

TP n° 15 : Le chloroplaste : organite clé de la photosynthèse
---

- Objectif de connaissance :
  - On cherche à connaître les caractéristiques des pigments chlorophylliens et vérifier que ces pigments interviennent dans la photosynthèse.
- Objectifs méthodologiques :
  - Réaliser une manipulation d'après un protocole.
  - Traduire des informations par un schéma.
  - Adopter une démarche explicative.
- Travail à réaliser :

Partie 1 : Diversité des pigments chlorophylliens

- Réalisez une chromatographie permettant de séparer les différents pigments d'une feuille verte afin de les identifier.

Partie 2 : Absorption de lumière et photosynthèse

- Montrez que les pigments chlorophylliens interviennent dans la photosynthèse.

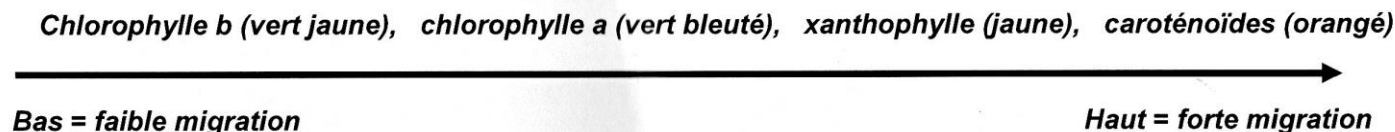
Productions attendues	Critères de réussites
Réalisation de la chromatographie.	Suivre le protocole fourni : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Le niveau de solvant doit-être au-dessous du dépôt</li> <li>- Dépôt soigné, petit, foncé</li> </ul> Utilisation maîtrisée du matériel. Chromatogramme exploitable.
Présentation des résultats sous forme de schéma.	Représentation conforme aux résultats. Légendes exactes et complètes des chromatographies, titre pertinent et adapté.
Comparaison du spectre d'absorption de la lumière blanche et d'une solution d'euglène. Présentation des résultats sous forme de schéma.	Les spectres d'absorption sont schématisés et fidèle à l'observation.
Réalisation de la manipulation permettant de déterminer quelles sont les radiations lumineuses efficaces pour la photosynthèse.	Respect des différentes étapes du protocole. Utilisation maitrisée du matériel. Respect des conditions de mesures. Organisation de la paillasse et rangement du matériel en fin de manipulation.
Résultats de la manipulation sous forme de graphique.	Enregistrement exploitable avec échelles adaptées pour les axes. Graphique correctement légendé et titré.
Paragraphe argumenté.	Exploitation des résultats obtenus afin de répondre au problème posé.

Document 1 : La diversité des pigments chlorophylliens

Les pigments des chloroplastes sont contenus dans les membranes des thylakoïdes. Leur extraction et leur séparation nécessitent un traitement particulier qui permet l'éclatement des chloroplastes.

## 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 :



## PROTOCOLE DE LA CHROMATOGRAPHIE

1. **Préparer** l'éprouvette : **en veillant à prendre le papier uniquement par les bords** pour éviter de poser les doigts sur la zone de migration, **suspendre** le papier à chromatographie à l'aide d'un crochet fixé sur un bouchon, le **placer** dans l'éprouvette pour repérer le niveau de solvant à mettre (le papier devra tremper d'un demi-cm dans le solvant).
2. **Retirer** le papier, **verser** précautionneusement le solvant (en évitant tout contact avec la peau et les yeux) jusqu'au niveau repéré et **fermer** les éprouvettes sans le papier.
3. **Tracer** un trait au crayon au bas de la bande de papier pour marquer l'emplacement du dépôt.
4. La tâche de pigments doit être aussi petite et foncée que possible. Pour cela : **déposer**, à l'aide d'un capillaire, plusieurs gouttes de solution de chlorophylle brute (jusqu'à 10) et laissé sécher entre chaque goutte, sur le même emplacement.
5. **Suspendre** le papier Whatman dans l'éprouvette en vérifiant que le dépôt de pigments est bien situé au-dessus du niveau du solvant et **fermer**.
6. **Recouvrir** l'éprouvette d'un cache noir et laisser migrer le solvant à l'obscurité pendant 30 minutes.
7. **Laisser sécher** à l'air libre.

Document 2 : Obtention d'un spectre d'absorption

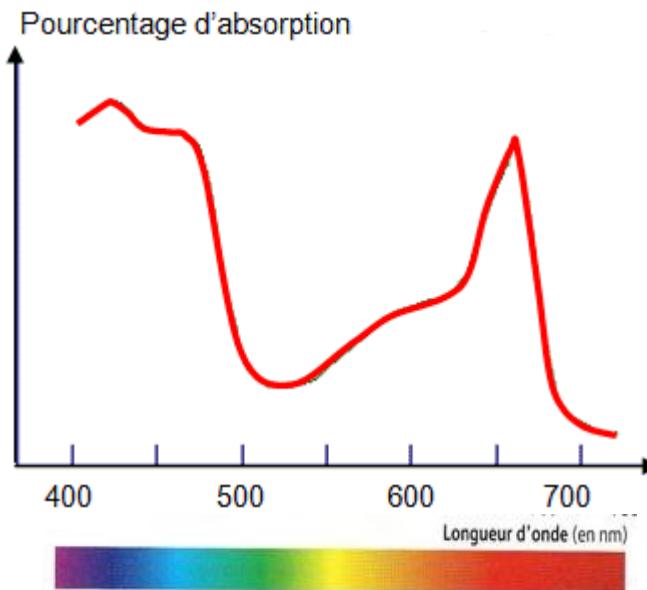
Les différentes radiations qui composent la lumière blanche peuvent être séparées en intercalant un prisme sur le trajet du faisceau lumineux. Dans un spectroscope à main, on peut placer une solution de chlorophylle brute sur le trajet de la lumière et observer les radiations absorbées par cette solution.

## UTILISATION DU SPECTROSCOPE

1. **Observer** dans un premier temps le spectre d'absorption en vous plaçant face à la lumière et en regardant dans l'oculaire. Le spectre doit apparaître en entier, **sinon bouger** le spectroscope en direction de la lumière.
2. **Mettre** la solution de chlorophylle dans le petit tube à l'aide du compte-goutte.
3. **Placer** le tube dans le portoir (logement sur l'instrument) à l'opposé de l'oculaire.
4. **Observer** à nouveau le spectre.

Document 3 : Spectre d'absorption des pigments chlorophylliens

Des études plus approfondies permettent de mesurer le pourcentage de lumière absorbée par les différents pigments pour chaque longueur d'onde. On établit ainsi le spectre d'absorption des différents pigments photosynthétiques.



#### Document 4 : Le spectre d'action de la photosynthèse

##### **Principe :**

Pour déterminer quelles sont les radiations lumineuses efficaces pour la photosynthèse, on va éclairer des végétaux chlorophylliens avec des lumières colorées (correspondant donc à différentes longueur d'onde) et enregistrer l'évolution de la concentration en O<sub>2</sub> du milieu dans lequel se trouvent ces végétaux.

On va travailler avec des Euglènes (organismes unicellulaire photosynthétiques) dont une suspension sera éclairée par une source de lumière dont on peut faire varier la couleur d'émission.

On admettra que la puissance lumineuse émise pour chaque couleur est la même.

Les mesures se font par une sonde oxymétrique reliée à une console enregistrant les variations de concentration en O<sub>2</sub> : la vitesse de libération d'O<sub>2</sub> donnera la mesure de l'intensité de la photosynthèse.

##### **Protocole :**

###### **Réglage et paramétrage de la console.**

Sur l'onglet « cadran » (le plus à gauche) cliquer sur « mode ».

Dans la fenêtre qui s'ouvre, laisser le mode « Basé sur le temps »

Taux : 20 mesures/mi

Durée : 25 min

###### **Mise en place du montage.**

Verser 10mL de suspension d'Euglènes dans le bioréacteur + 2 mL de solution saturée de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (source de CO<sub>2</sub> pour les euglènes).

Mettre en place la sonde oxymétrique et l'agitateur magnétique.

Allumer la source lumineuse en commençant par la lumière blanche.

Lancer les mesures.

Toutes les 5 minutes, sans interrompre les mesures, changer la couleur de la source lumineuse en respectant l'ordre suivant : **Blanche, Obscurité, bleu, vert, rouge.**

###### **Récupération et traitement des mesures.**

Sur poste informatique, lancer « Logger Pro »

Connecter la console à l'ordinateur par un cordon USB

Dans la fenêtre qui s'ouvre, cliquer sur « Oui ».

Dans la nouvelle fenêtre cocher ensuite sur les options suivantes :

« Importer les données dans la session actuelle » et

« Lab Quest : rendre les données disponibles pour plusieurs récupérations ».

Une fois la récupération effectuée, sélectionner le fenêtre du graphe.

Dans le menu « Options », choisir « Options Graphe »

Cocher « Relier les points ».

*Vous pouvez aussi éventuellement choisir d'autres options qui vous paraissent pertinentes.*

###### **Calcul de vitesse de dégagement d'O<sub>2</sub>.**

Sélectionner avec la souris la portion de courbe dont vous voulez faire l'étude

Cliquer sur le bouton « Régression linéaire ».