

Sommaire

VII- Les réactions de la phase thermochimique « sombre »

7-1/ Dépendance des deux phases de la photosynthèse

7-2/ Devenir du CO_2 absorbé par les plantes chlorophylliennes

7-3/ Mécanismes d'incorporation du CO_2 dans les substances organiques

7-4/ Réactions de la phase biochimique (Sombre)

VII- Les réactions de la phase biochimique « sombre »

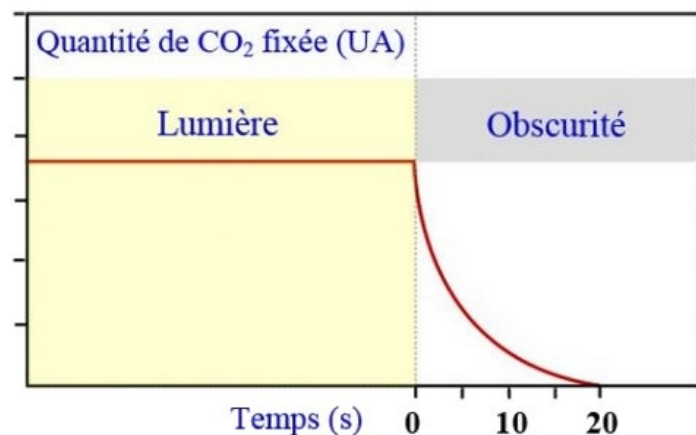
7-1/ Dépendance des deux phases de la photosynthèse

Expérience de Gaffron (1951)

Du dioxyde de carbone radioactif ($^{14}CO_2$) est fourni à une suspension d'algues verte unicellulaires (chlorelles) fortement éclairée pendant au moins 20 min puis mise à l'obscurité.

On mesure la quantité de molécules organiques élaborées à partir du $^{14}CO_2$ par les algues au cours de l'expérience.

Le résultat de cette expérience est présenté par la figure suivante :



La fixation de CO_2 dans des molécules organiques :

- Diminue puis cesse au bout de 20 secondes à l'obscurité : elle dépend de la lumière.

- Elle se maintient durant 20 secondes : la dépendance à la lumière n'est pas directe.

VII- Les réactions de la phase biochimique « sombre »

Expérience d'Arnon (1958)

Les expériences sont réalisées sur des fragments de chloroplastes séparés en deux fractions :

- Une fraction constituée uniquement de thylakoïdes exposés à la lumière,
- Une fraction liquide provenant du stroma et laissée à l'obscurité.

On mesure la quantité de CO_2 fixée dans le stroma en coups/min.

Le résultat de cette expérience est présenté par le tableau suivant :

Conditions expérimentales	Radioactivité (en coups/min)
Stroma laissé à l'obscurité en présence de CO_2 radioactif.	4 000
Thylakoïdes laissés à la lumière, puis mis à l'obscurité en présence de stroma toujours laissé à l'obscurité, avec du CO_2 radioactif.	96 000
Stroma laissé à l'obscurité en présence de CO_2 radioactif, d'ATP et de $NADPH$, H^+ .	97 000

Observations

Dans le stroma à l'obscurité la fixation de CO_2 est réduite.

Dans le stroma à l'obscurité + thylakoïdes ayant été éclairés la fixation de CO_2 est importante, les thylakoïdes éclairés fournissent au stroma des éléments permettant la fixation du CO_2 .

Dans le stroma à l'obscurité + ATP et $NADPH$, H^+ , la fixation de CO_2 est importante, les éléments fournis par les thylakoïdes peuvent être ATP et $NADPH$, H^+ .

Conclusion

La fixation du CO_2 dans des molécules organiques se fait dans le stroma à partir d'ATP et de $NADPH$, H^+ produits par les thylakoïdes éclairés (phase photochimique).

VII- Les réactions de la phase biochimique « sombre »

7-2/ Devenir du CO_2 absorbé par les plantes chlorophylliennes

Expérience de Calvin et Benson (1962)

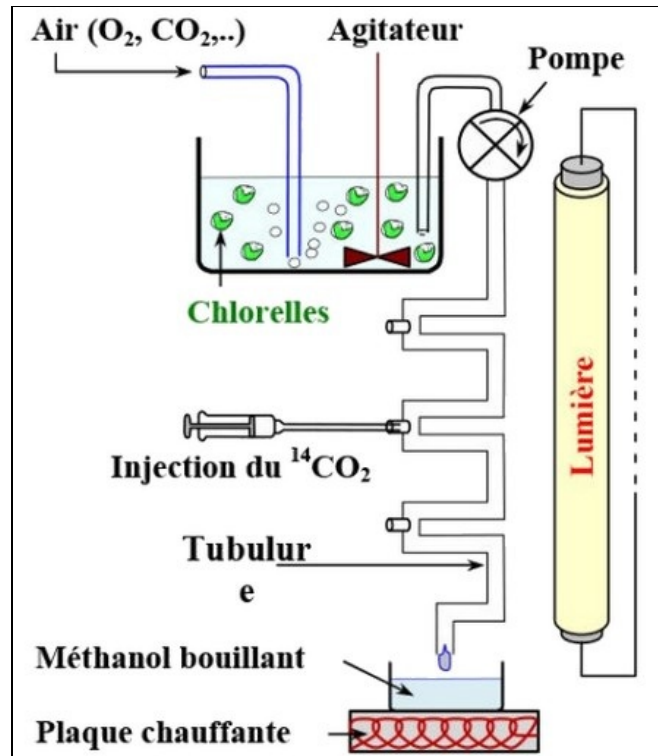
Pour connaître la nature des premiers composés organiques fabriqués au cours de la photosynthèse,

Calvin et ses collaborateurs ont réalisé les expériences suivantes :

On met des chlorelles dans un milieu riche en CO_2 et bien éclairé.

Une pompe permet de propulser la suspension dans un tube fin.

Dans ce tube, on peut injecter à chaque moment, et en des points différents, du CO_2 radioactif marqué au ^{14}C .



Après avoir traversé le tube, les chlorelles finissent dans du méthanol bouillant; ce qui va stopper toutes les réactions métaboliques.

Les chlorelles fixent le CO_2 radioactif de la même manière que le CO_2 ordinaire.

Les molécules organiques synthétisées seront aussi radioactives.

On procède ensuite à l'extraction de ces substances organiques contenues dans ces cellules.

VII- Les réactions de la phase biochimique « sombre »

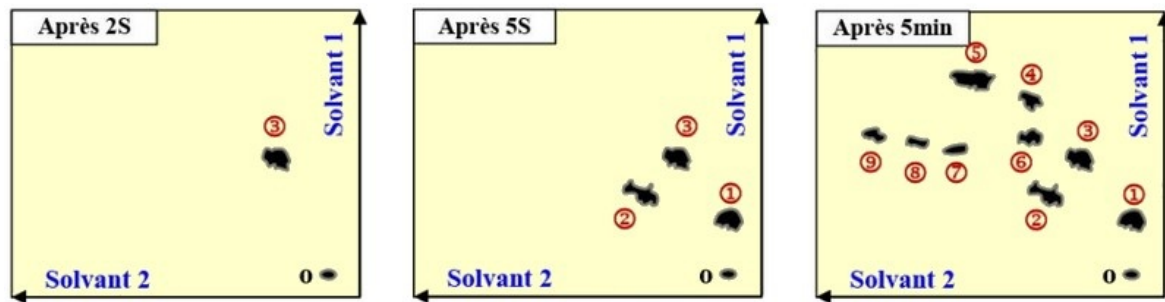
Le mélange des substances organiques subit la technique de la chromatographie bidimensionnelle.

A la fin, le papier chromatographique est traité par autoradiographie.

Chaque substance est représentée par une tâche qui se caractérise par une position spécifique.

On répète l'expérience plusieurs fois en variant la durée d'exposition des chlorelles au ^{14}C : 2s, 5s et 5min.

Les résultats de cette expérience sont présentés par les chromatogrammes suivants :



- 0 = Position initial;
- 1 = RudiP = Ribulose diphosphate : Sucre à 5C et à 2 phosphates;
- 2 = Glycéraldéhyde phosphate (G3p) (composé en C3);
- 3 = APG: acide phosphoglycérique (composé en C3) ;
- 4 = Acide pyruvique ;

- 5 = Acide malique ;
- 6 = Acide aspartique ;
- 7 = Sérine ;
- 8 = Glycine ;
- 9 = Alanine.

La chromatographie bidimensionnelle permet de séparer les moléculaires qui constituent un mélange donné.

Elle résulte du couplage de deux séparations chromatographiques de nature différente dans le but de séparer des mélanges complexes de substances similaires. Ainsi , le but principal de la chromatographie bidimensionnelle est l'augmentation de la capacité de séparation.

Après 2 secondes au contact de CO_2 radioactif, on observe que de l'APG (acide phosphoglycérique) .

L'APG, composé en C3, est donc la première molécule organique formée à partir de la fixation du CO_2 .

Les plantes dont le premier produit carboné de la photosynthèse est l'APG sont appelées plantes C3.

Après l'APG apparaissent successivement :

- Le Glycéraldéhyde phosphate
- Le rubilose diphosphate (RudiP) : un sucre du stroma à 5 carbones.
- Différents types de produits organiques, sucres, des acides organiques (acide malique), différents acides aminés.

Donc Toutes les molécules organiques produites par la photosynthèse dérivent de l'APG.

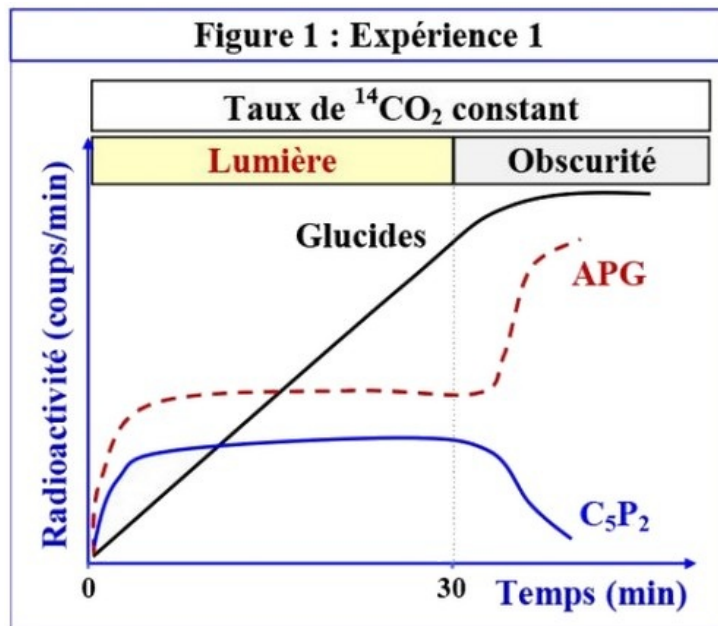
7-3/ Mécanismes d'incorporation du CO_2 dans les substances organiques

Expérience 1 ;

Des chlorelles sont cultivées dans un milieu éclairé en permanence.

On suit la radioactivité de deux composés (RuBP et APG), en présence de CO_2 , puis en l'absence de CO_2 :

La figure 1 présente les résultats de cette expérience :

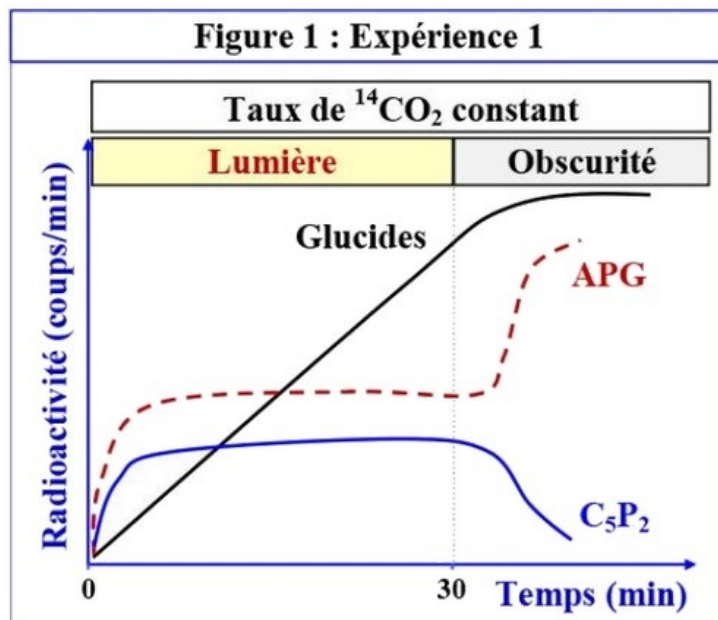


Expérience 1 (Observations et conclusion)

En présence de lumière et CO_2 , les quantités de C_5P_2 et d'APG sont stables et la quantité d'hexoses augmente.

A l'obscurité et toujours en présence de CO_2 , le rubulose diphosphate (RuBP) disparaît progressivement et l'acide phosphoglycérique (APG) s'accumule. De plus, la synthèse des hexoses cesse.

On déduit de ces résultats que la formation du rubulose diphosphate et la synthèse des hexoses s'effectue à partir de l'acide phosphoglycérique et nécessite la présence du CO_2 et la lumière.

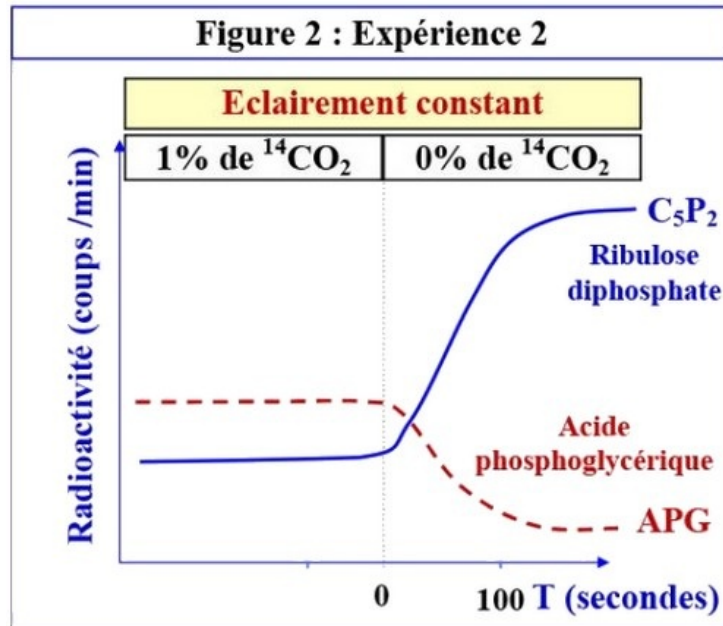


Expérience 2 (Manipulation)

Des chlorelles sont cultivées dans un milieu où on barbote de l'air enrichi en $^{14}\text{CO}_2$ d'une façon constante.

La culture normalement éclairée pendant 30 minutes est ensuite transférée à l'obscurité.

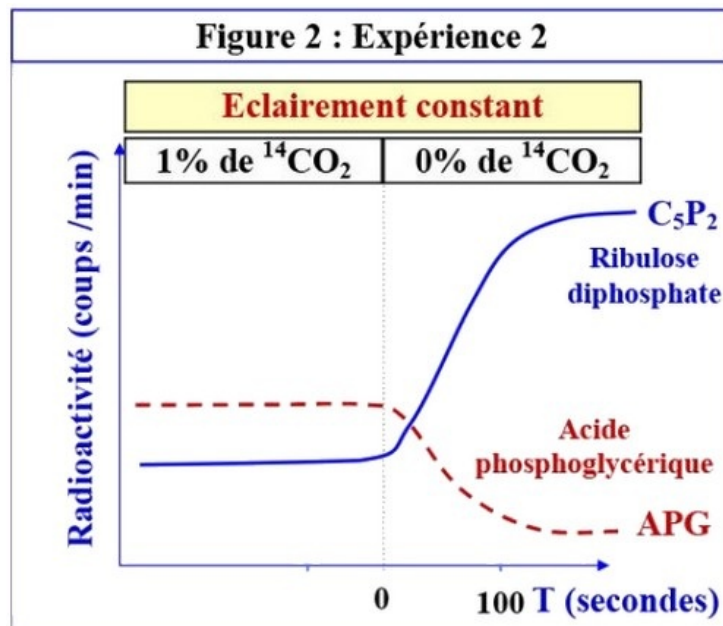
En plus de la RuBP et APG, on mesure également la concentration en hexoses. La figure 2 présente les résultats de cette expérience :



Expérience 2 (Observations et conclusion)

En absence de CO_2 (et en présence de lumière), l'acide phosphoglycérique disparaît progressivement et le rubulose diphosphate s'accumule.

On déduit de ces résultats que l'acide phosphoglycérique est formé à partir de la fixation de CO_2 sur le rubulose diphosphate.



Expérience 3 (Manipulation)

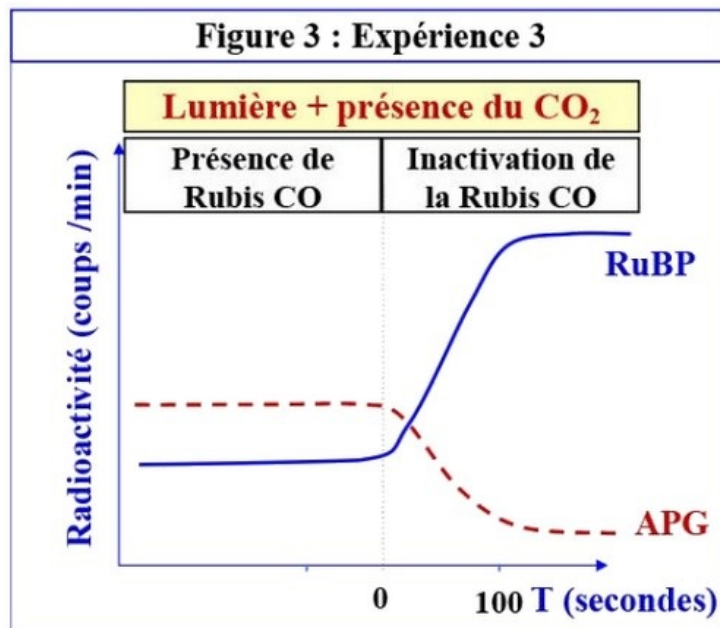
La Rubis CO (Ribulose biphosphate carboxylase oxygénase) est une enzyme qui catalyse certaines réactions chimiques spécifiques des végétaux chlorophylliens.

Des chlorelles sont cultivées dans un milieu où barbote de l'air enrichi en CO_2 radioactif, la culture est éclairée en présence ou en absence de la Rubis CO.

On mesure au cours du temps les concentrations en APG et en RuBP.

Les concentrations sont déduites de la radioactivité mesurée.

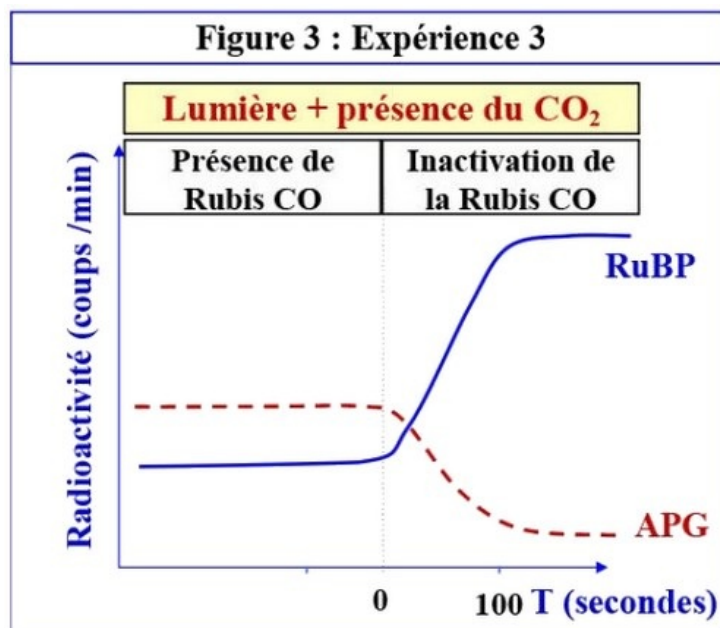
La figure 3 présente les résultats de cette expérience :



Expérience 3 (Observations et conclusion)

En inactivant la Rubis CO, l'acide phosphoglycérique disparaît progressivement et le rubilose diphosphate s'accumule.

On déduit de ces résultats que la Rubis CO est l'enzyme qui intervient dans la fixation de CO_2 sur le rubilose diphosphate pour donner l'acide phosphoglycérique.



Conclusion

Le renouvellement du rubilose diphosphate et la synthèse des hexoses s'effectue à partir de l'acide phosphoglycérique et nécessite la présence de molécules produites lors de la phase photochimique. Il s'agit de l'ATP et de $NADPH$, H^+ .

Une molécule de rubilose diphosphate (possédant 5 atomes de carbone) et une molécule de CO_2 donnent deux molécules d'acide phosphoglycérique (3 atomes de carbone).

Les 2 réactions de la photosynthèse sont donc bien couplées :

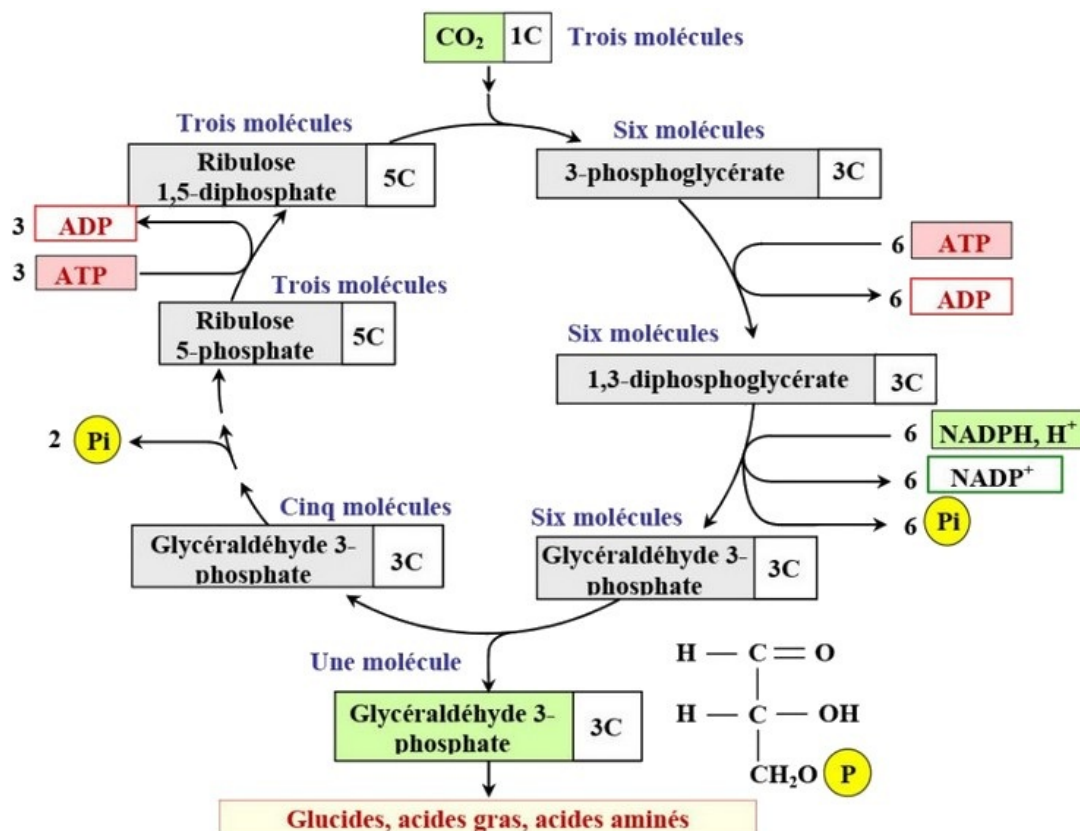
- La phase photochimique produit de l'ATP et un transporteur réduit ($NADPH, H^+$).
- La phase biochimique utilise ces intermédiaires ($ATP + NADPH, H^+$) pour fixer le CO_2 .

7-4/ Réactions de la phase biochimique (Sombre)

Le cycle de Calvin (Introduction)

Au niveau du stroma se trouve le RuBP sucre phosphaté à C_5 , et un enzyme : la Rubis CO qui catalyse la réaction de carboxylation du RuBP par le CO_2 .

Ainsi se fait la fixation du CO_2 pour la synthèse de la matière organique, indépendamment de la lumière, en une série de réactions constituant le cycle de Calvin :



Le cycle de Calvin peut être divisé en trois étapes essentielles :

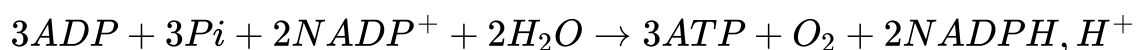
1. L'incorporation du 2 dans le RuBP :
2. La réduction de l'APG en triose phosphate (G3P) :
3. La régénération du RuBP :

La régénération du RuBP nécessite une molécule d'ATP supplémentaire par molécule de 2 fixé.

7-4/ Réactions de la phase thermchimique (Sombre)

Équations chimiques

- Bilan de la phase photochimique :

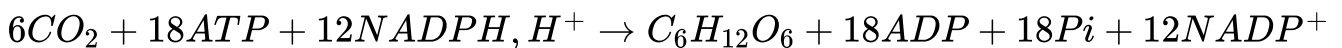


- Bilan de la phase thermochimique :

A chaque tour de cycle de Calvin, l'assimilation d'une molécule de CO_2 exige la consommation de 3 ATP et 2 molécules de $NADPH, H^+$:



- Réaction globale de la synthèse d'une molécule de glucose :



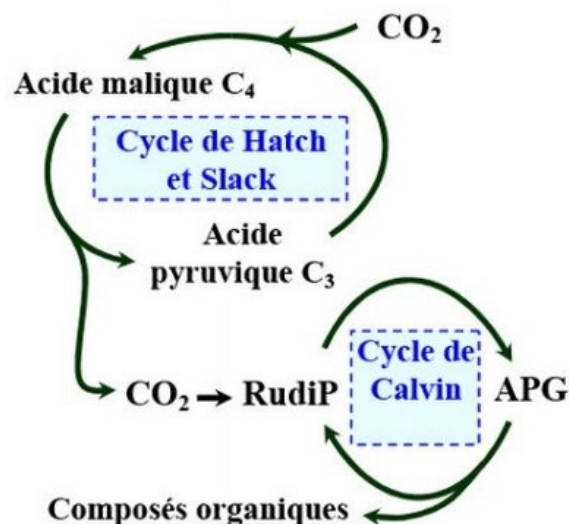
7-4/ Réactions de la phase biochimique (Sombre)

Incorporation du CO_2 chez les plantes en C_4

Les crassulacées constituent une famille de plantes adaptées à la vie dans les zones sèches et chaudes.

Chez les crassulacées et les plantes en C_4 , connue le maïs et la canne à sucre, les stomates ne peuvent s'ouvrir que la nuit pour éviter la perte d'eau; ainsi, ces plantes absorbent le CO_2 la nuit.

Ce CO_2 réagit avec l'acide pyruvique à 3C pour donner l'acide malique à 4C qui s'accumule, ainsi le premier produit de l'incorporation du CO_2 est à 4C d'où le nom de plantes en C_4 :



Pendant le jour, la réaction inverse se produit, le CO_2 libéré entre dans le cycle de Calvin en présence des produits de la phase claire.

En plus des plantes en C_3 , il existe des plantes nommées plantes en C_4 ,

Ce sont des plantes des zones arides très chaudes le jour, elles sont caractérisées par leur capacité à retenir une quantité importante d'eau.

Chez les plantes en C_4 , après avoir fixé le CO_2 , le premier produit organique de la photosynthèse est un composé constitué de 4 atomes de carbones, d'où le nom de plante en C_4 .

Le jour, le CO_2 qui est libéré des composés en C_4 formés la nuit et rejoint le cycle de Calvin qui aboutit à la synthèse des différentes substances organiques.

