

Document 1 : Deux plants de pélagonium sont placés à la lumière pendant 48 heures. L'un est un plant de couleur unie (les feuilles sont entièrement vertes) et l'autre est un plant panaché (les feuilles présentent des zones blanches et des zones vertes). On recouvre quelques feuilles de caches partiels.

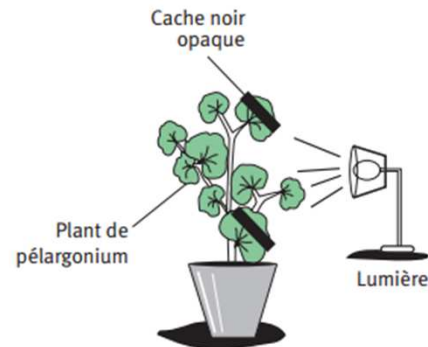
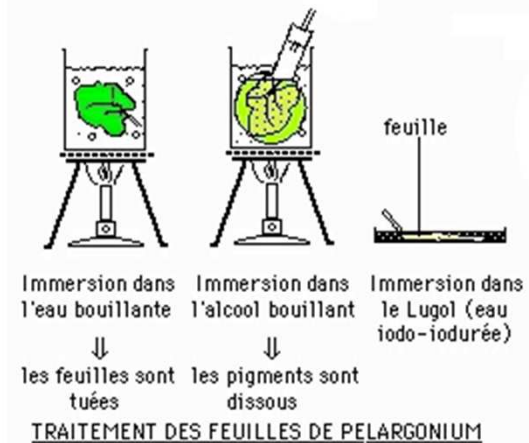


Schéma du montage des deux pélagoniums

Après exposition, on détache les feuilles cachées (dont on enlève les caches) et non cachées : on ne note aucune différence apparente.

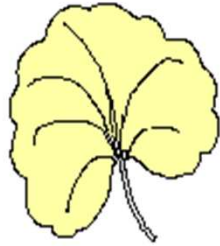
Les feuilles sont traitées de la façon suivante :

- traitement à l'eau bouillante,
- traitement à l'alcool bouillant,
- immersion dans le Lugol qui colore spécifiquement l'amidon en bleu violacé sombre.

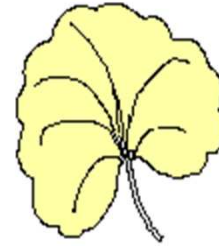


Schématiser les résultats obtenus :

Feuille unie sans cache



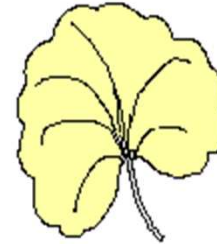
Feuille unie avec cache



Feuille panachée sans cache



Feuille panachée avec cache



Document 2 : Chez les végétaux supérieurs, les chloroplastes sont des organites ovoïdes de 1 à 4 micromètres d'épaisseur et de 3 à 10 micromètres de longueur. Un chloroplaste présente trois membranes distinctes (membrane externe, membrane interne, membrane des thylakoïdes) qui déterminent trois compartiments séparés (espace intermembranaire, stroma, espace intrathylakoïdien). Les thylakoïdes ont l'aspect de sacs aplatis en disques et empilés les uns sur les autres. La chlorophylle est localisée dans les membranes des thylakoïdes.

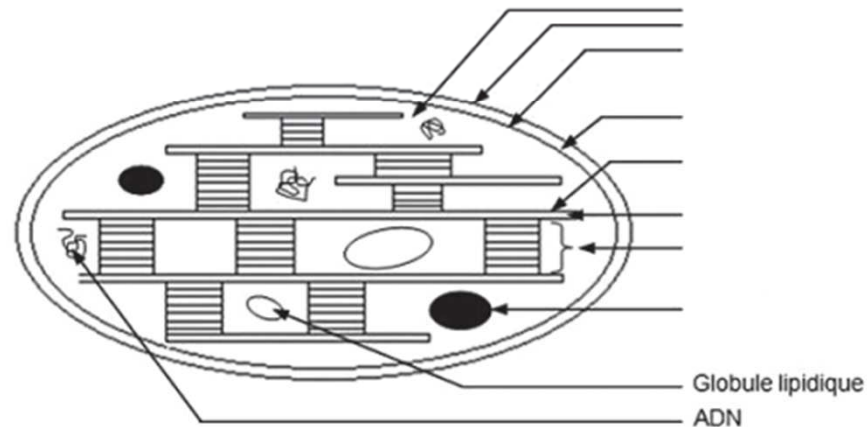
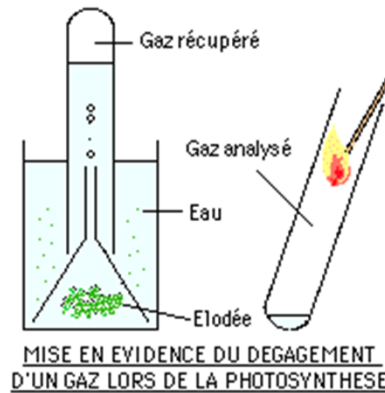


Schéma de la structure d'un chloroplaste

Document 3

Un fragment d'élodée placé dans l'eau et à la lumière se recouvre de bulles de gaz qui remontent à la surface. Recueilli grâce à un entonnoir, dans une éprouvette, ce gaz entretient les combustions.

Un 2^{ème} montage est réalisé mais, dans ce cas, les végétaux sont placés à l'obscurité. Aucun dégagement gazeux n'est alors observé.



Document 4 : Caractéristiques d'une feuille

A l'œil nu, la feuille, le plus souvent de couleur verte, présente plusieurs parties. Le limbe est relié à la tige par le pétiole et des nervures, prolongement du pétiole dans le limbe, sont des éléments conducteurs assurant l'approvisionnement des cellules chlorophylliennes en eau et éléments minéraux.

Au microscope optique, une coupe transversale de feuille présente de part et d'autre une couche de cellules épidermiques. On distingue ainsi l'épiderme supérieur et inférieur.

Les cellules chlorophylliennes de la feuille forment un tissu nommé parenchyme.

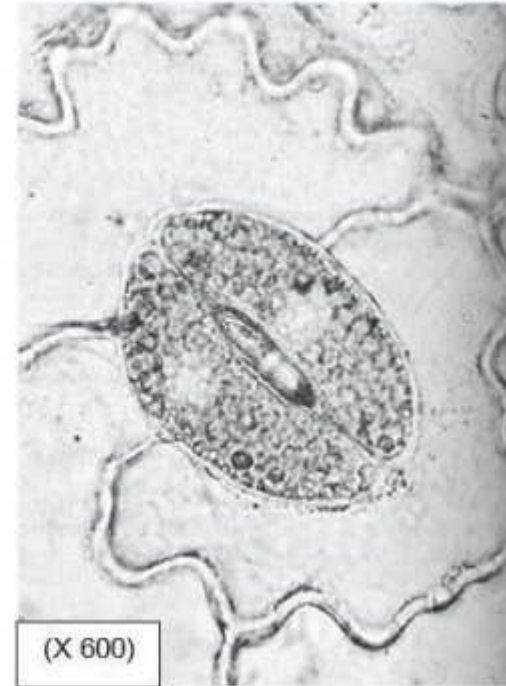
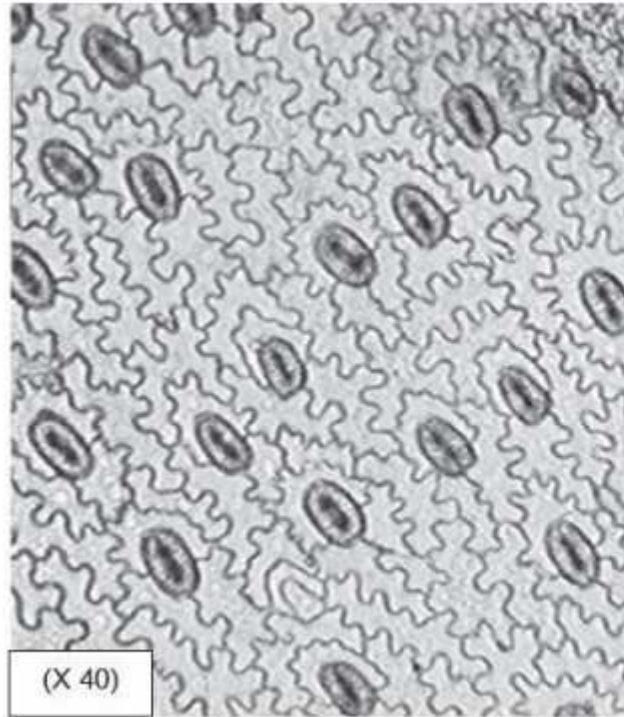
Dans le parenchyme palissadique, les cellules chlorophylliennes sont rangées « en palissade », tandis que dans le parenchyme lacuneux, elles ménagent entre elles des espaces, appelés lacunes.

Des structures épidermiques particulières, les stomates, interrompent la continuité de l'épiderme foliaire.

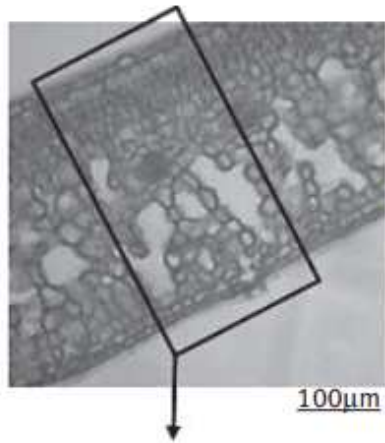
Les stomates sont constitués de deux cellules stomatiques délimitant un orifice réglable, l'ostiole. Cet orifice permet une communication directe entre l'atmosphère et une chambre sous-stomatique. Les chambres sous-stomatiques se prolongent à l'intérieur de la feuille par de nombreux espaces intercellulaires qui constituent une véritable atmosphère interne. Le dioxyde de carbone pénètre dans la chambre sous-stomatique par les stomates, atteint les cellules chlorophylliennes en diffusant à travers les espaces lacunaires et pénètre dans leur cytoplasme, où il se dissout.



Feuille observée à l'œil nu

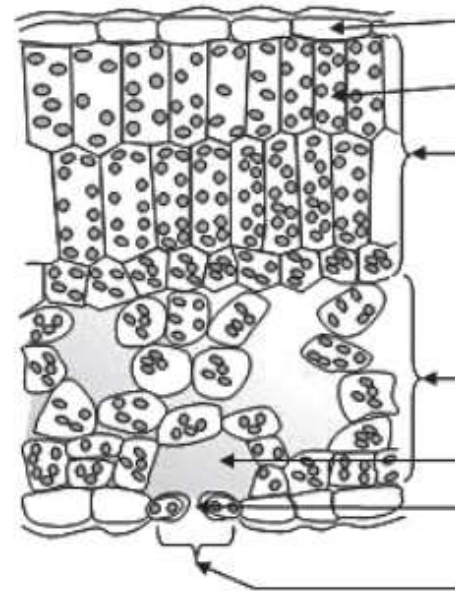


Observation au microscope optique d'épiderme foliaire
de polyode à deux grossissement

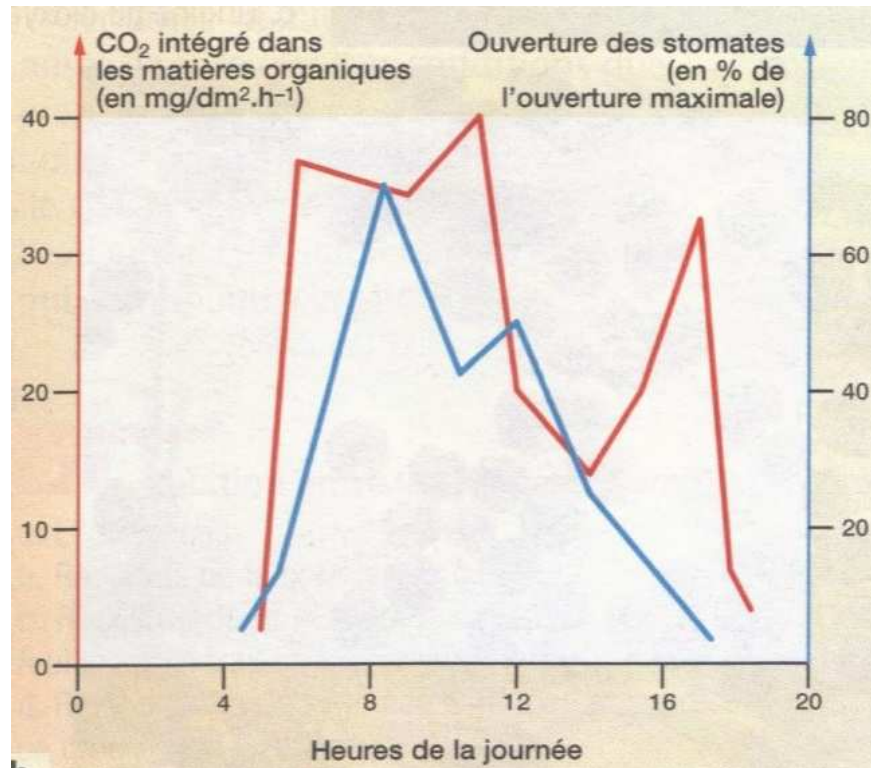


Observation
microscopique d'une
coupe transversale de
feuille

Schéma d'interprétation
de l'observation
microscopique de la coupe
transversale de feuille



Observation microscopique d'une coupe transversale de feuille
et son schéma d'interprétation



Les échanges gazeux de la feuille avec son environnement

Bilan

La feuille est l'organe spécialisé dans la photosynthèse. Sa structure :

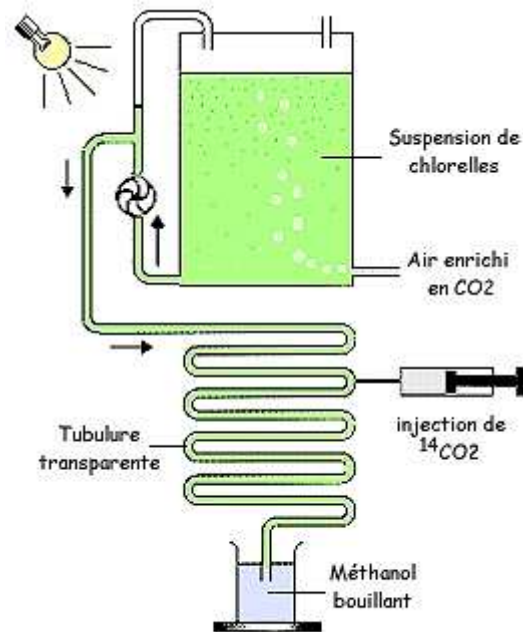
- favorise les échanges gazeux avec l'atmosphère

L'observation microscopique d'une coupe transversale d'une feuille permet de détailler l'organisation interne. Entre l'épiderme supérieur et l'épiderme inférieur, on observe des cellules chlorophylliennes (parenchyme palissadique et parenchyme lacuneux). L'épiderme est ponctué de stomates, structures formées de 2 cellules en forme de haricot laissant un orifice central appelé ostiole. Le CO_2 pénètre par l'ostiole dans la chambre sous-stomatique puis diffuse à travers les espaces lacunaires pour ensuite se dissoudre et pénétrer dans les cellules chlorophylliennes.

- favorise l'exploitation de la lumière

Les feuilles sont plates et de faible épaisseur (de l'ordre de 1 mm) et ont une grande surface pour capter le maximum de rayons lumineux.

Document 5 : les expériences de Calvin et Benson (1962)



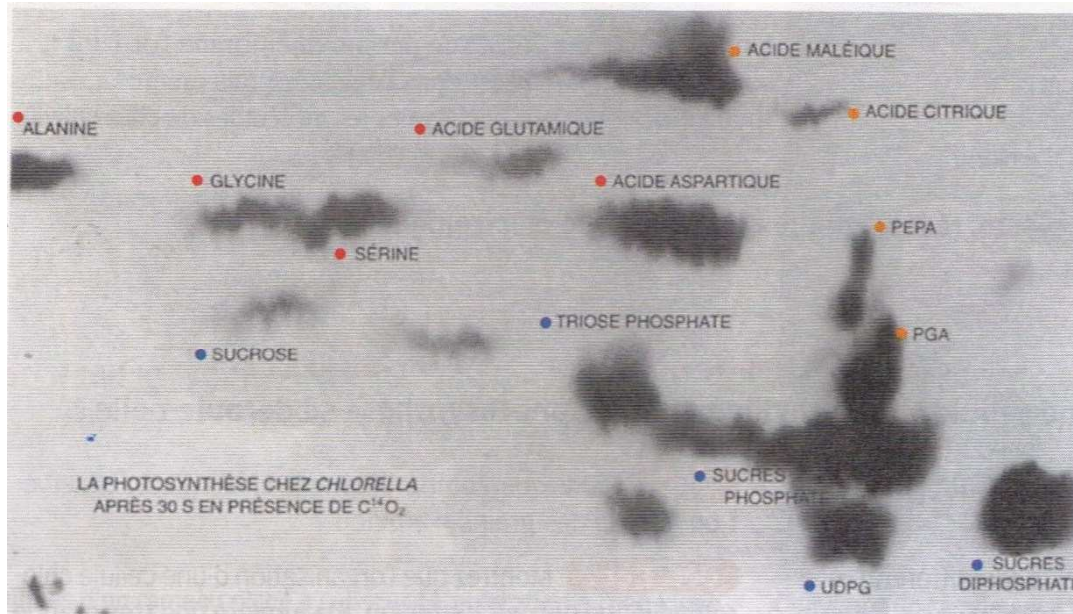
DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE CALVIN

Des chlorelles sont maintenues en suspension à la lumière, dans un récipient où l'on fait barboter du dioxyde de carbone. Celles-ci sont refoulées dans une tubulure souple et transparente qu'elles parcourent en un temps donné grâce à une pompe dont le débit est connu.

En un point variable de la tubulure, on injecte du $^{14}\text{CO}_2$: le temps pendant lequel les algues peuvent l'incorporer est variable selon l'endroit de l'injection. Les cellules tombent enfin dans du méthanol bouillant qui bloque instantanément toutes les réactions chimiques.

Par radio-chromatographie, [Calvin et Benson déterminent les molécules organiques qui ont incorporé le \$^{14}\text{C}\$](#) en fonction du temps de mise en présence des algues avec le dioxyde de carbone radioactif.

- Séparation des constituants du mélange par chromatographie
- Révélation des molécules contenant du $^{14}\text{CO}_2$ par autoradiographie



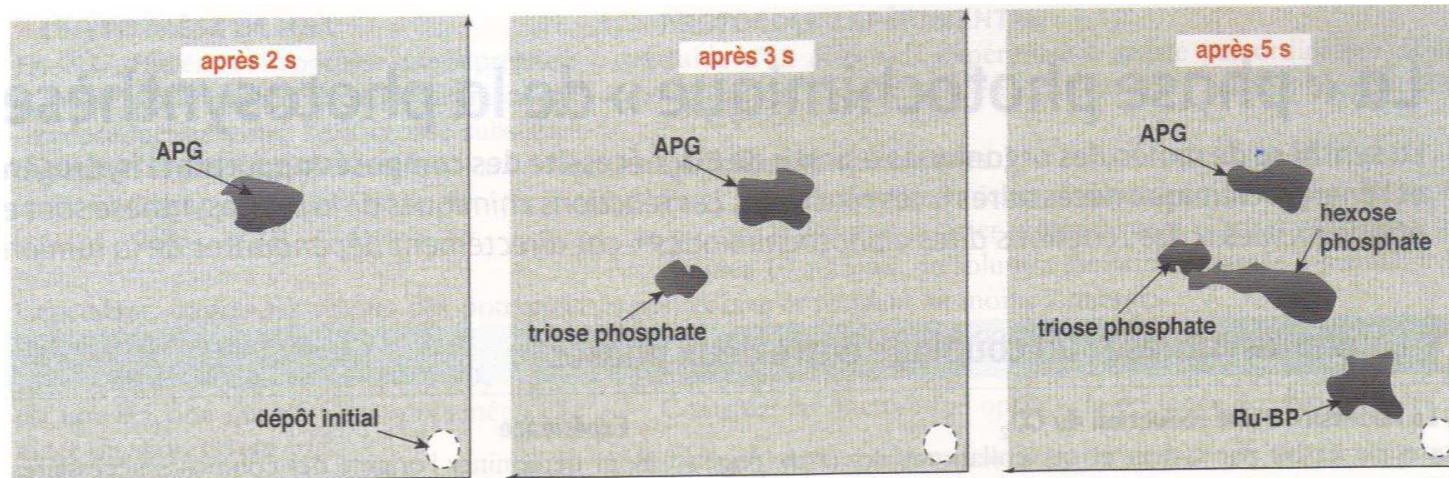
Par **autoradiographie**, on révèle sur du papier photographique toutes les molécules contenant du ^{14}C radioactif, donc formées à partir du $^{14}\text{CO}_2$.

Leur position sur le chromatogramme permet d'identifier les différentes molécules. On observe ici la présence de :

- glucides (●) ;
- acides aminés (●) ;
- acides organiques (●).

Doc. 1 Les expériences de Calvin, Benson et Bassham.

Les étapes de l'incorporation du CO₂



L'expérience de Calvin, Benson et Bassham est répétée avec des temps très courts : on peut alors identifier l'ordre chronologique des premiers produits formés par incorporation de CO₂ au cours de la photosynthèse.

APG : acide phosphoglycérique (3 atomes de C).

Triose : glucide à 3 atomes de carbone.

Hexose : glucide à 6 atomes de carbone (glucose par exemple).

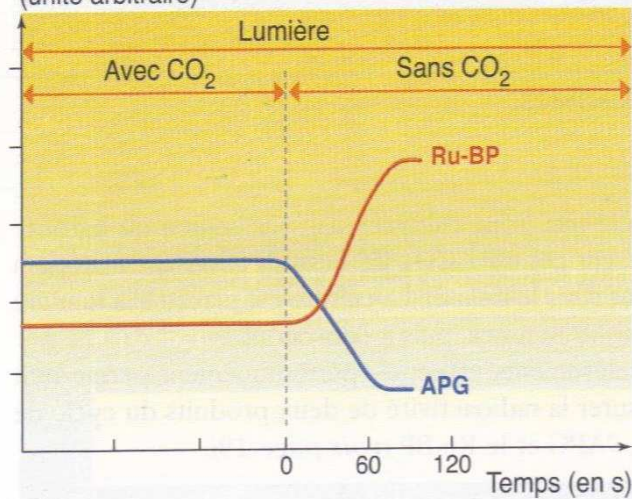
Ru-BP : Ribulose biphosphate (glucide à 5 atomes de carbone).

Doc. 2

L'établissement de la chronologie de la formation des premiers produits de la photosynthèse.

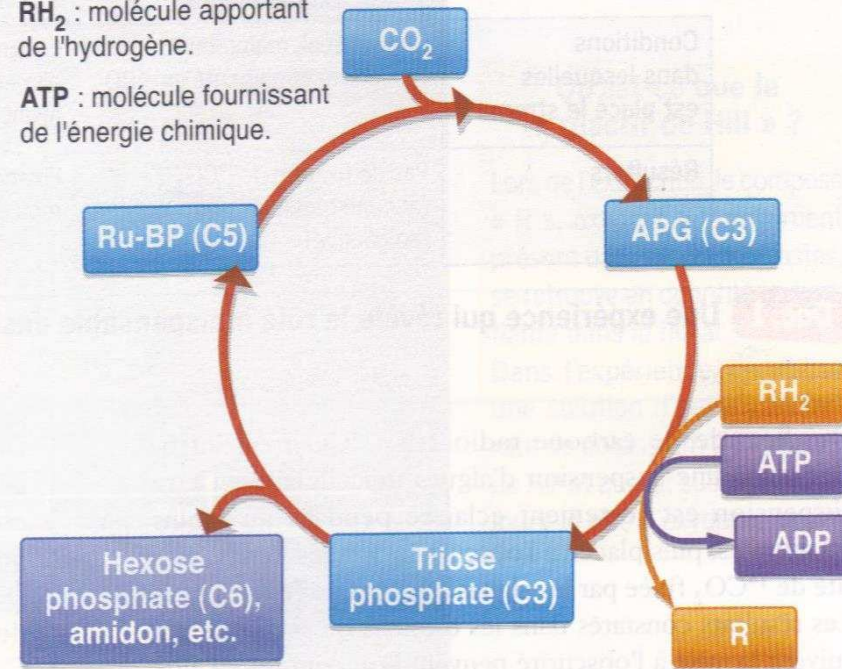
Dans l'expérience traduite par le *graphe ci-dessous*, les concentrations en APG et Ru-BP sont suivies en continu. Au temps $t = 0$, la culture cesse d'être approvisionnée en CO_2 .

Concentrations en APG et RU-BP
(unité arbitraire)



RH_2 : molécule apportant de l'hydrogène.

ATP : molécule fournissant de l'énergie chimique.



Les principales étapes du cycle établi par Calvin, Benson et Bassham.

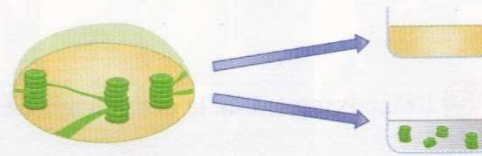
Doc. 3 Dans le stroma du chloroplaste, un cycle complexe de réactions chimiques.

• **La nécessité d'une réduction du CO₂**

Le cycle établi par Calvin et ses collaborateurs (voir page 19) montre que la production des molécules organiques par photosynthèse nécessite une **réduction chimique** du CO₂ : en effet, dans une molécule comme le glucose (C₆H₁₂O₆), le C se trouve sous une forme réduite, la molécule est hydrogénée. Un apport d'hydrogène est donc nécessaire : celui-ci est fourni par des transporteurs (molécules qui, pour simplifier, sont ici notées « R »). Par ailleurs, ces réactions nécessitent de l'énergie chimique, fournie par l'hydrolyse de molécules d'**ATP** (le rôle universel de l'ATP sera envisagé dans le chapitre 2).

• **Expérience**

Pour déterminer l'origine des composés nécessaires (**RH₂** et ATP), Arnon réalise une expérience en préparant, à partir de chloroplastes, une fraction contenant uniquement les **thylakoïdes** et une fraction correspondant au **stroma**.

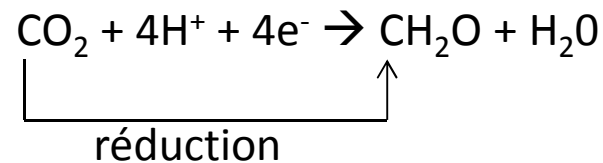


| | Expérience 1 | Expérience 2 | Expérience 3 |
|--|--|--|--|
| Conditions dans lesquelles est placé le stroma | Stroma seul, maintenu à l'obscurité et alimenté en ¹⁴ CO ₂ | Stroma maintenu à l'obscurité et alimenté en ¹⁴ CO ₂ + thylakoïdes ayant séjourné à la lumière | Stroma seul maintenu à l'obscurité et alimenté en ¹⁴ CO ₂ , RH ₂ et ATP |
| Résultats | Pas de fixation de ¹⁴ CO ₂ (aucune molécule organique radioactive) | Fixation de ¹⁴ CO ₂ dans diverses molécules organiques | Fixation de ¹⁴ CO ₂ dans diverses molécules organiques |

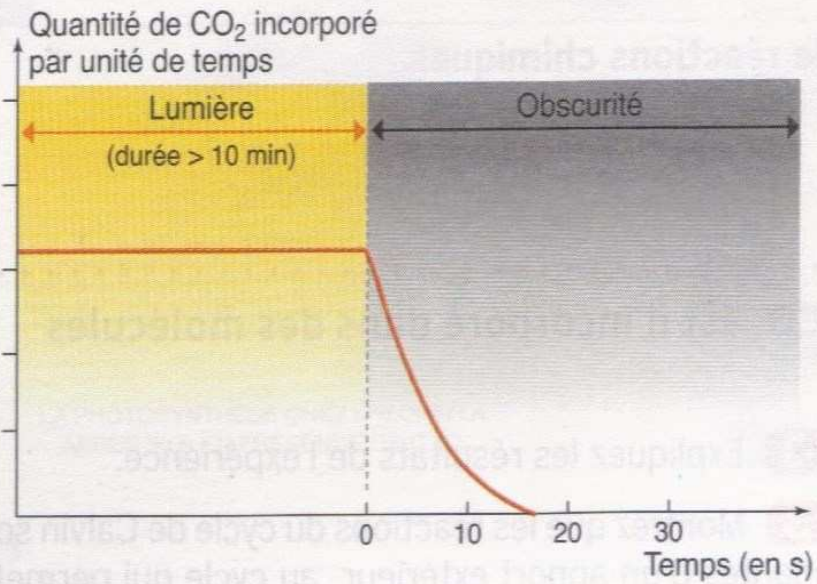
Doc. 1 Une expérience qui révèle le rôle indispensable des thylakoïdes.

L'élément carbone se trouve à l'état oxydé dans la matière organique (CO₂) et à l'état réduit dans la matière organique (glucose : C₆H₁₂O₆).

Il y a ainsi une réduction du carbone minéral en carbone organique.



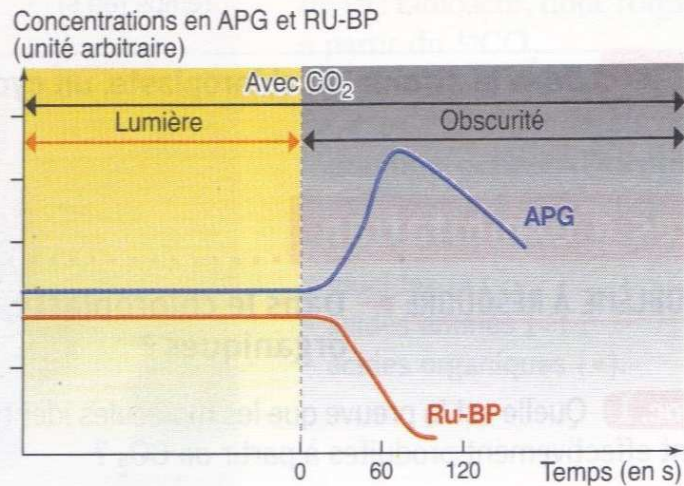
Du dioxyde de carbone radioactif ($^{14}\text{CO}_2$) est introduit dans une suspension d'algues unicellulaires. Cette suspension est fortement éclairée pendant au moins 10 minutes, puis placée à l'obscurité. On mesure la quantité de $^{14}\text{CO}_2$ fixée par les algues au cours de l'expérience. Les résultats constatés dans les dizaines de secondes qui suivent la mise à l'obscurité peuvent être compris à l'aide de l'expérience d'Arnon présentée par le document 1.



Doc. 2 L'expérience de Gaffron.

Des chlorelles sont cultivées dans un milieu où barbote de l'air enrichi en $^{14}\text{CO}_2$ (le taux de CO_2 est maintenu constant dans le milieu). La culture est placée à la lumière pendant 30 minutes, puis à l'obscurité.

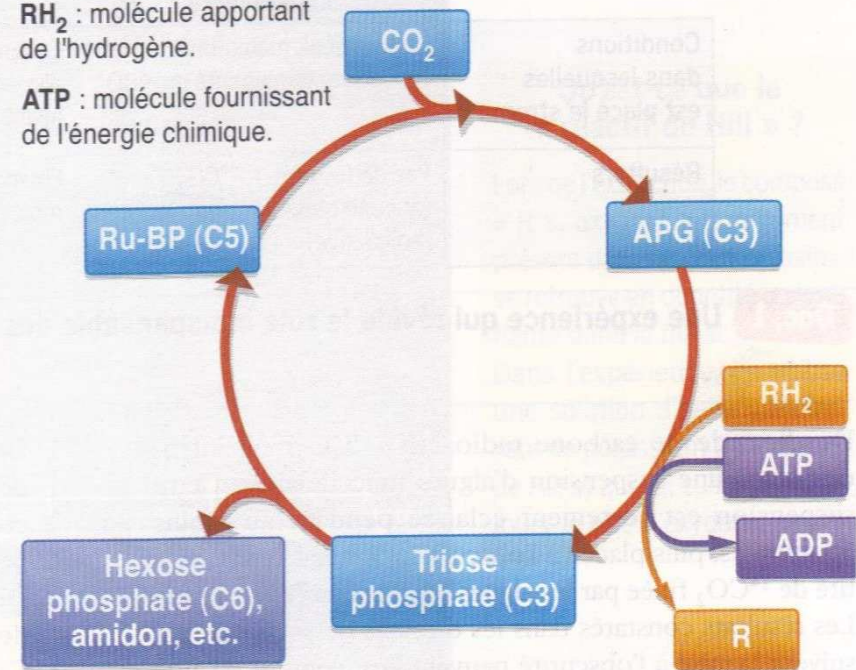
Des prélèvements effectués périodiquement permettent de mesurer la radioactivité de deux produits du cycle de Calvin, l'APG et le Ru-BP (voir page 19).



Doc. 3 Un couplage entre phase chimique et phase photochimique.

RH_2 : molécule apportant de l'hydrogène.

ATP : molécule fournissant de l'énergie chimique.

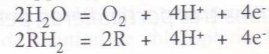


Les principales étapes du cycle établi par Calvin, Benson et Bassham.

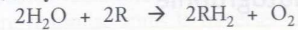
B L'expérience de Hill, une découverte capitale

■ L'HYPOTHÈSE DE HILL

En 1937, Hill émet l'hypothèse que la première étape de la photosynthèse est globalement une oxydoréduction entre l'eau et une substance oxydante, appelée ici « R » :



Cependant, d'après les valeurs des potentiels redox, l'oxydoréduction



est une réaction qui n'est pas spontanée : elle exige un apport d'énergie.

Hill émet l'hypothèse que c'est l'énergie lumineuse captée par la chlorophylle qui permet cette réaction.

■ PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

À l'aide d'un dispositif expérimental assisté par ordinateur, il est possible de réaliser une expérience similaire à celle réalisée par Hill.

• Extraction des chloroplastes

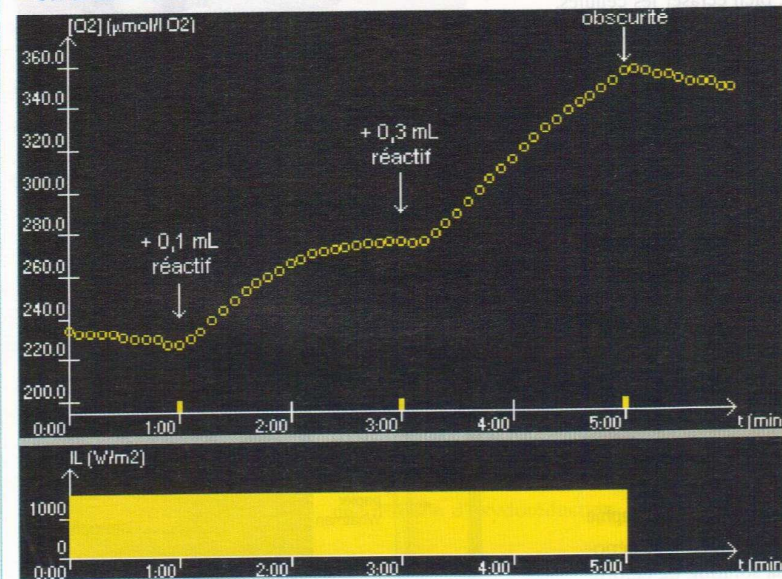
- Peser 10 g de feuilles fraîches d'épinard ou de lis, les découper en morceaux dans un mortier préalablement placé au réfrigérateur.
- Ajouter 10 à 25 mL de solution tampon* (destinée à maintenir le pH) et broyer pendant au moins 2 minutes.
- Filtrer le broyat obtenu, presser si nécessaire pour recueillir suffisamment de filtrat.
- Contrôler au microscope optique la présence de chloroplastes.

Remarque* : cette solution tampon ne contient pas de CO_2 . La réaction de Hill s'effectue sans apport de CO_2 .

• Réalisation de l'expérience

- Concevoir un protocole expérimental montrant que la production de dioxygène exige à la fois de la lumière et une substance oxydante, le « réactif de Hill ».

■ UN EXEMPLE DE RÉSULTATS OBTENUS



Qu'est-ce que le « réactif de Hill » ?

Lors de l'extraction, le composé « R », oxydant naturellement présent dans les chloroplastes, se retrouve en quantité insignifiante dans le filtrat. Dans l'expérience, on utilise une solution d'hexacyanoferrate de potassium (le « réactif de Hill ») qui est susceptible de jouer le rôle d'oxydant.

Doc. 4 Une expérience qui permet de comprendre le rôle de l'énergie lumineuse.

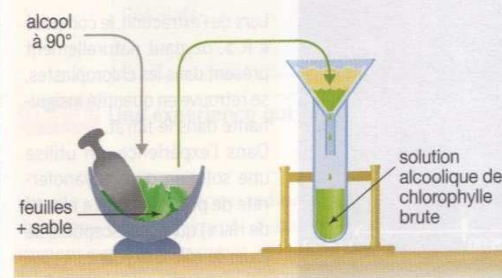
A La séparation des pigments chlorophylliens par chromatographie

Ce que l'on appelle couramment « chlorophylle » est en réalité un mélange d'un certain nombre de pigments (d'où la diversité de teintes des plantes dites « vertes »). L'objectif est ici d'extraire et de séparer les différents pigments contenus dans une feuille.

■ PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

• Extraction de la « chlorophylle brute »

- Découper en morceaux quelques feuilles bien vertes (épinard, lierre, bette, mâche...), puis broyer ces morceaux dans un mortier avec un peu de sable afin de bien écraser les cellules.
- Ajouter progressivement 10 mL d'alcool à 90°, ce qui solubilise les pigments chlorophylliens.
- Filtrer le contenu du mortier : on obtient une solution alcoolique des différents pigments photosynthétiques appelée « chlorophylle brute ».



• Séparation des différents pigments par chromatographie

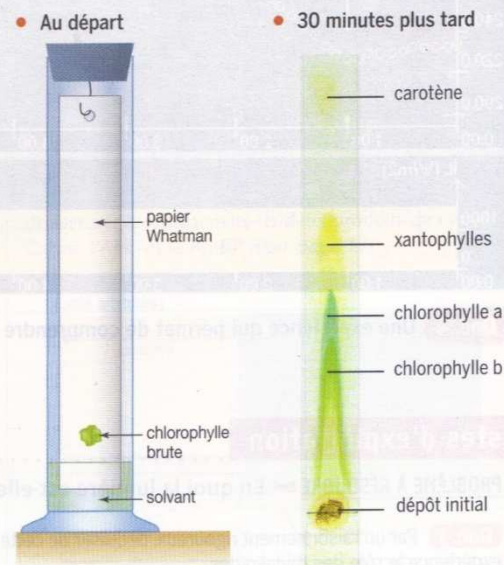
- Sur une bande de papier à chromatographie, déposer à 2 cm du bas une goutte de la solution de chlorophylle brute. Laisser sécher, puis superposer au même endroit jusqu'à 10 gouttes.
- Attention* à l'emplacement du dépôt : il devra se situer au-dessus du niveau du solvant.
- Verser environ 5 mL de solvant (le niveau devra se situer en dessous du dépôt de chlorophylle).
- Suspendre le papier à chromatographie dans l'éprouvette. Recouvrir d'un cache et laisser l'éprouvette dans l'obscurité pendant 15 à 30 minutes.

Remarque : une autre technique consiste à réaliser le dépôt en écrasant une feuille à l'aide d'un embout en verre.

■ RÉSULTATS OBTENUS



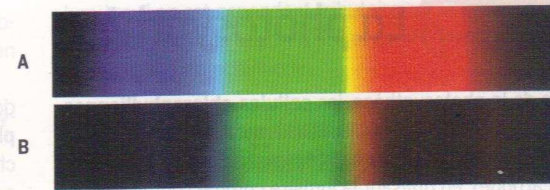
Solution de « chlorophylle brute » renfermant différents pigments



Chromatographie des pigments chlorophylliens

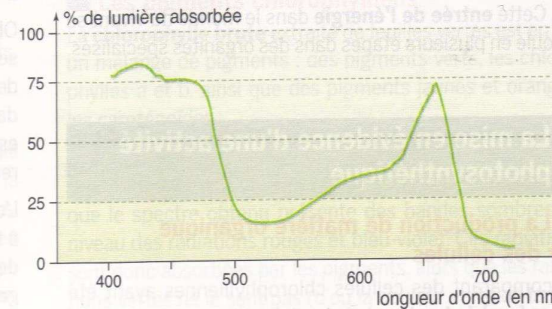
B L'absorption et la conversion de l'énergie lumineuse

- Un spectroscope contient un prisme décomposant la lumière en un **spectre** de radiations colorées que l'on peut observer par l'oculaire de l'appareil. Sur l'image ci-contre, le spectre A est celui de la lumière blanche et joue ici le rôle de « témoin ».

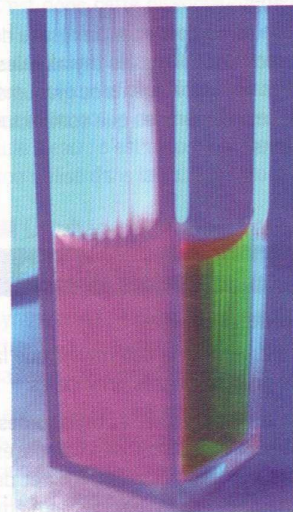


- Si, avant le prisme, on introduit un tube contenant un peu de solution de chlorophylle brute, on peut observer le spectre B.

- La spectrophotométrie permet de mesurer, pour différentes radiations lumineuses, la quantité de lumière transmise après la traversée de la solution de chlorophylle. Pour chaque valeur du spectre, la lumière transmise est reçue par un capteur puis convertie en signaux électriques. Le traitement de ces signaux permet de calculer, pour chaque longueur d'onde, le pourcentage de lumière absorbée. La traduction graphique du résultat constitue ce que l'on appelle le **spectre d'absorption** de la chlorophylle.



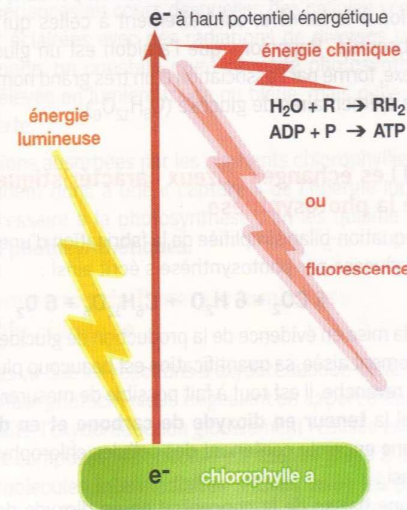
Doc. 2 Le spectre d'absorption de la chlorophylle brute.



La chlorophylle est une molécule fluorescente : immédiatement après avoir absorbé de la lumière, c'est-à-dire avoir capté un photon, elle peut restituer l'énergie absorbée en réémettant de la lumière.

La fluorescence de la chlorophylle est spectaculaire dans la mesure où les photons réémis correspondent à une longueur d'onde élevée, donc de couleur rouge, qui tranche avec la couleur verte du pigment.

Mais la chlorophylle a possède une propriété bien particulière : au lieu d'être restituée sous forme de lumière, l'énergie lumineuse absorbée peut être transférée à des électrons et permettre une réaction d'oxydoréduction.



Doc. 3 Le rôle fondamental de la chlorophylle a.

Les réactions de la photosynthèse se déroulent dans le chloroplaste

