

Le déroulement de la photosynthèse (part 1).

La photosynthèse se déroule dans les cellules chlorophylliennes. Elle nécessite de la lumière, de l'eau, du CO₂ et des pigments chlorophylliens.

Ces pigments contenus dans les thylakoïdes des chloroplastes permettent d'absorber les longueurs d'ondes lumineuses utiles à l'activité photosynthétique.

Comment l'énergie lumineuse est-utilisée lors de la photosynthèse ?

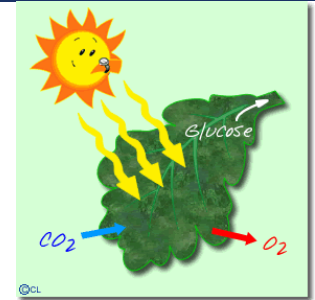


Schéma de la photosynthèse

La photosynthèse consiste à transformer le **Carbone oxydé** (CO₂) en **Carbone réduit** (C₆H₁₂O₆). Cette réaction de réduction s'accompagne obligatoirement d'une réaction d'oxydation et donc d'un nécessaire échange de protons et d'électrons. C'est une oxydo-réduction.

Activité 1 : Analyse de documents, tirer des informations.

Partons à la découverte historique de ces différentes réactions permettant la transformation de matière minérale en matière chimique.

- 1) Décrire le résultat obtenu par Gaffron. Qu'y a-t-il de surprenant ? (doc 1)
- 2) Quelles informations apportent les expériences 1 et 2 ? (doc 2)
- 3) Comment l'expérience 3 permettait-elle d'interpréter ce qu'à observer Gaffron à l'obscurité ? (doc 2)
- 4) Après avoir rappelé les conditions expérimentales et décrit les résultats obtenus, expliquez comment Hill a montré que la photolyse de l'eau nécessite de la lumière mais également un transporteur d'électrons (R) **sans apport de CO₂ (doc 3)**. Par la suite, la réduction du CO₂ en glucose nécessitera de l'énergie chimique (voir TP suivant).
- 5) Mais d'après le document 4 de quelle réaction peut provenir cette énergie ?

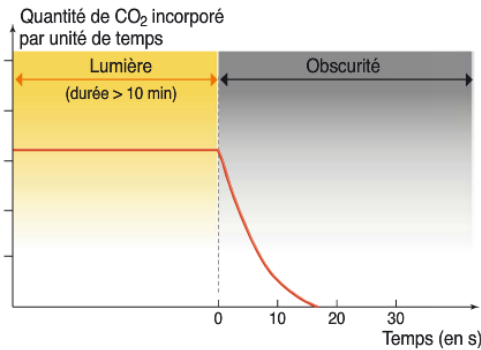
Activité 2 : réaliser un schéma bilan

Sur une feuille blanche, vous schématiserez **l'ensemble des réactions chimiques photosynthétiques** se déroulant au sein d'une cellule chlorophyllienne.

Vous ferez apparaître :

- les différents compartiments cellulaires concernés (schématiquement),
- les différentes réactions chimiques localisées précisément.
- les différentes molécules chimiques,
- les différentes formes d'énergie
- les échanges entre compartiments intracellulaires.

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.



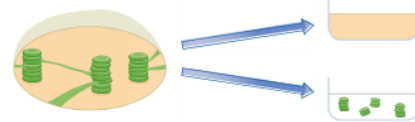
Doc. 2 L'expérience de Gaffron.

• La nécessité d'une réduction du CO_2

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 CO_2 : en effet, dans une molécule comme le glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), 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 (RH_2 et ATP), Arnon réalise une expérience en préparant, à partir de chloroplastes, une fraction contenant uniquement les **thylakoïdes** et une fraction correspondant au **stroma**.



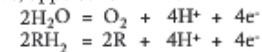
	Expérience 1	Expérience 2	Expérience 3
Conditions dans lesquelles est placé le stroma	Stroma seul, maintenu à l'obscurité et alimenté en $^{14}\text{CO}_2$	Stroma maintenu à l'obscurité et alimenté en $^{14}\text{CO}_2$ + thylakoïdes ayant séjourné à la lumière	Stroma seul maintenu à l'obscurité et alimenté en $^{14}\text{CO}_2$, RH_2 et ATP
Résultats	Pas de fixation de $^{14}\text{CO}_2$ (aucune molécule organique radioactive)	Fixation de $^{14}\text{CO}_2$ dans diverses molécules organiques	Fixation de $^{14}\text{CO}_2$ dans diverses molécules organiques

2 Expérience d'Arnon (1958)

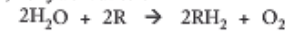
3 L'expérience de Hill, une découverte capitale

■ 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

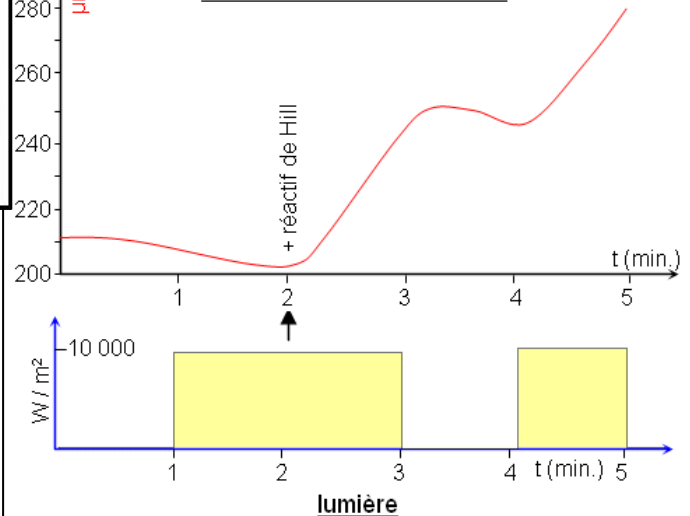
- Concevoir un protocole expérimental montrant que la production de dioxygène exige à la fois de la lumière et une substance oxydante, le « réactif de Hill ».

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.

Expérience de Hill

mesure de la concentration d' O_2 dans le bioréacteur -EXAO-



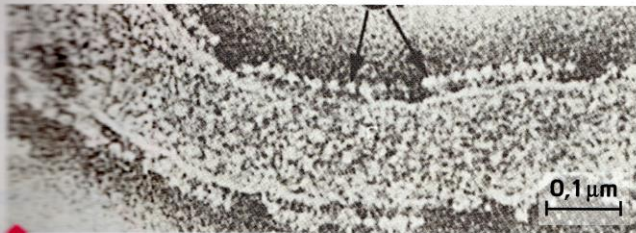
ATP (Adénosine triphosphate) est une forme de stockage d'énergie très largement utilisée par les cellules. Cette énergie peut être libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP et devient alors disponible pour d'autres réactions du métabolisme nécessitant de l'énergie. La synthèse d'ATP par un organisme est donc primordiale pour permettre le fonctionnement de l'ensemble de son métabolisme. Cette synthèse se fait par fixation d'un phosphate inorganique (Pi) sur une molécule d'ADP. Cette réaction de phosphorylation nécessite un apport important d'énergie à partir d'ADP et de phosphate inorganique. Elle est catalysée par une enzyme appelée **ATP synthase**.

Document 4 :

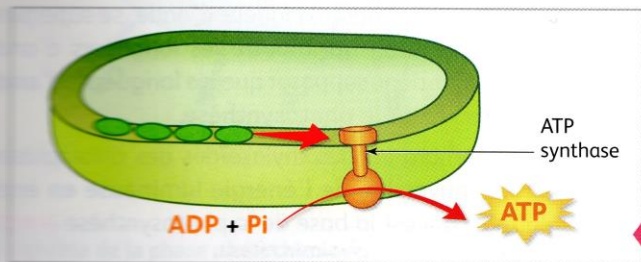
▶ L'ATP est une molécule capable de transférer une partie de son énergie chimique pour permettre la réduction du dioxyde de carbone et donc la synthèse de glucides.

▶ La synthèse d'ATP, à partir d'ADP et de Pi, nécessite un apport important d'énergie. On cherche à comprendre comment est régénéré l'ATP dans le chloroplaste. Des thylakoïdes isolés sont maintenus dans un bioréacteur à pH constant. On mesure la concentration en dioxygène et en ATP au cours du temps dans différentes conditions.

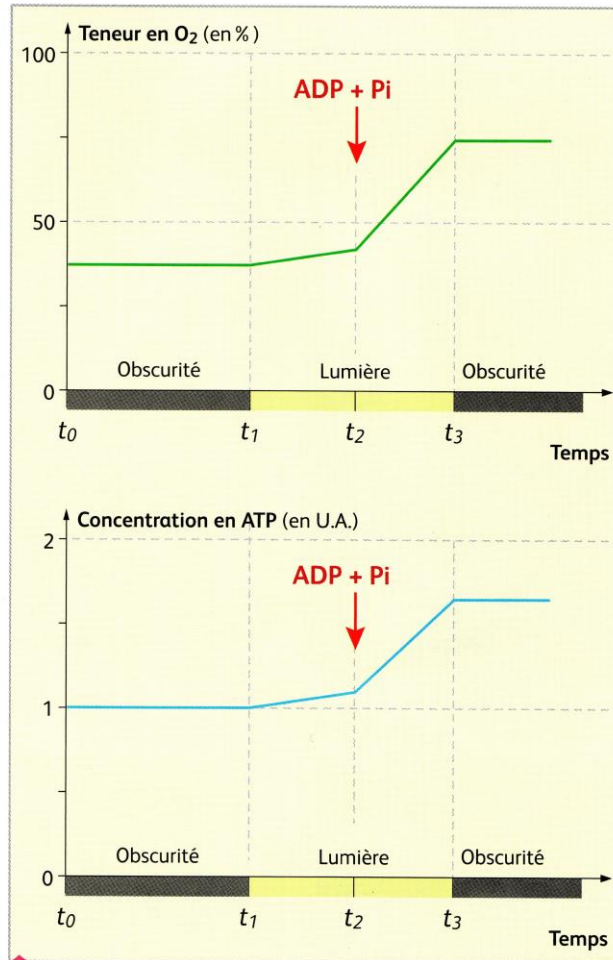
▶ Les membranes des thylakoïdes portent des enzymes de synthèse de l'ATP, appelées **ATP synthases**.



a Portion de thylakoïde (MET). Les flèches indiquent les ATP synthases.



b Disposition de l'ATP synthase.



c Variations de la concentration en dioxygène et en ATP.

NB: *Portion de thylakoïde* (microscope photonique à contraste de phase). La technique permet de visualiser des complexes protéiques à la surface de la membrane du thylakoïde : complexes de protéines et pigments (= photosystèmes) et ATP synthases.

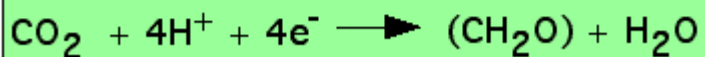
- 1) L'expérience 1 (de Arnon 1958) montre que le stroma seul ne permet pas la production de molécules organiques par incorporation de CO₂. En revanche, la comparaison des expériences 1 et 2 montre que les thylakoïdes exposés à la lumière permettent cette synthèse.
Il apparaît donc que les thylakoïdes exposés à la lumière sont nécessaires à la synthèse de glucides dans le stroma des chloroplastes.
L'expérience 3 montre que les thylakoïdes exposés à la lumière peuvent être remplacés par un apport de RH₂ et d'ATP.
On peut donc déduire de cette expérience que **les thylakoïdes exposés à la lumière sont responsables de la production d'ATP et de RH₂**. (Nouveau produit de la photosynthèse ??)
- 2) L'expérience de Gaffron (1951) montre une incorporation élevée et constante de CO₂ lorsque les algues sont exposées à la lumière. En effet, ces cellules chlorophylliennes réalisent alors la photosynthèse. À l'obscurité, cette incorporation cesse rapidement : la photosynthèse est un processus qui exige de la lumière. Cependant, on constate que l'incorporation du CO₂ ne cesse pas immédiatement lors du passage à l'obscurité mais diminue progressivement pendant 20 secondes environ.
Cela montre que l'incorporation du CO₂ peut chimiquement se produire à l'obscurité mais est tributaire de phénomènes qui exigent directement de la lumière.
L'expérience d'Arnon permet de proposer une interprétation :
– À la lumière, les thylakoïdes fournissent en permanence ATP et RH₂. Il y a donc incorporation constante de CO₂.
– Lors du passage à l'obscurité, la production d'ATP et de RH₂ par les thylakoïdes cesse. **Cependant, l'incorporation du CO₂ se poursuit un court instant en utilisant les stocks manifestement très limités d'ATP et RH₂ précédemment produits par les thylakoïdes à la lumière.**
- 3) De 0 à 1 minute, on ne constate aucune production de dioxygène. La réaction ne se produit pas.
L'ajout de 0,1 mL de réactif se traduit par une production de dioxygène qui révèle l'oxydoréduction entre l'eau et le réactif. Celle-ci cesse rapidement par épuisement du réactif : en effet, la production de dioxygène est réactivée par l'injection d'une nouvelle quantité de réactif (t = 3 min). Au temps t = 5 min, le passage à l'obscurité se traduit par un arrêt immédiat de la production de dioxygène : ceci montre que cette oxydoréduction nécessite l'énergie lumineuse.
L'expérience de Hill montre qu'une suspension de chloroplastes permet une oxydoréduction entre l'eau et un accepteur d'électrons. Cependant, la réduction de l'accepteur n'est possible qu'en présence de lumière car, elle exige de l'énergie.
C'est cette oxydoréduction qui permet de former les transporteurs réduits RH₂ nécessaires à la phase chimique de la photosynthèse. Les H nécessaires à la réduction du CO₂ proviennent donc de la dissociation de la molécule d'eau. L'O de la molécule d'eau, qui n'est pas nécessaire, est rejeté sous forme de dioxygène. Le dioxygène produit au cours de la photosynthèse provient donc de l'eau comme déjà démontré précédemment..
- 4) L'ajout d'ADP+Pi à la lumière entraîne une production d'O₂ marqueur du déroulement de la phase photochimique de la photosynthèse. Le deuxième graphique montre que cette réaction à la lumière provoque la fabrication d'ATP, molécule hautement énergétique. Or l'ATP synthase a besoin d'énergie pour fabriquer l'ATP. Ainsi cette phase photochimique de la photosynthèse réalisée dans les thylakoïdes permet d'utiliser l'énergie lumineuse pour fabriquer de l'ATP.

L'énergie lumineuse responsable de la photolyse de l'eau est donc convertie au niveau des thylakoïdes en énergie chimique sous forme de transporteurs réduits RH₂ (acceptant les électrons émis suite à la photolyse de l'eau) et d'ATP

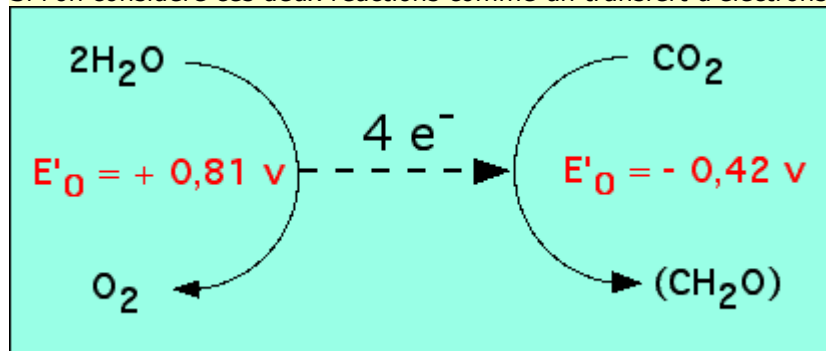
(4) oxydation de l'eau



(5) réduction du carbone



Si l'on considère ces deux réactions comme un transfert d'électrons entre deux couples RedOx, on peut écrire :



On constate que la réaction n'est pas possible spontanément car le transfert des électrons ne peut se faire sans apport d'énergie que dans le sens des potentiels d'oxydo-réduction (E'_0) croissants. Cette réaction est en fait rendue possible grâce à l'énergie de la lumière.

Entre la réaction d'oxydation de l'eau et celle de réduction du carbone, il existe de nombreux intermédiaires (transport des électrons et des H^+)

Expérience de Hill : nécessité d'un accepteur d'électrons.