-1842) et Joseph Bienaimé Caventou (1795-1877) isolent le pigment vert responsable de la couleur des feuilles. Ils le nomment « chlorophylle ». Au microscope, ils constatent que ce pigment est localisé au niveau de grains appelés chloroplastes. Les chloroplastes contiennent plusieurs pigments photosynthétiques dont on a déterminé bien plus tard le spectre d'absorption.



Expérience de Ruben et Camen (1941)



5 L'expérience de Samuel Ruben (1900-1988) et Martin Camen (1913-2002). En 1941, Ruben et Kamen ont réalisé l'expérience schématisée ci-dessus en utilisant un isotope lourd de l'oxygène, le ¹⁸O, pour marquer soit l'eau, soit le dioxyde de carbone (sous forme de carbonate dissous) fourni à des algues vertes unicellulaires (*Chlorella vulgaris*) exposées à la lumière.

¹⁶O : isotope stable et léger d'oxygène

Oxydoréduction et énergie lumineuse : la réaction de Hill

Expérience de Hill (1937)

La photosynthèse s'accompagnant d'un dégagement de dioxygène, on a longtemps cru que la photosynthèse résultait d'une rupture de la molécule de CO_2 , selon la réaction suivante : $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2$ (CH_2O : formule d'un glucide élémentaire).

Or, en 1937, Robert Hill remet cette conception en question :

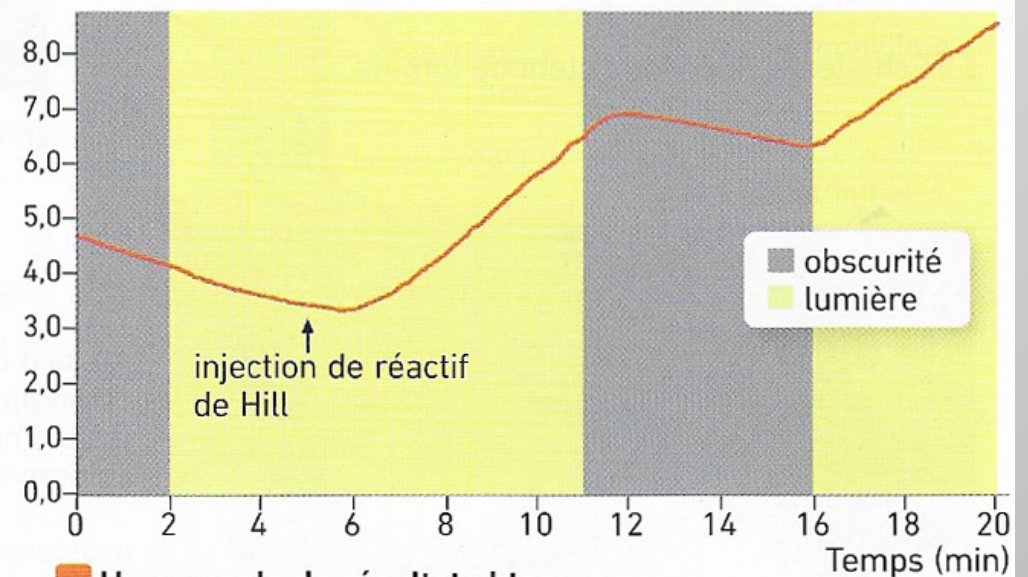
il montra que des chloroplastes isolés, en suspension dans un milieu dépourvu de CO_2 , sont capables de libérer du dioxygène, à condition d'être exposés à la lumière et mis en présence d'une molécule oxydante, telle que le ferricyanure de potassium, connu depuis sous le nom de « réactif de Hill ».

Activité pratique

On veut vérifier que la production de dioxygène par les chloroplastes résulte d'une oxydoréduction nécessitant de l'énergie lumineuse.

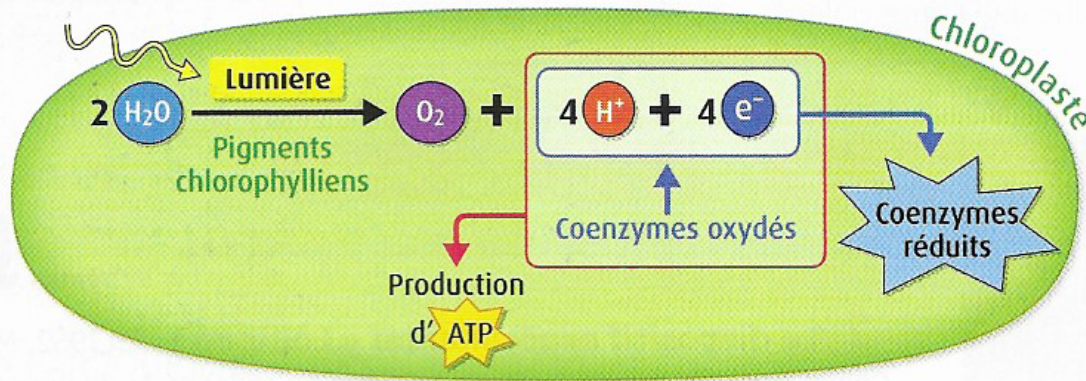
- Broyer 10 g de feuilles d'épinard dans un mortier réfrigéré contenant 10 à 25 mL de solution tampon* à pH = 6,5.
- Filtrer ce broyat sur gaze et coton hydrophile.
- Vérifier au microscope optique que le filtrat contient des chloroplastes isolés, mais pas de cellules intactes.
- À l'aide d'un dispositif ExAO, suivre la concentration en dioxygène de cette suspension de chloroplastes, en faisant se succéder des phases d'obscurité et d'éclairement, en absence puis en présence du réactif de Hill.

Concentration en dioxygène (mg/L)



■ Un exemple de résultat obtenu.

L'expérience de Ruben et Kamen a permis de montrer que les plantes chlorophylliennes effectuent à la lumière une transformation chimique appelée photolyse de l'eau. Cette transformation se produit dans les chloroplastes grâce à l'énergie lumineuse captée par les pigments photosynthétiques. Elle est modélisée par l'équation schématisée ci-dessous :



Il s'agit d'une réaction d'oxydation car l'eau y perd des électrons. Ces derniers sont captés par des molécules appelées coenzymes, qui passent de l'état oxydé à l'état réduit. Au cours de ce même processus de l'ATP est produit. Les coenzymes réduits et l'ATP, produits grâce à la lumière et aux électrons fournis par l'eau, sont une source d'énergie chimique utilisable par la cellule chlorophyllienne.

6 La photolyse de l'eau.

L'origine du dioxygène produit : expérience de Ruben et Kamen

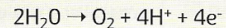
En 1941, les chimistes Ruben et Kamen ont permis de comprendre l'origine du dioxygène produit au cours de la photosynthèse.

Leurs expériences reposent sur le dispositif suivant : Des chlorelles (algues unicellulaires) sont cultivées dans de l'eau enrichie en dioxyde de carbone, et exposées à la lumière.

Le pourcentage de l'isotope ^{18}O est fixé par les expérimentateurs, à la fois dans les molécules d'eau et dans les molécules de dioxyde de carbone. Il diffère selon les expériences (voir les proportions dans le tableau).

Les expérimentateurs recueillent le dioxygène produit par les chlorelles et déterminent sa teneur en ^{18}O .

Réaction de dissociation de l'eau



| Expériences | H ₂ O utilisée | CO ₂ utilisé | O ₂ recueilli |
|-------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 1 | 0,85 % | 0,41 % | 0,84 % |
| 2 | 0,85 % | 0,55 % | 0,85 % |
| 3 | 0,85 % | 0,61 % | 0,86 % |
| 4 | 0,20 % | 0,50 % | 0,20 % |
| 5 | 0,20 % | 0,40 % | 0,20 % |

■ Résultats des expériences : teneurs en ^{18}O dans les molécules d' H_2O , de CO_2 et d' O_2 .

La dissociation de l'eau est une oxydation* qui demande beaucoup d'énergie. Elle permet de scinder la molécule d'eau en hydrogène et oxygène. Elle n'est possible qu'en présence d'un accepteur d'électrons suffisamment puissant. Après avoir été éclairée, la chlorophylle devient une molécule très oxydante, capable de provoquer cette **photolyse de l'eau***.

En 1929, le scientifique Van Niel déclarait : « Qu'est-ce que la photosynthèse ? Depuis longtemps on sait que, pendant la photosynthèse, une réaction a lieu qu'on peut représenter schématiquement par l'équation bilan : $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$. Donc nous pouvons dire qu'elle représente un processus d'oxydo-réduction typique. Le CO_2 est réduit, H_2O est oxydé. [...] Le CO_2 jouerait le rôle d'accepteur d'hydrogène, H_2O celui de donneur et, en conséquence, l'oxygène dégagé devrait être considéré comme de l' H_2O déshydrogénée. »

Source : modifié d'après https://agritrop.cirad.fr/457646/1/document_457646.pdf

b Expérience historique de Kamen et Ruben (1941)

Ruben et Kamen ont fourni à des Chlorelles, algues unicellulaires, une source de CO_2 pour qu'elles réalisent la photosynthèse. Ils ont fabriqué de l'eau contenant un isotope de l'oxygène, l' ^{18}O , en proportions différentes. Dès la formation de CO_2 , ils ont recueilli le dioxygène produit et ont mesuré sa teneur en ^{18}O dans deux expériences.

Source : D'après l'article de Ruben et al. paru en 1941

| Expérience | Pourcentage de ^{18}O dans | |
|------------|-------------------------------------|----------------|
| | H ₂ O | O ₂ |
| 1 | 0,85 | 0,85 |
| 2 | 0,20 | 0,20 |

Pourcentage d'isotope dans l'oxygène produit lors de la photosynthèse par *Chlorella*

Comment l'énergie lumineuse permet-elle la synthèse de matière organique à partir de CO_2 ?

La réduction du CO₂ : expériences de Calvin et Benson

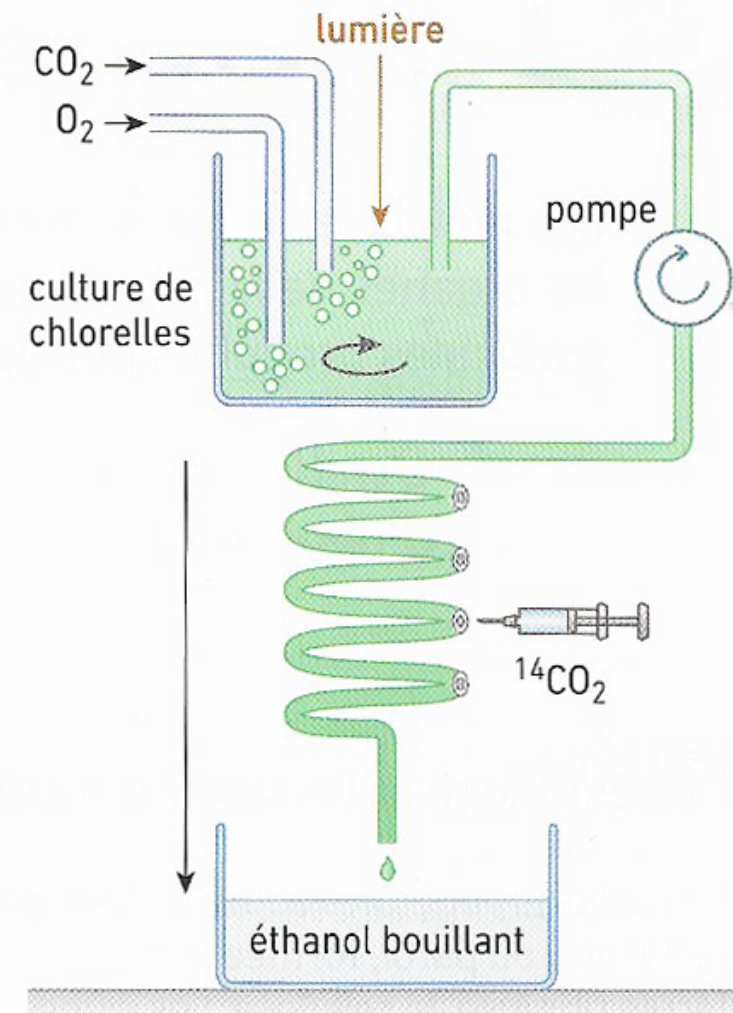
Calvin et Benson : 1950

Les expériences menées dans les années 1950 par Melvin Calvin et Andrew Benson montrèrent qu'au cours de la photosynthèse le CO₂ participe à des réactions chimiques qui conduisent à la production de glucides simples, dont le glucose (C₆H₁₂O₆). Globalement, ces réactions correspondent à une **réduction du CO₂*** au cours de la photosynthèse.

Leurs expériences reposent sur le dispositif suivant :

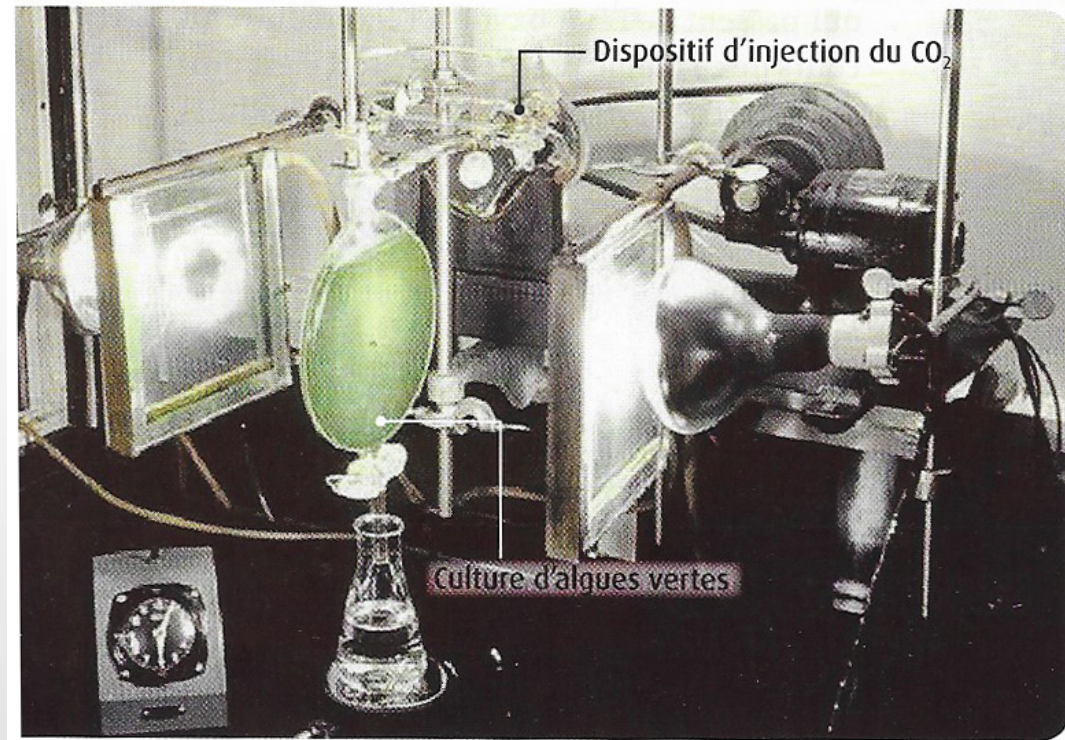
Des chlorelles (algues unicellulaires) sont cultivées dans des conditions optimales pour la photosynthèse. Le milieu de culture est relié à un serpentin grâce à une pompe qui permet de contrôler le débit et donc la durée de présence des algues dans le serpentin. Le serpentin est conçu pour injecter du ¹⁴CO₂ à différents endroits. Ceci permet de contrôler la durée de contact entre les algues et le ¹⁴CO₂. À la sortie du serpentin, les algues tombent dans de l'alcool bouillant, ce qui les tue instantanément.

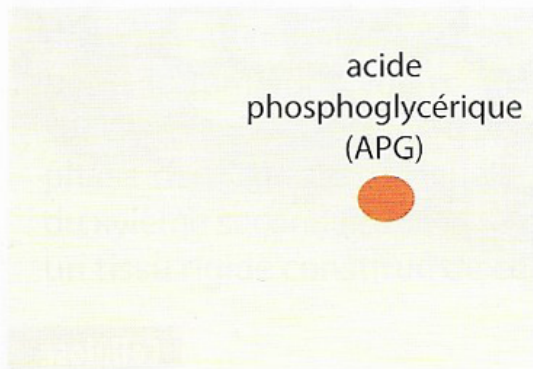
Les molécules organiques sont ensuite extraites des algues, et soumises à une chromatographie bidimensionnelle*. Les molécules contenant du ¹⁴C radioactif sont révélées par autoradiographie*. On peut identifier les différentes molécules par comparaison avec une chromatographie réalisée sur des molécules connues.



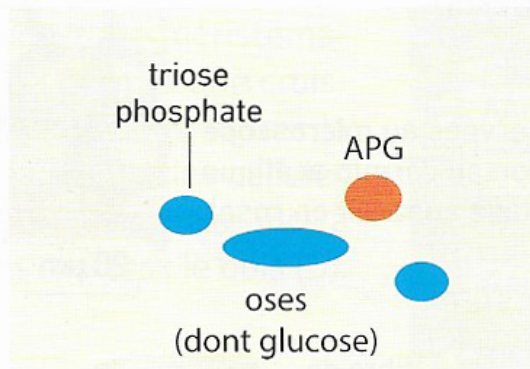
A Dispositif expérimental.

2 Le dispositif expérimental « Lollipop ». En 1952, Melvin Calvin (1911-1997 ; prix Nobel de chimie en 1961) et Andy Benson (1917-2015) ont réalisé des expériences visant à identifier les premières molécules carbonées synthétisées par les organismes chlorophylliens à partir du dioxyde de carbone atmosphérique. Calvin et Benson cherchaient aussi à comprendre les réactions diverses que subissent ces molécules jusqu'à la synthèse d'amidon. Dans un dispositif surnommé Lollipop à cause de sa forme, une culture d'algues vertes unicellulaires (chlorelles) est éclairée par de la lumière blanche. Il est possible d'injecter du CO_2 marqué au ^{14}C (radioactif) et de provoquer la mort instantanée des algues en les plongeant dans du méthanol brûlant. Ce dispositif permet de réaliser des expériences sur des temps très courts (compatible avec la vitesse des réactions) et d'arrêter les réactions brutalement.

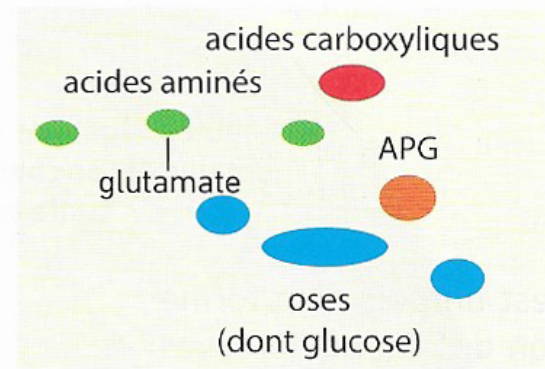




t = 1 s

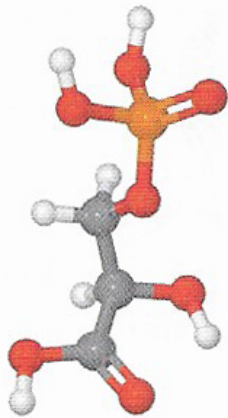


t = 5 s

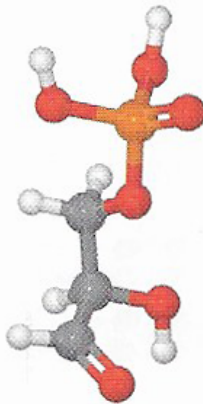


t = 15 s

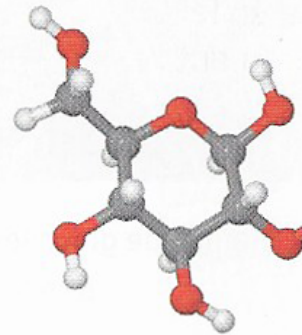
B Chromatographies bidimensionnelles (résultats schématisés).



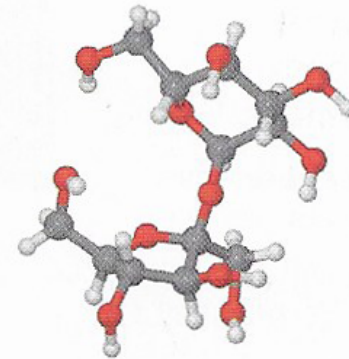
APG : acide phosphoglycérique



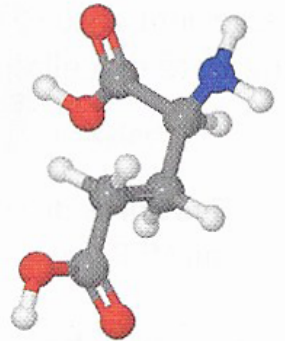
Triose phosphate



Glucose



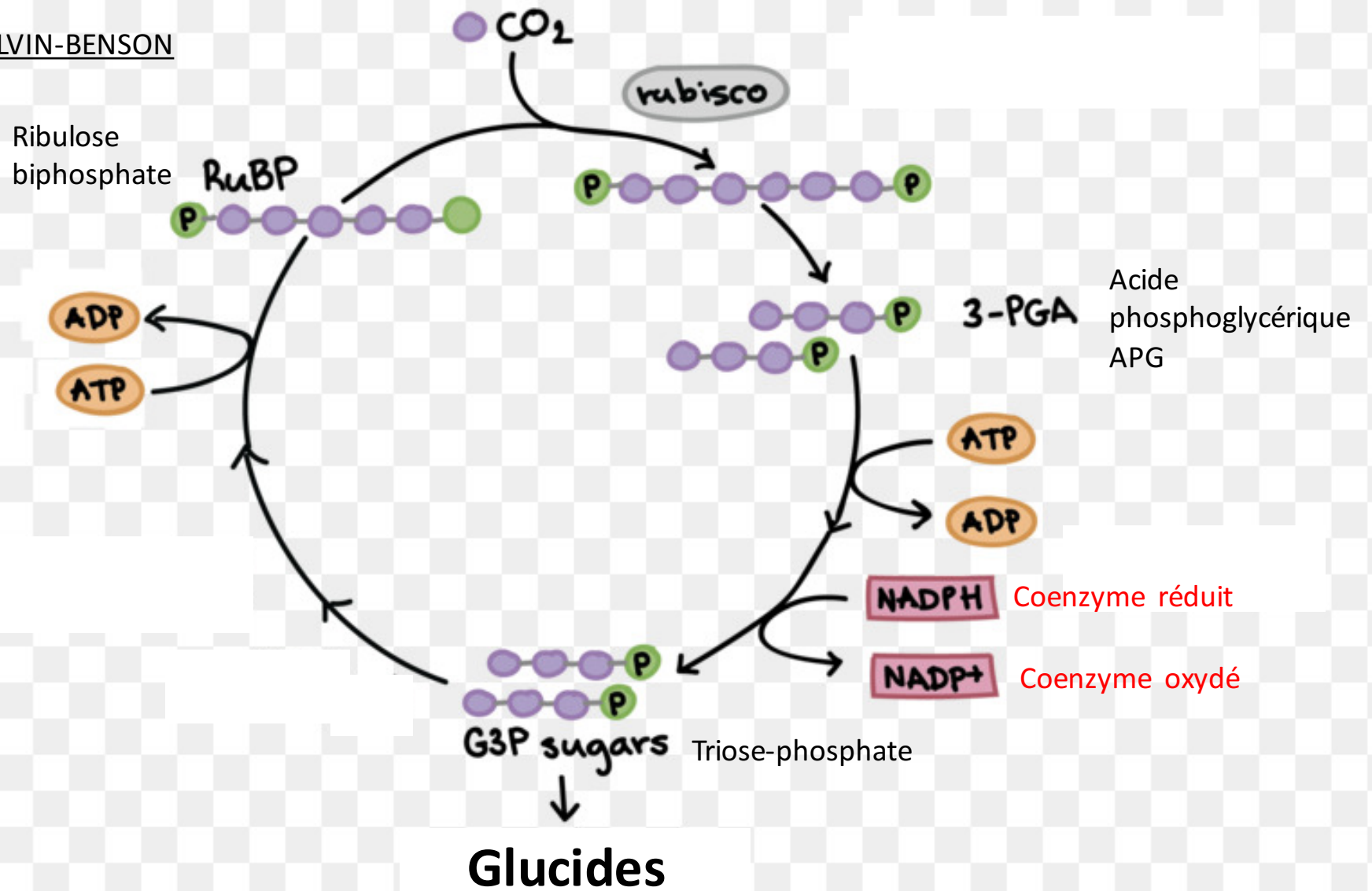
Saccharose

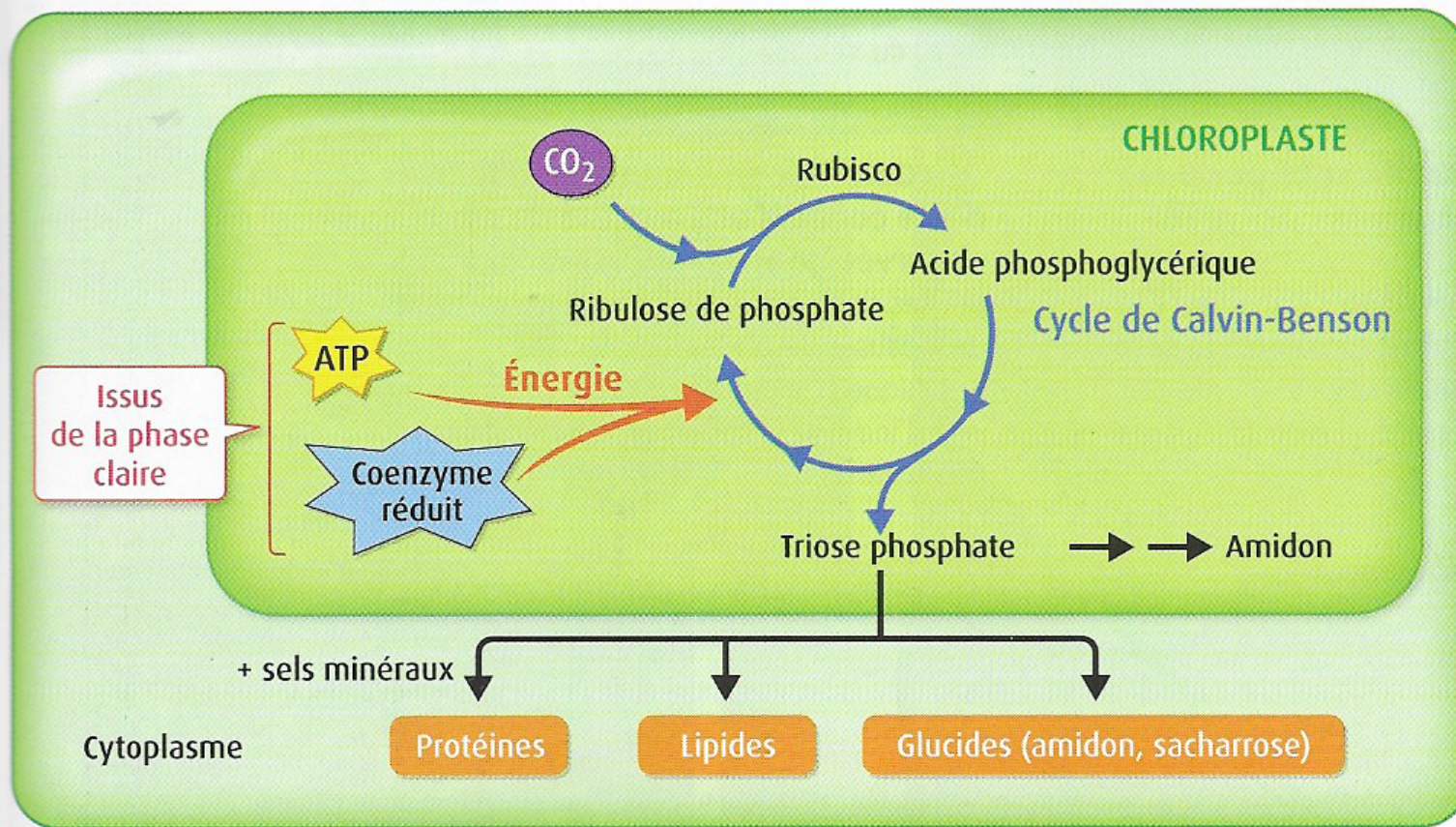


Glutamate

C Quelques molécules produites par la réduction du CO₂.

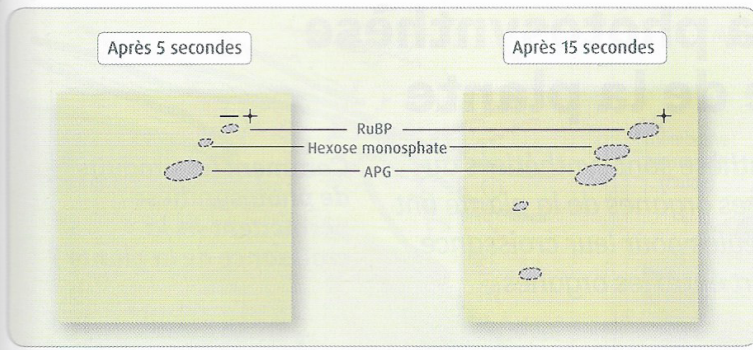
CYCLE DE CALVIN-BENSON



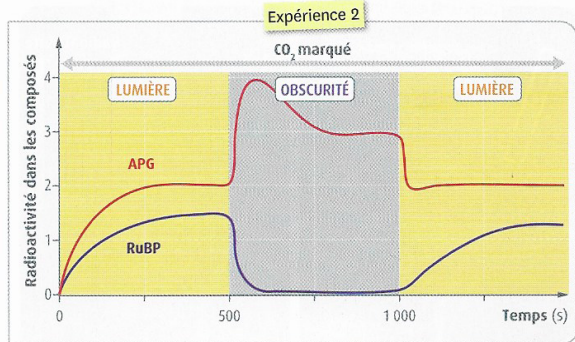
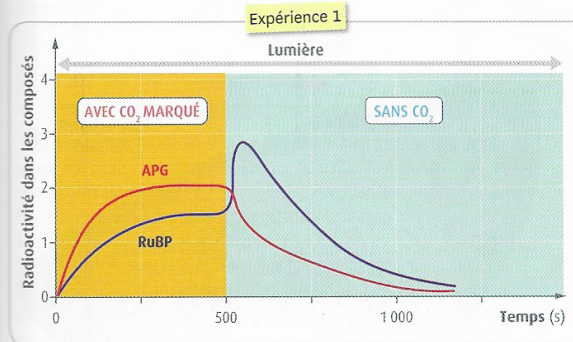


5 Cycle de Calvin Benson.

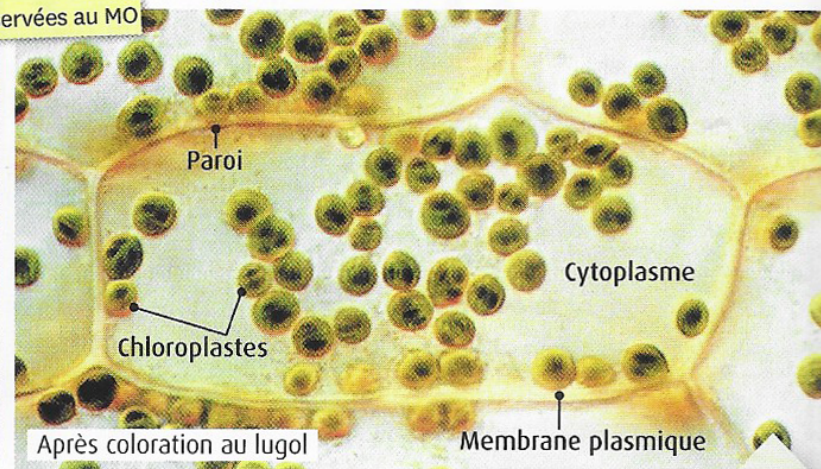
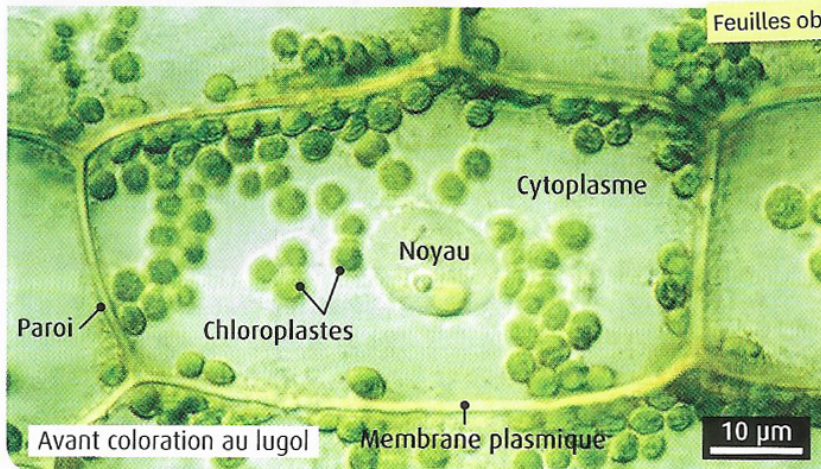
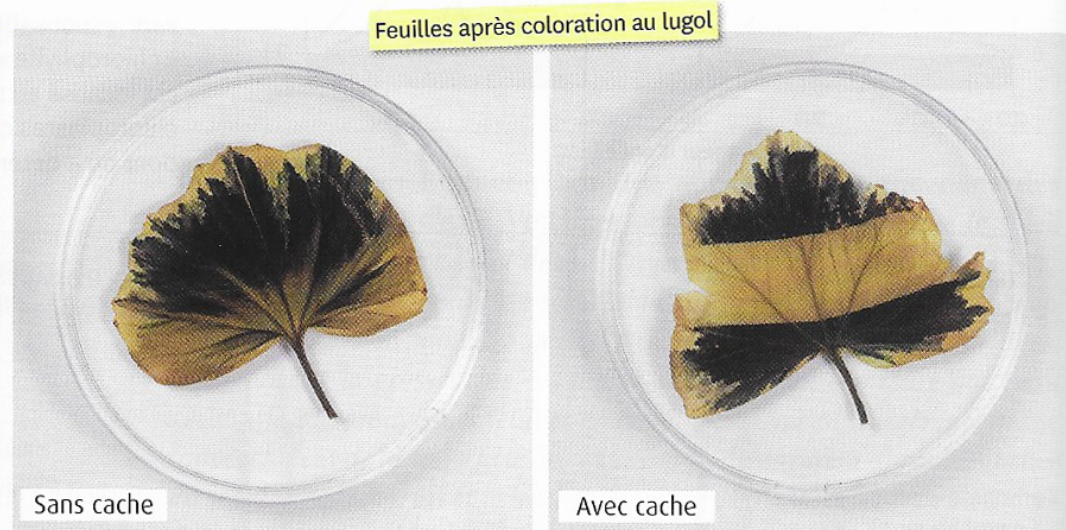
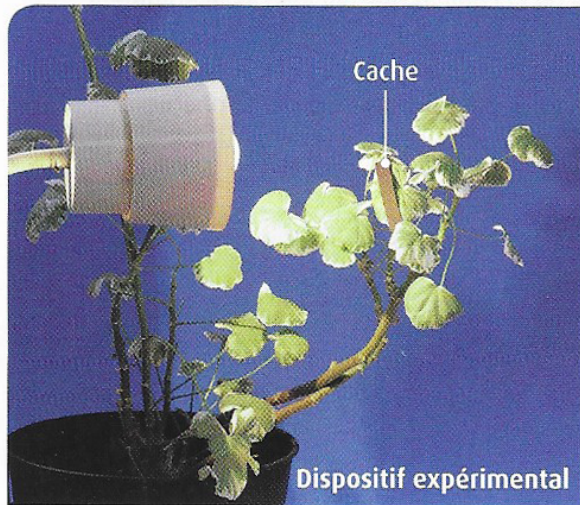
De nombreuses années ont été nécessaires pour découvrir la suite des réactions permettant la synthèse des glucides à partir du CO_2 atmosphérique. Ces réactions forment un cycle. La fixation du dioxyde de carbone sur une molécule de RuBP est réalisée par une enzyme : la Rubisco. Le produit de cette réaction est l'APG qui grâce à l'énergie apportée par la phase claire de la photosynthèse est converti en sucres à trois carbones phosphorylés : les trioses phosphates.



3 Résultats des expériences de Calvin et Benson. L'analyse des algues tuées 5 secondes ou 15 secondes après le début de la photosynthèse est réalisée par une chromatographie (qui sépare et permet d'identifier les molécules présentes dans les algues) suivie d'une autoradiographie (qui permet de visualiser les molécules radioactives). Les hexoses sont des sucres (glucides) à six carbones, les trioses des sucres à trois carbones. Beaucoup de ces molécules sont associées à un ou plusieurs phosphates. RuBP : ribulose diphosphate ; APG : acide phosphoglycérique.



4 Étude des conditions de production des molécules carbonées par photosynthèse. On mesure la quantité d'APG et de RuBP produits (par une mesure de la radioactivité) dans différentes conditions.



1 Localisation de la production de matière organique chez une plante. À l'échelle cellulaire (au microscope), on constate que la couleur verte due à la chlorophylle est concentrée au niveau de petits organites intracellulaires : les chloroplastes. Pour mettre en évidence la présence d'amidon, une macromolécule glucidique, on utilise le lugol. Ce colorant prend une teinte violacée en présence d'amidon.