

Thème 1. Énergie et cellule vivante

2 Le chloroplaste et les pigments photosynthétiques

Les végétaux chlorophylliens effectuent la **photosynthèse** dans leurs feuilles, et plus précisément au niveau des **chloroplastes** des cellules foliaires. L'énergie solaire leur permet de réduire le **CO₂** prélevé dans l'air, et de fabriquer des **molécules organiques** (comme l'amidon). En contrepartie, un rejet d'**O₂** est réalisé.

Dans un premier temps, on cherche à mieux connaître la structure du chloroplaste. Pour cela, on les observe.

- Au microscope photonique :

Matériel à votre disposition :

- Un végétal, l'hépatique (plante assez primitive, poussant dans des milieux très humides) ;
- Microscope photonique (oculaire x16 et objectifs à immersion x100)
- Lame, lamelle, eau, scalpel, ciseaux fins, pince
- (webcam et PC), logiciel mesurim.

Observation réalisable (30 minutes) :

- Prélever une partie de l'épiderme externe de la plante (« feuille »). Inutile d'en prélever beaucoup : il vaut mieux peu, mais que ce soit mince ! Monter entre lame et lamelle dans une goutte d'eau.
- Observer au microscope photonique (jusqu'à x100)

Communication des résultats (en cours de séance) :

Dessiner un chloroplaste et/ou image légendée sous mesurim. **Réaliser** un bilan écrit en une ligne.

- Au microscope électronique :

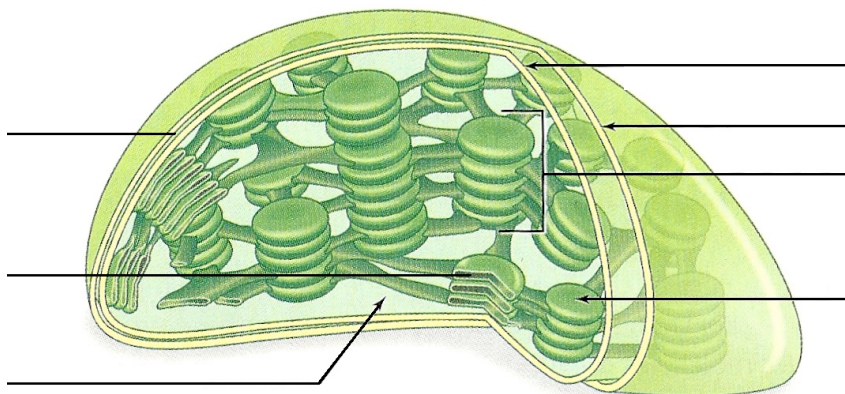


- Chez les végétaux, les chloroplastes sont des organites ovoïdes de 1 à 4 µm d'épaisseur et de 3 à 10 µm de longueur.

- 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 (**granums**). La chlorophylle est localisée dans la membrane des thylakoïdes.

- Des **grains d'amidon** sont présents à l'intérieur des chloroplastes (voir feuille 1).



Observation en microscopie électronique (MET) de chloroplaste et schéma d'interprétation (sur lequel les grains d'amidon ne sont pas figurés).

© SVT spécialité Bordas 2002 (MET) et SVT spécialité Nathan 2012 (schéma).

Légender le chloroplaste. **Représenter** par un tracé vert la localisation des pigments chlorophylliens.

Travail de réflexion (15 minutes) :

Du matériel et des documents sont mis à votre disposition (liste ci-dessous). **Élaborer** une stratégie permettant de montrer que les feuilles des végétaux contiennent une diversité de **pigments photosynthétiques**, et que ces derniers permettent de capter la lumière solaire.

Matériel à votre disposition :

- Des feuilles d'un végétal à feuilles bien vertes (épinard),
- Un mortier et pilon, du sable fin, un bécher d'alcool à 90°, un entonnoir, un support, du papier filtre, un bécher de 50ml, une pipette (10 ou 20 mL) et propipette, agitateur en verre pour écraser les morceaux de feuille, ciseaux à dissection,
- Une bande de papier Whatman,
- Une éprouvette, un bouchon avec crochet de suspension, un cache pouvant recouvrir l'éprouvette, du solvant à chromatographie (composition : éther de pétrole 85%, acétone 10%, cyclohexane 5%),
- Un sèche-cheveux, une pipette pasteur, des crayons de couleur, un spectroscope manuel.

Expériences réalisables (1h15) :

Protocole d'extraction d'une solution de chlorophylle brute (commun aux deux manipulations suivantes) :

- **Placer** dans un mortier un peu de sable fin. **Ajouter** des feuilles bien vertes coupées en petits morceaux.
- **Broyer** à l'aide du pilon. **Ajouter** progressivement environ 10 mL d'alcool à 90° et **continuer** à broyer jusqu'à obtention d'un liquide résiduel de couleur foncée (solution bien concentrée).
- **Filtrer** le contenu du mortier de façon à obtenir la solution de pigments qui doit être foncée.
- **Conserver** à l'obscurité dans un bécher la solution obtenue de **chlorophylle brute**.

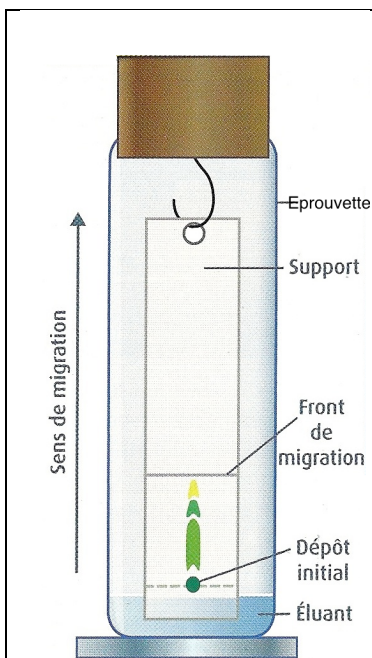
Protocole de la chromatographie.

C'est une technique de séparation des substances présentes dans un mélange ; elle utilise la migration d'un liquide 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 :

chlorophylle b (vert jaune), chlorophylle a (vert bleuté), xanthophylle (jaune), caroténoïdes (orangé)

faible migration

forte migration



- **Couper** le papier Whatman (support) aux dimensions de l'éprouvette. Attention, veiller à prendre le papier uniquement par les bords. Une fois suspendu, le papier ne doit pas toucher les bords de l'éprouvette. **Réaliser** un trou pour le suspendre au crochet.
- **Suspendre** le papier à chromatographie à l'aide du crochet fixé sur un bouchon, le **placer** dans l'éprouvette pour **repérer** le niveau d'éluant à mettre (le papier doit tremper d'un demi-cm dans l'éluant). Toujours **veiller** à prendre le papier uniquement par les bords sans poser vos doigts sur la zone de migration.
- **Retirer** le papier, **verser** l'éluant jusqu'au niveau repéré et **fermer** l'éprouvette sans le papier.
- **Tracer** un trait au crayon à 1 cm du bas de la bande de papier pour marquer l'emplacement du dépôt. **Déposer** la solution de pigments du végétal étudié avec la micropipette : la tache d'un dépôt doit être aussi petite et foncée que possible (le plus simple est tout de même d'écraser des morceaux de feuille en un point unique car les résultats sont plus beaux)
- **Superposer** une dizaine de gouttes de la solution en séchant entre chaque goutte à l'aide du sèche-cheveux (si non écrasé).
- **Suspendre** le papier à chromatographie, le **placer** dans l'éprouvette en vérifiant que les dépôts de pigments sont bien situés au-dessus du niveau du solvant et **fermer**.
- **Recouvrir** l'éprouvette par le cache et laisser migrer le solvant à l'obscurité pendant un trentaine de minutes (surveiller régulièrement le front de migration).

2. La chromatographie des pigments foliaires.

(Schéma © Spécialité SVT Belin 2012)

Un spectroscope contient un prisme qui décompose la lumière blanche en un spectre de radiations colorées que l'on observe par l'oculaire de cet appareil.

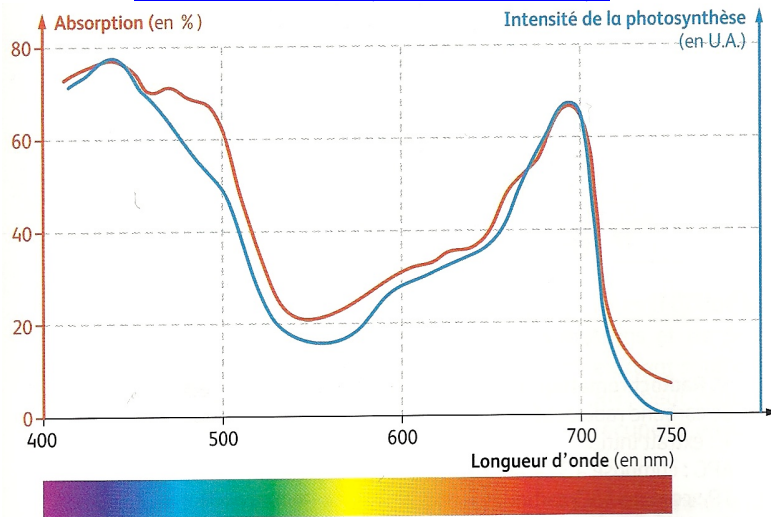
- **Placer** devant un spectroscope à main un tube contenant la solution de chlorophylle brute ; diriger ce spectroscope vers une source de lumière.

Communication des résultats (en cours de protocole, pas de temps supplémentaire). Prévoir la phase de rangement:

Bâtir un compte-rendu répondant à la problématique. Doivent y être inclus les résultats des expériences dont la chromatographie légendée et le spectre observé (sans puis au travers la solution de chlorophylle brute).

Conclure (voir problématique).

Documents annexes (travail à la maison) :



Spectres d'absorption et d'action des pigments photosynthétiques.

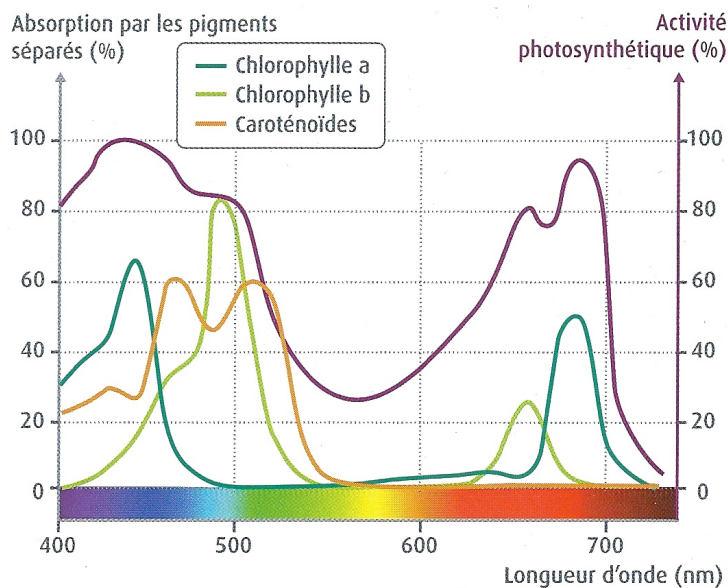
© Spécialité SVT Nathan 2012

Le **spectre d'absorption** d'une algue verte comme l'*Ulve taeniata* peut être établi en mesurant pour chaque longueur d'onde le pourcentage de lumière absorbée par les pigments de l'algue mis en solution après extraction par un solvant approprié.

Le **spectre d'action** est établi par la mesure du dégagement de dioxygène de cette algue, pour différentes longueurs d'ondes. L'intensité de la lumière pour chaque longueur d'onde est réglée de telle façon que le nombre de photons reçus par la plante soit toujours le même.

Comparaison du spectre d'absorption des pigments foliaires et du spectre d'action photosynthétique.

© Spécialité SVT Belin 2012



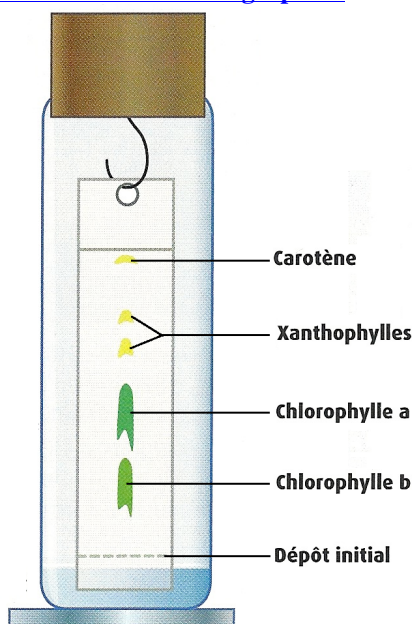
Définitions :

Spectre d'absorption : graphique qui représente la capacité d'absorption d'un pigment en fonction de la longueur d'onde.

Spectre d'action : graphique qui représente l'efficacité photosynthétique de chaque longueur d'onde.

Étudier les deux graphiques, pour **confirmer** vos résultats expérimentaux et pour **montrer** ce qu'ils apportent en plus.

Correction de la chromatographie :



Résultat de la chromatographie.

© Spécialité SVT Belin 2012