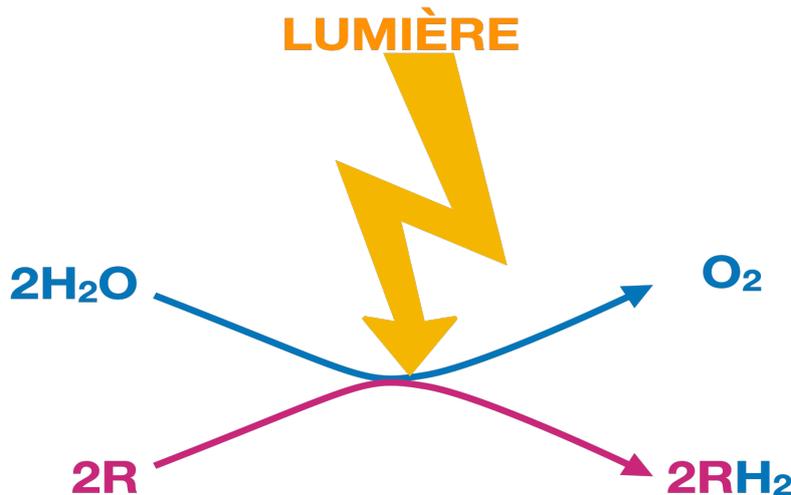


Ressources

La partie de la photosynthèse se déroule obligatoirement en présence de lumière est la **phase photochimique** et correspond à l'**oxydation de molécules d'eau** conduisant à la production de molécules d' O_2 . Elle est couplée à la **réduction d'une autre molécule** au sein des thylakoïdes.

Couplage de l'oxydation de l'eau et de la réduction d'une molécule au sein des chloroplastes (thylacoïdes) à la lumière :

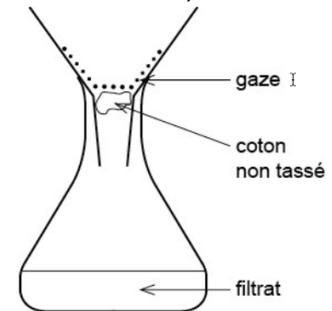


- R est l'oxydant : il passe de l'état oxydé (R) à l'état réduit (RH_2)
 - H_2O est le réducteur : il passe de l'état réduit à l'état oxydé
 Une molécule oxydante est une molécule qui accepte les électrons.
 Une molécule réductrice est une molécule qui libère/perd des électrons.

R. Hill utilise du ferrocyanure de potassium en envisageant que cette molécule peut jouer le rôle d'oxydant au cours de la photosynthèse.

Matériel disponible:
 - végétal chlorophyllien frais

Matériel envisageable :
 - de laboratoire (verrerie, instruments ...)



- d'observation (microscope, loupe binoculaire...)
 - d'expérimentation et de mesure (balance, chaîne ExAO...)
 - informatique et d'acquisition numérique

Etape A : Proposer une stratégie et mettre en œuvre un protocole (durée recommandée : 40 minutes)

Proposer une stratégie de résolution réaliste permettant de déterminer si le CO_2 est le composé réduit lors de l'oxydation de l'eau.

Mettre en œuvre le protocole ExAO afin de montrer que, dans une suspension de fragments de chloroplastes éclairés et malgré la présence de CO_2 , un oxydant intermédiaire (le réactif de Hill) est nécessaire pour que la réaction d'oxydation de l'eau ait lieu.

Matériel détaillé disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel:

- des végétaux chlorophylliens frais
- des ciseaux, un mortier contenant du sable, et un pilon
- solution tampon (pH 6,5)
- un entonnoir avec coton, + béchers, glaçons et papier d'aluminium
- une chaîne d'acquisition ExAO comprenant une sonde à O₂ et un logiciel d'acquisition avec sa fiche technique
- une lampe
- une pipette munie de la propipette
- une seringue de 1mL et de 20 mL
- du papier absorbant
- un oxydant = réactif de Hill



- des gants et une blouse



Etape 1 : préparation de la solution de chloroplastes

- Découper 10g de feuilles d'épinard (sans les nervures) en petits morceaux et les déposer dans le mortier sorti du réfrigérateur.
- Ajouter un peu de sable, puis verser 3 mL de solution et broyer.
- En poursuivant le broyage, ajouter progressivement 20mL de solution tampon phosphate. Le broyage doit être réalisé avec modération pendant au moins 2 minutes.
- Filtrer dans un entonnoir pourvu de coton, disposé au-dessus du bécher lui-même installé dans la glace.
- Conserver la suspension de chloroplastes ainsi obtenue à l'obscurité et au froid (bécher conservé dans la glace et refermé avec du papier d'aluminium) jusqu'au moment de la mesure.

Remarque : le broyage des feuilles a pour effet de détruire les cellules et ainsi « libérer » les chloroplastes. Les molécules R qui assurent naturellement le rôle d'oxydant dans les chloroplastes sont rapidement détruites et donc absentes de la solution de chloroplastes.

Etape 2 : Réalisation des mesures de concentration d'O₂

Vous rechercherez si la solution de chloroplastes dégage de l'O₂ dans les conditions suivantes :

- à l'obscurité: pendant 3 minutes (de t = 0 à t = 3 min)
- à la lumière: pendant 3 minutes (de t = 3 min à t = 6 min)
- à la lumière, en présence d'un oxydant fort (réactif de Hill) : pendant 3 minutes (de t = 6 min à t = 9 min)
- à l'obscurité, en présence d'un oxydant fort: pendant 3 minutes (de t = 9 min à t = 12 min)

Protocole à suivre :

- Préparer la petite seringue d'injection en la remplissant de 1 mL de Réactif de Hill – veiller à éliminer des éventuelles bulles d'air qui apporteraient de l'O₂ dans la solution !
- Remplir le bio-réacteur avec environ 12 ml de votre solution de chloroplastes (à prélever avec la pipette munie d'une propipette)
- Remplir l'enceinte thermostatique (qui entoure la cuve du bioréacteur) avec de l'eau froide
- Vérifier l'installation correcte du capteur (oxymètre) sur le couvercle de l'enceinte
- Préparer le dispositif d'éclairage et paramétrer, sur le logiciel, l'expérience sur 12 minutes
- Mettre l'agitateur en fonction et attendre l'homogénéisation de la suspension par l'agitateur
- Lancer les mesures en respectant les conditions des 4 étapes indiquées au-dessus

Etape B : Communiquer et exploiter les résultats pour répondre au problème (durée recommandée : 20 min)

Sous la forme de votre choix, **présenter et traiter les données brutes** pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.

Exploiter les résultats pour déterminer si le CO₂ est le composé qui est réduit lors de l'oxydation de l'eau au cours de la phase photochimique.

II- Les produits de la photosynthèse

À l'issue de la photosynthèse, de très nombreuses molécules de types variés sont produites à partir de selon les besoins de la plante.

Problème : Quelles sont les molécules produites à partir de la photosynthèse et leur rôle chez les plantes.

Objectifs :

- ➔ Faire des préparations et des observations microscopique
- ➔ Interpréter des résultats, en tirer des conclusions



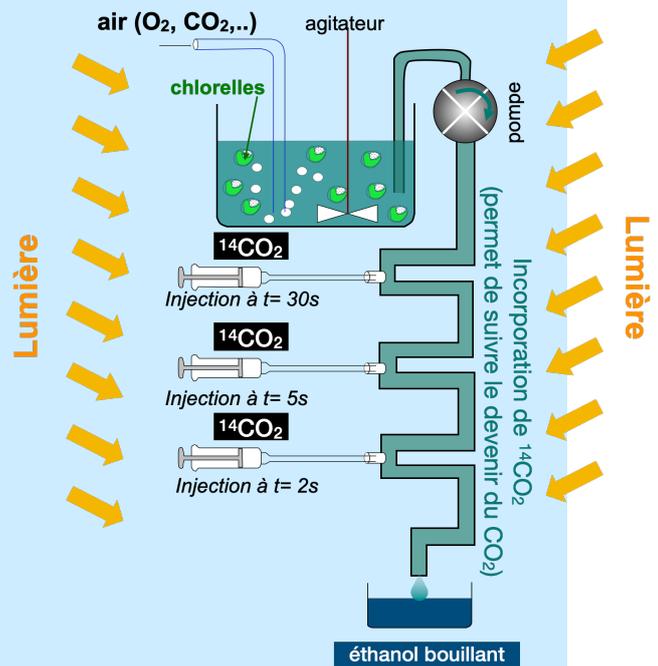
A) LES EXPERIENCES DE CALVIN ET BENSON (1962) (A faire à la maison)

Calvin et Benson ont créé une expérience pour déterminer dans quelles molécules le CO_2 est incorporé lors de la photosynthèse.

Pour cela, 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.

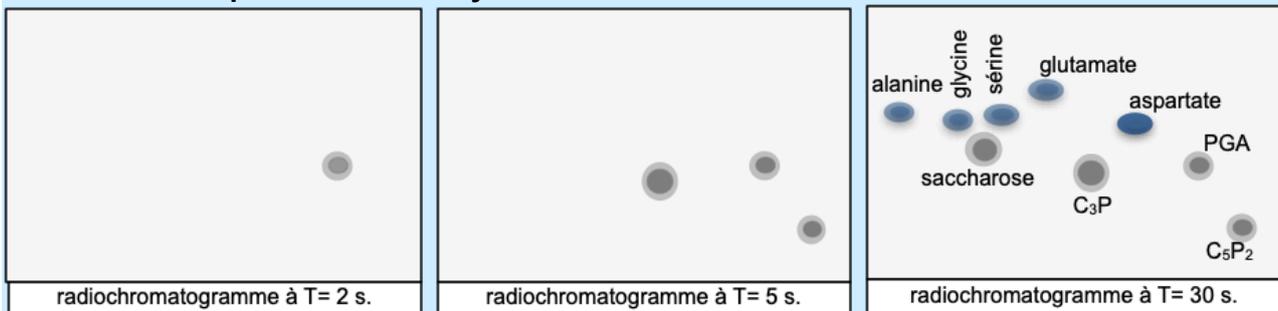
Par chromatographie bidimensionnelle (séparation des molécules) puis autoradiographie (détection de la radioactivité), Calvin et Benson déterminent les molécules organiques qui ont incorporé le ^{14}C en fonction du temps de mise en présence des algues avec le dioxyde de carbone radioactif. Ils reconstituent ainsi le cycle d'incorporation du CO_2 dans les molécules organiques (appelé cycle de Calvin).



Mort instantanée des cellules

Dispositif expérimental de Calvin & A

Schémas des résultats de chromatographies après 2 , 5 et 30 secondes en présence de dioxyde de carbone radioactif.



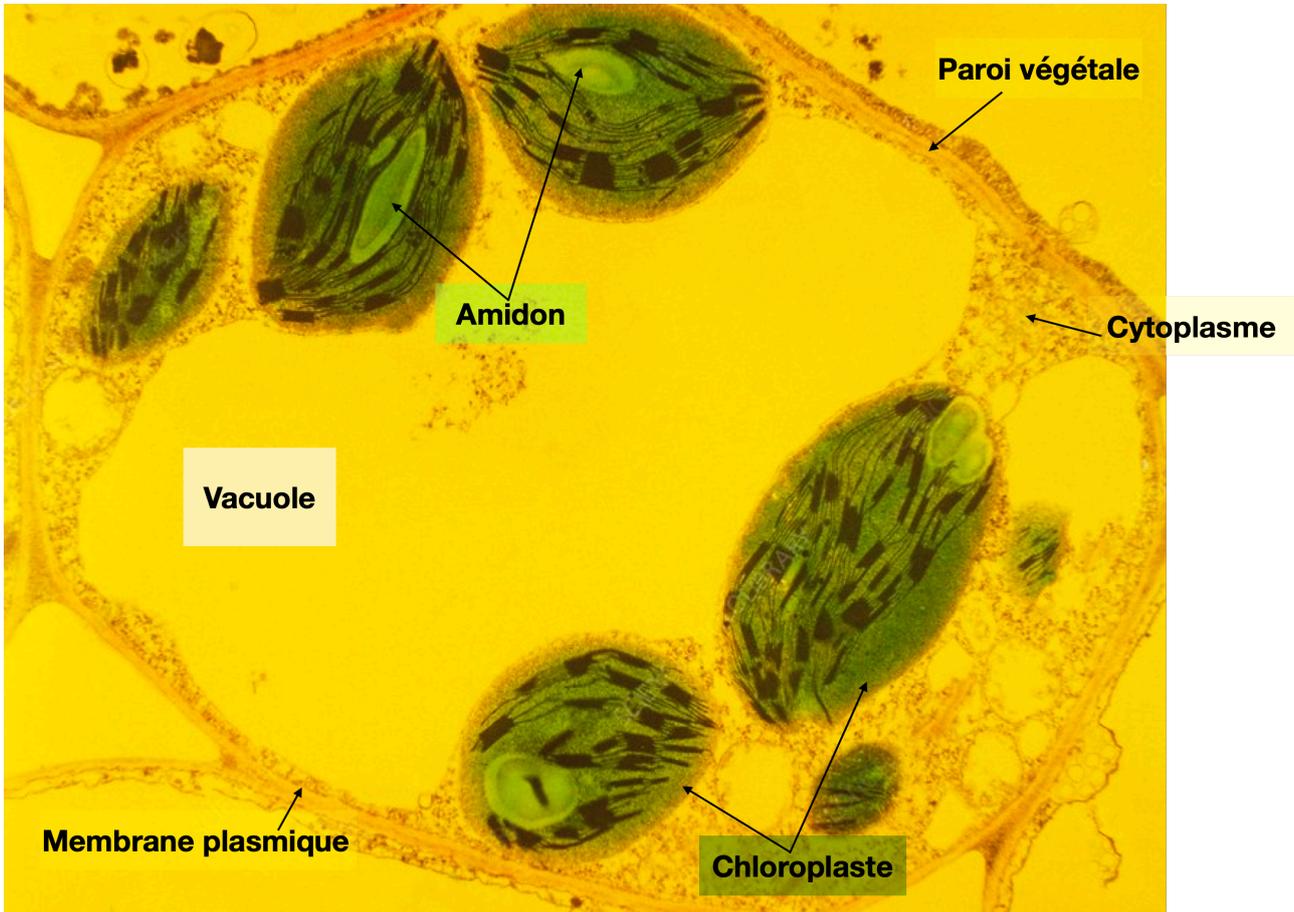
C_5P_2 = ose diP = ribulose bisphosphate ; C_3P = trioseP = triose phosphate ; PGA = (APG) = acide phospho-glycérique

- 1) Déterminer les molécules produites dans les premières secondes de la photosynthèse puis au bout de 30 secondes.
- 2) Déterminer à quel type de molécules elles appartiennent et à quoi elles peuvent servir.

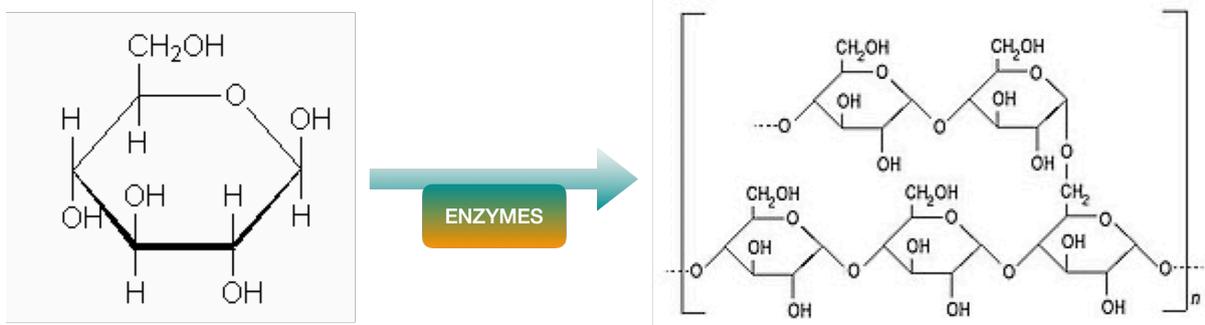
B) Mise en évidence de quelques molécules issues de la photosynthèse

1- L'amidon : Se nourrir et constituer des réserves

À l'intérieur même du chloroplaste, les composés glucidiques peuvent servir à la synthèse et au stockage d'amidon. C'est un polymère constitué de molécules de glucose reliées entre elles grâce à des enzymes contenues dans le chloroplaste. Ce stockage sous forme de grain d'amidon dans le chloroplaste est temporaire. Il sert à l'obtention de fructose et de glucose, sucres à l'origine du saccharose stocké dans la vacuole.



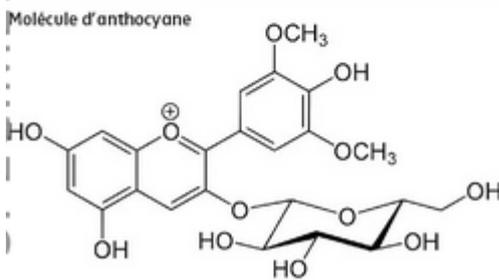
Si la cellule a assez d'énergie, l'amidon peut être stocké à plus long terme dans des organites appelés amyloplastes dans les graines, les fruits, les organes de réserve (tubercules, bulbes, rhizomes).



- 1) Mettre en œuvre le protocole de coloration de l'amidon sur les chloroplastes d'une feuille d'élodée et un organe de réserve : la pomme de terre.
- 2) Observer les grains d'amidons et les amyloplastes.
- 3) Prendre des photos et les légenter.

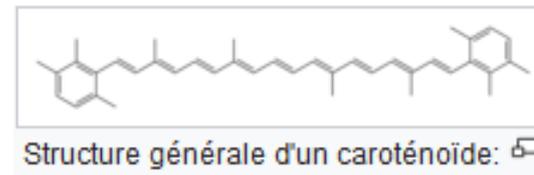
2- Les pigments (non chlorophylliens) : Attirer d'autres êtres vivants

Une autre partie des molécules mises en évidence par Calvin et Benson sert de point de départ à l'ensemble des biosynthèses cellulaires qui nécessitent des chaînes carbonées. En effet, le carbone organique obtenu par photosynthèse est à la base de toutes les molécules biologiques.



Les anthocyanes sont contenues dans les vacuoles des cellules des pétales de fleurs. Elles sont responsables des couleurs rouges à mauves et servent à attirer les insectes pollinisateurs ce qui favorise la dispersion du pollen et la fécondation entre individus (fécondation croisée).

Le changement de couleur lors du mûrissement des fruits de tomates et de poivrons résulte d'une transformation des chloroplastes en chromoplastes dans les cellules du fruit. Les chromoplastes sont des organites très riches en **caroténoïdes** de couleur jaune, orange ou rouge. En favorisant la coloration des fruits, ils attirent les animaux et participent ainsi à la dissémination des semences quand les fruits sont consommés.



- 1) Mettre en œuvre le protocole d'observation des cellules des pétales et de la peau de poivron rouge.
- 2) Observer les vacuoles et les chromoplastes.
- 3) Prendre des photos et les légènder.
- 4) Construire un tableau récapitulatif p 8, **après avoir fait les exercices à faire la maison.**

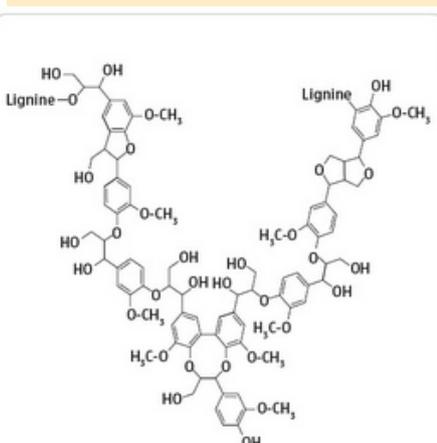
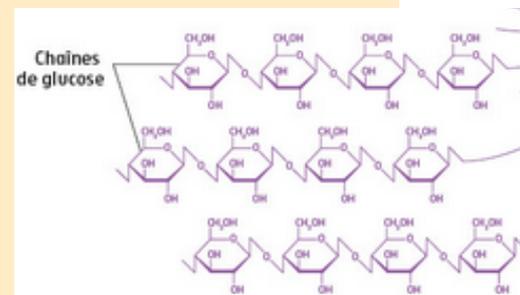
Molécule issu de la photosynthèse	Localisation (dans la plante, dans la cellule)	Rôle

3- La cellulose et la lignine : Croissance et soutien (à faire à la maison)

=> Compléter votre tableau récapitulatif à l'aide des informations suivantes :

Dans les zones en croissance, le saccharose exporté sert également à la synthèse des parois cellulotiques et du bois.

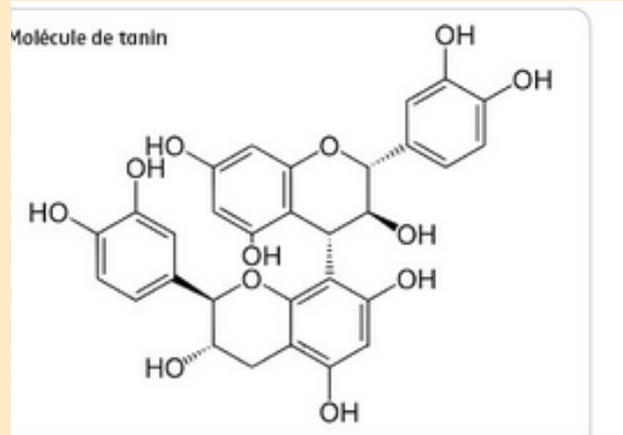
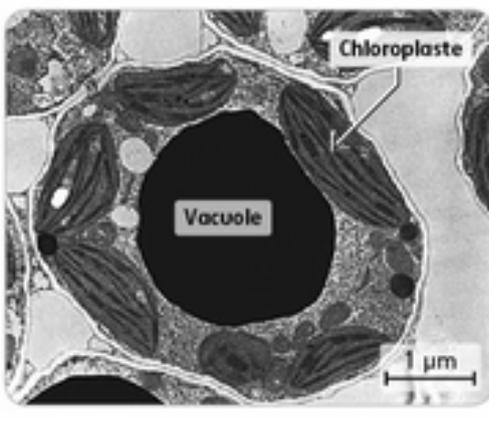
La cellulose est composée de molécules de glucose reliées entre elles par les liaisons particulières, différentes des molécules d'amidon. Elle est la molécule constitutive des parois des cellules végétales. Cette molécules est produite par une enzyme enchassée dans la membrane plasmique des cellules appelée la cellulose synthase.



La lignine est une molécule produite à partir de la phénylalanine, un acide aminé produit essentiellement dans les chloroplastes. Les cellules du xylème produisent cette molécule au niveau de leur paroi grâce à une suite de réactions enzymatiques complexe ce qui lui confère des propriétés imperméables et rigides. Ainsi cette molécule joue un rôle important dans le port de la plante. Le bois des arbres est essentiellement composé de cette molécule.

Remarque : Le protocole de mise en évidence de ces molécules est la coloration de coupes végétales au carmin-vert d'iode réalisées précédemment.

4. Les tanins : Lutte contre les prédateurs (à faire à la maison)



Photographie au microscope électronique d'une cellule de feuille de sensitive *Mimosa pudica*.

Les tanins opaques aux électrons paraissent en noir et remplissent la vacuole centrale de la cellule.

- A l'aide de l'ensemble des documents suivants, expliquer le rôle des tanins chez la sensitive et la surmortalité des koudous constatée dans les parcs sud-africains (puis compléter votre tableau récapitulatif.)
- Emettre une hypothèse sur la forte teneur en tanins de feuilles de plants non broutés et proposer un protocole expérimental pour la valider.

Document 1 : Koudous se nourrissant de feuilles d'*Acacia* :



Les koudous sont de robustes gazelles qui se nourrissent de feuilles de l'*Acacia caffra*, un arbre des savanes d'Afrique du Sud.

L'*Acacia* est un arbre avec des ramures couvertes d'épines acérées possédant des racines profondes pour forer le sol jusqu'aux ressources en eau. Lorsqu'un koudou affamé s'approche d'un acacia et commence à en brouter les feuilles, tout va bien pour lui au début ; il mange pendant quelques minutes, puis, bien avant d'être rassasié, il se détourne de

l'acacia, se dirige vers un autre acacia appartenant à la même espèce et continue de s'alimenter. Si les koudous ne sont pas plus nombreux que 3 pour 100 hectares, les deux partenaires coexistent. Dans des conditions de vie sauvage, les acacias produisent des tanins (molécules au goût amer) qui entravent la digestion des herbivores, mais cependant à des doses qui dissuadent seulement les prédateurs sans entraîner leur mort. Ces acacias émettent également des fortes quantités d'éthylène, un gaz volatil, qui se répand dans leur environnement et peut être détecté par les acacias voisins.

Document 2 :

Dans les années 1980, les fermiers ont découpé dans la savane des ranchs de dimensions variées, clôturés avec du barbelé. Très vite les premiers koudous décédés ont été signalés, leur état semblait inexplicable ; pas de plaies, aucune trace de parasites, ils étaient excessivement maigres et visiblement morts de faim. Le nombre de koudous décédés était proportionnel à leur densité.

Pour comprendre ces morts mystérieuses, les fermiers font appel au professeur VAN Hoven, de l'université de Pretoria. L'autopsie révélait que les koudous avaient la panse (première poche de l'estomac des ruminants) pleine de feuilles d'acacia. Le taux de tanins de ces feuilles était 3 à 4 fois supérieur à celui des feuilles d'acacias non soumis à la prédation.

VAN Hoven et ses étudiants reproduisent la prédation des koudous sur des acacias sur une durée de 2 à 3 heures ils prélèvent des feuilles toutes les ½ heures et analysent le taux de tanins.

Temps depuis le début de l'expérience	0h	1/2h	1h	1h30	2h	2h30	3h
Taux de tanins	Faible +	++	+++	++++	+++++	+++++	+++++

Document 3 :

D'autre part, en prélevant des feuilles sur des arbres d'acacia voisins non endommagés, les scientifiques observent que ces feuilles contiennent elles aussi plus de tanins au bout de 2 ou 3h, alors que ces arbres n'ont pas subi de prédation.

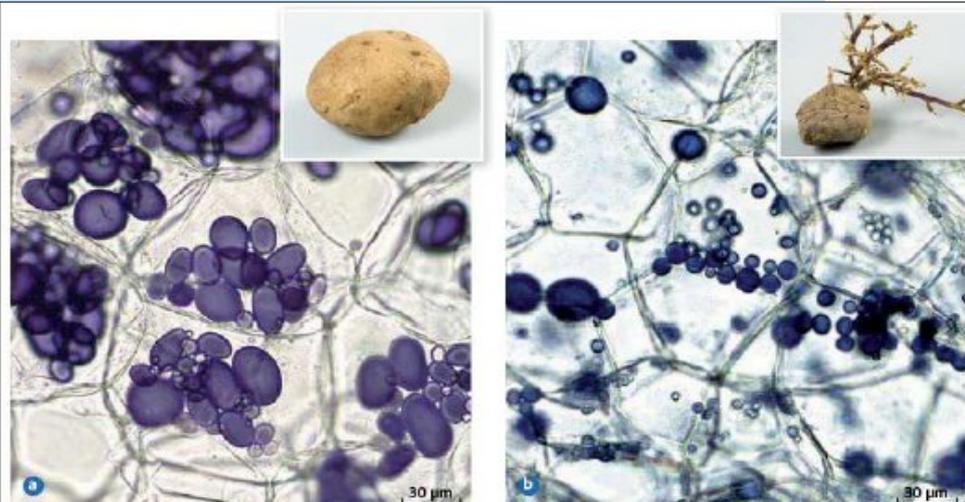
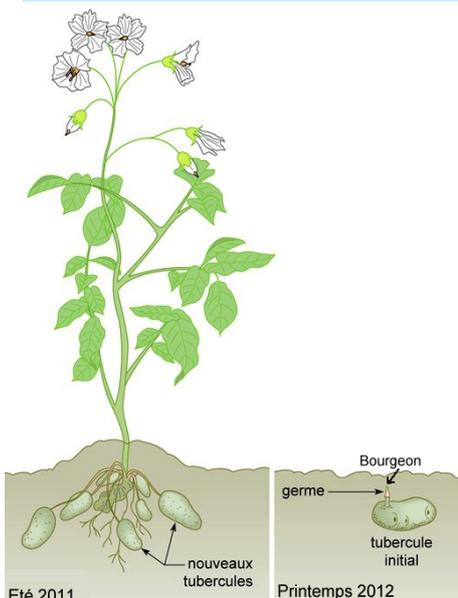
Exercice complémentaire : Lutte contre la mauvaise saison (à faire à la maison)

Les plantes sont fixées au sol et ne peuvent pas se déplacer selon les conditions de l'environnement. Ainsi, certaines espèces ont adopté des modes de vie leur permettant de survivre à des conditions devenant défavorables à certaines saisons.

C'est le cas de la **pomme de terre** : l'appareil aérien meurt à la fin de l'été mais des tubercules, formés pendant l'été, restent dans le sol. Les bourgeons des tubercules sont dormants durant l'hiver, c'est à dire incapables de germer, ils ne pourront le faire que lorsque la dormance sera levée au printemps.

A l'aide de l'ensemble de document suivant, expliquer les mécanismes contrôlant le stockage de l'amidon, et la mise en dormance des tubercules de pomme de terre nécessaires à sa survie en hiver.

Document 1 : Organisation d'un plant de pomme de terre et observation des cellules du tubercule avant ou après germination



Observation de cellules de tubercule de pomme de terre avant (a) et après germination (b). Coloration à l'eau iodée (amidon). Observation au microscope photonique.

Document 2 : Tableau des quantités relatives d'enzymes au sein des amyloplastes du tubercule de pomme de terre.

L'amyloplaste désigne un organe spécifique des cellules végétales. C'est un plaste qui s'est spécialisé dans le stockage de l'amidon. Il est présent en particulier dans les cellules des organes de réserves, comme les tiges souterraines hypertrophiées (tubercules) de pomme de

Enzymes	Période de formation du tubercule	Période de germination
Amidon Synthétase	+++	+
Glucosidase	+	+++

terre.

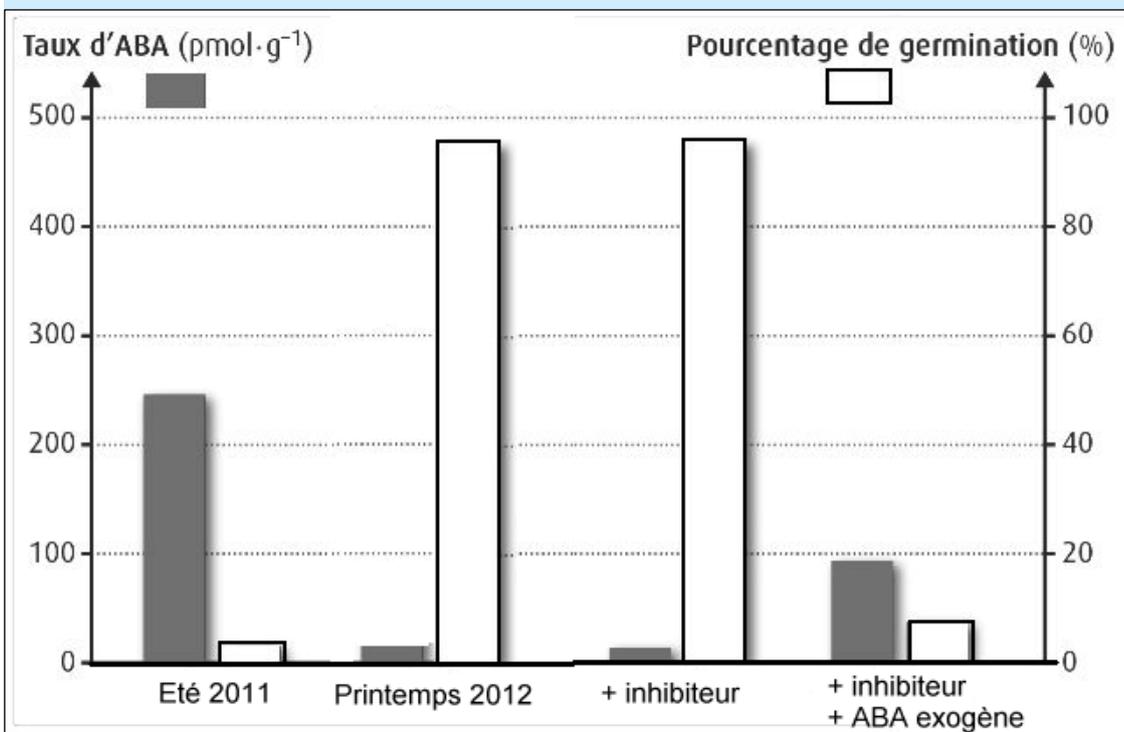
Le nombre de (+) indique une quantité plus importante. L'amidon synthétase est une enzyme intervenant dans la production d'amidon à partir de glucose. La glucosidase est une enzyme intervenant dans la libération de glucose à partir de l'amidon.

Document 3 : Taux d'ABA et germination de tubercules de pomme de terre dans différentes conditions expérimentales.

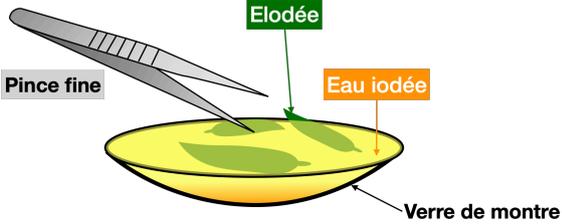
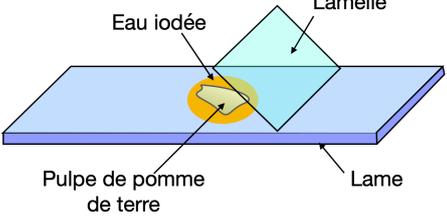
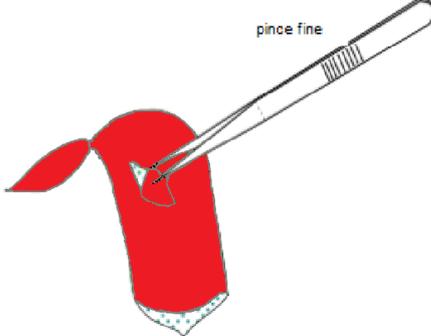
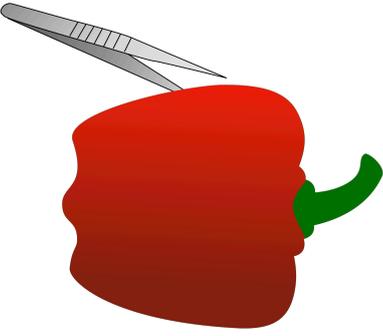
- En conditions naturelles fin été 2011 ou printemps 2012
- Traité avec un inhibiteur de la synthèse de l'ABA (qui empêche la synthèse),
- Traité avec un inhibiteur de la synthèse de l'ABA + de l'ABA exogène (non synthétisée par la plante).

L'ABA est une substance produite par la plante, véhiculée par la sève, qui agit à distance de son lieu de synthèse (= phytohormone).

Ci-dessous les résultats au bout de 9 semaines de traitements :



Protocoles de mise en évidence de certains produits de la photosynthèse

1. Se nourrir : les chloroplastes	2. Constituer des réserves : les tubercules
<ul style="list-style-type: none"> - Prélever une feuille d'élodée. - La recouvrir d'eau iodée dans un verre de montre pendant 30 min <div style="text-align: center; margin: 10px 0;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> - Placer la feuille entière dans une goutte d'eau entre lame et lamelle et observer au microscope - Prendre une photo puis la légender <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">  </div>	<ul style="list-style-type: none"> - Gratter la pulpe d'une pomme de terre <div style="text-align: center; margin: 10px 0;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> - Déposer dans une goutte d'eau iodée sur une lame <div style="text-align: center; margin: 10px 0;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> - Recouvrir d'une lamelle et observer au microscope - Prendre une photo puis la légender <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">  </div>
3. Attirer d'autres êtres vivants : les fleurs	4. Attirer d'autres êtres vivants : les fruits
<ul style="list-style-type: none"> - Prélever l'épiderme d'une face inférieure de pétale <div style="text-align: center; margin: 10px 0;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> - Placer dans une goutte d'eau entre lame et lamelle et observer au microscope - Prendre une photo puis la légender <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">  </div>	<ul style="list-style-type: none"> - Prélever l'épiderme d'un poivron rouge <div style="text-align: center; margin: 10px 0;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> - Placer dans une goutte d'eau entre lame et lamelle et observer au microscope - Prendre une photo puis la légender <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">  </div>