Expériences sur la photosynthèse

Publié le 14.08.02 | Par Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot

Protocoles permettant de montrer les différents réactifs et produits de la photosynthèse, à l'aide de matériel simple ou d'interfaces ExAO.

1. Introduction

L'étude de la photosynthèse permet d'aborder la notion d'autotrophie. À cette fin, de nombreuses expériences sont réalisables.

Les expériences présentées ici ont été regroupées en trois ensembles, en fonction des thèmes abordés :

- production de dioxygène à la lumière (une expérience historique) ;
- autotrophie au carbone ;
- études ExAO de la photosynthèse.

Une version plus complète et des compléments sont disponibles sur le site Bmédia dans le document « La photosynthèse par les expériences ».

2. Production de dioxygène à la lumière (une expérience historique)

Une expérience simple permet de montrer que les plantes vertes produisent du dioxygène à la lumière alors que, comme tous les êtres vivants, elles le consomment à l'obscurité. Il s'agit d'une expérience historique, qui a été fondamentale dans la mise en place des premières connaissances sur la photosynthèse.

Mais, bien que pédagogiquement intéressante, car très simple à comprendre et permettant d'aborder la photosynthèse de manière concrète, cette expérience est irréalisable dans une classe. En effet :

- la chaleur dégagée par la combustion est importante ;
- du noir de fumée se dépose sur la paroi interne de la cloche (et on ne voit plus rien) ;
- la bougie consomme le dioxygène plus vite que la plante ne le produit (elle finit donc aussi par s'éteindre même avec la plante).

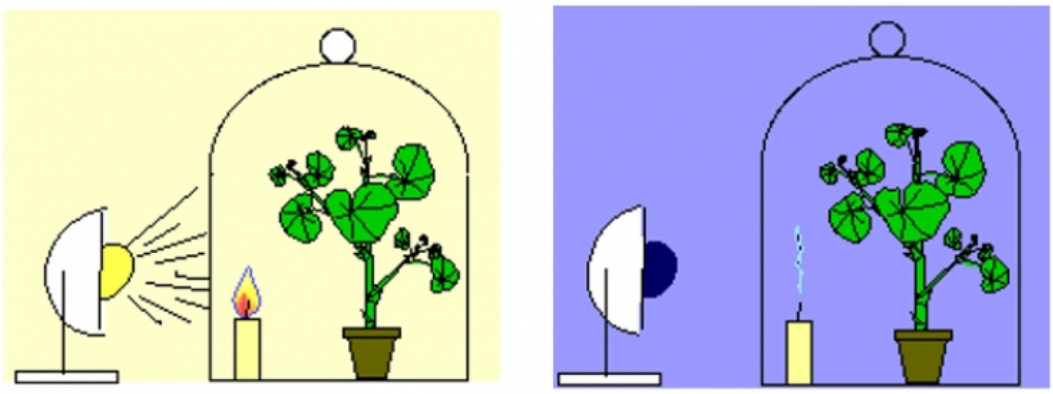


Figure 1 - Expérience historique montrant que les plantes produisent du dioxygène à la lumière mais pas à l'obscurité
A gauche : dans la cloche hermétique, la bougie continue à se consumer si la plante verte est éclairée.
A droite : la bougie s'éteint si la plante n'est plus éclairée.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

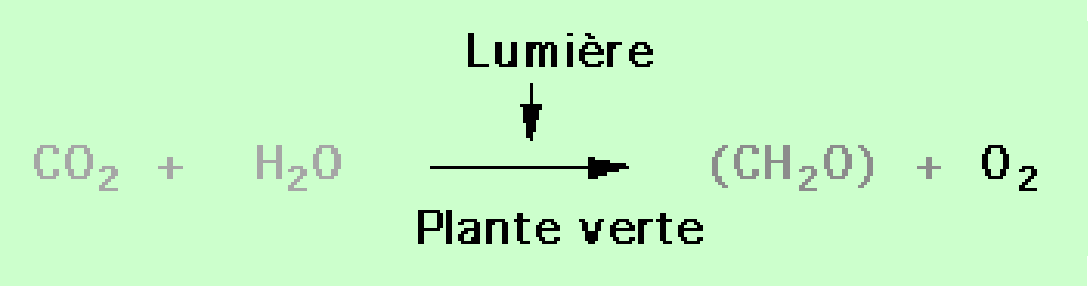


Figure 2 - Conclusion de l'expérience historique
Le dioxygène nécessaire à la combustion est produit par la plante verte éclairée.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

3. L'autotrophie au carbone

Définition : un organisme autotrophe au carbone est capable de synthétiser ses propres molécules complexes à partir de sources simples du carbone, comme le dioxyde de carbone (CO_2).

On peut mettre en évidence l'autotrophie au carbone chez un végétal en deux temps :

- premièrement, démonstration d'une nécessité de carbone minéral (CO_2).
- deuxièmement, synthèse de carbone organique (ici, l'amidon). Le mécanisme permettant cette autotrophie est ici la photosynthèse.

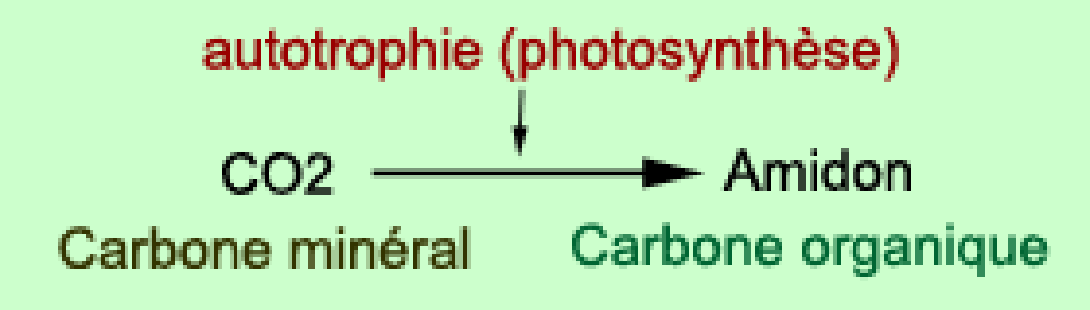


Figure 3 - L'autotrophie au carbone

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

La nécessité de dioxyde de carbone peut aussi être étudiée par ExAO.

3.1. Expérience 1 : nécessité du dioxyde de carbone

La production de dioxygène par une plante verte nécessite une source de carbone. L'expérience peut être réalisée avec une plante aquatique, comme l'élodée du Canada. Les plantes sont placées dans de l'eau du robinet et recouvertes par un entonnoir et un tube à essai remplis d'eau. La cuve d'eau froide entre la lampe et le bac d'élodées permet d'éviter une élévation de température.

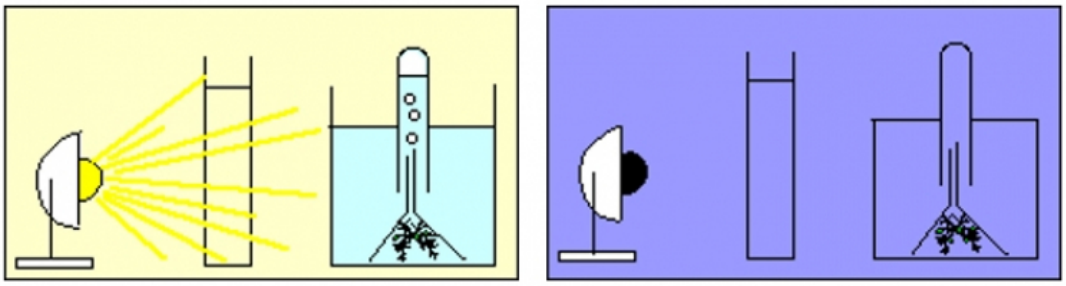


Figure 4 - Expérience de dégagement gazeux d'une plante verte à la lumière
A gauche : dégagement de gaz par les élodées après deux heures d'éclairement.
A droite : pas de dégagement de gaz à l'obscurité.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

La même expérience est réalisée dans différentes condition (figure ci-dessous).

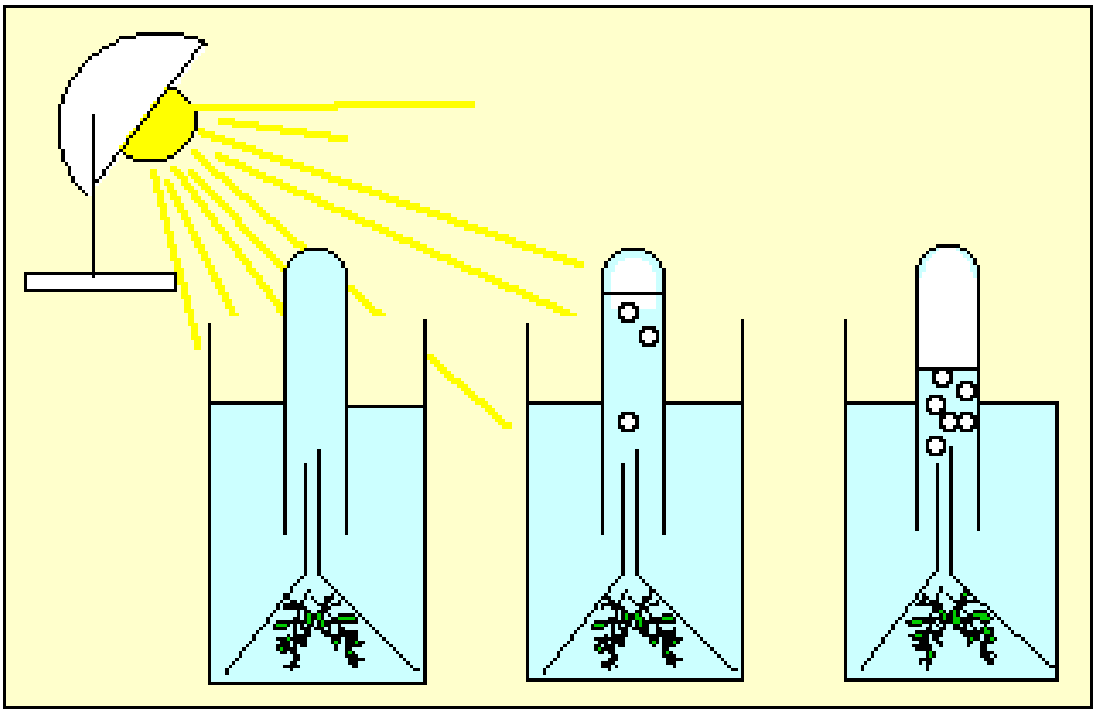


Figure 5 - Différentes conditions de réalisation de l'expérience de dégagement gazeux d'une plante verte à la lumière
Les plantes vertes utilisées sont toujours des élodées. L'expérience est réalisée en présence d'eau distillée (à gauche), d'eau du robinet (au centre) et d'une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (à droite).

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Le dégagement de gaz est plus important en présence de dioxyde de carbone.

Pour caractériser ce gaz, une baguette de bois enflammée puis éteinte (extrémité encore incandescente) est plongée dans un tube de dégagement.

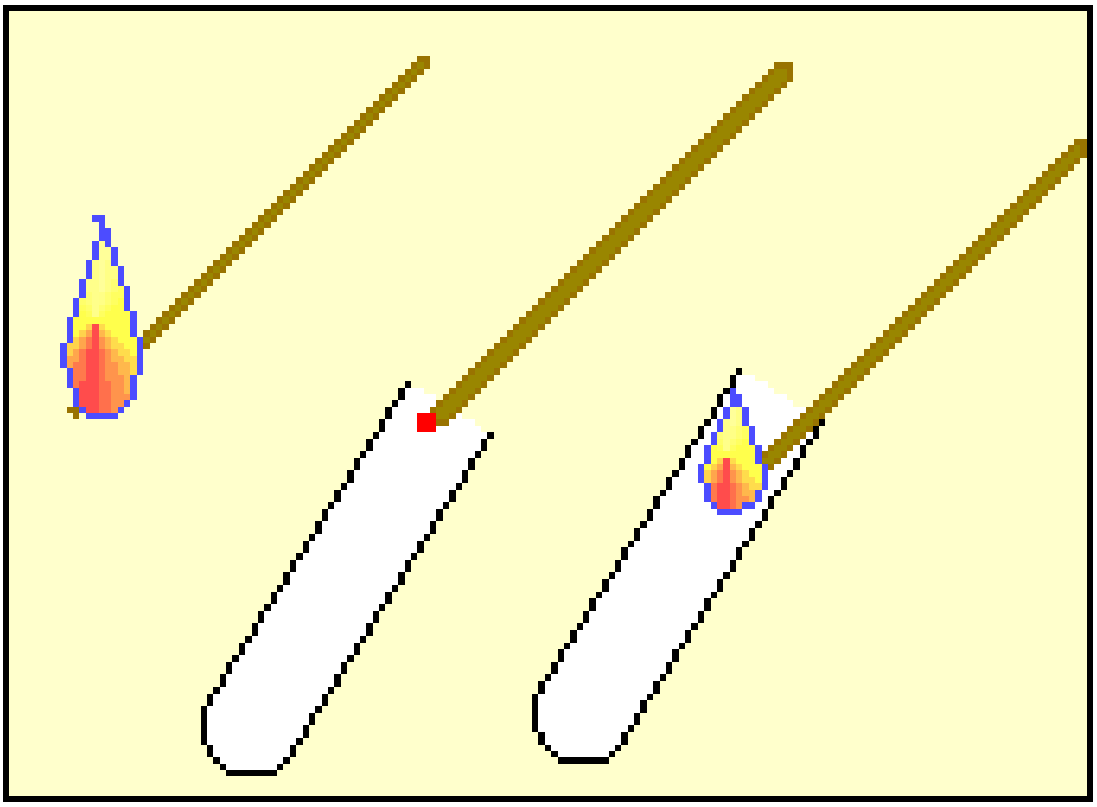


Figure 6 - Caractérisation du gaz dégagé à la lumière
La baguette enflammée puis éteinte, et immédiatement présentée à l'orifice du tube à dégagement, se rallume.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

La baguette se rallume, il s'agit de dioxygène.

Conclusion : une plante verte dégage du dioxygène à la lumière. Ce phénomène dépend de l'intensité lumineuse, de la température et de la présence de dioxyde de carbone.

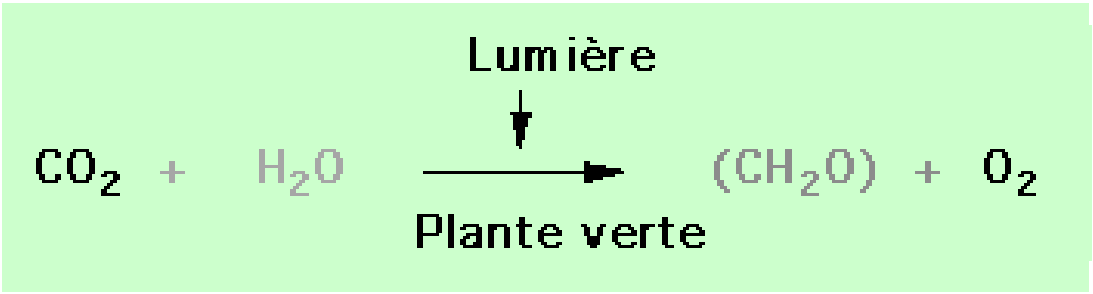


Figure 7 - Bilan gazeux de la photosynthèse

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

3.2. Expérience 2 : synthèse de l'amidon par les feuilles

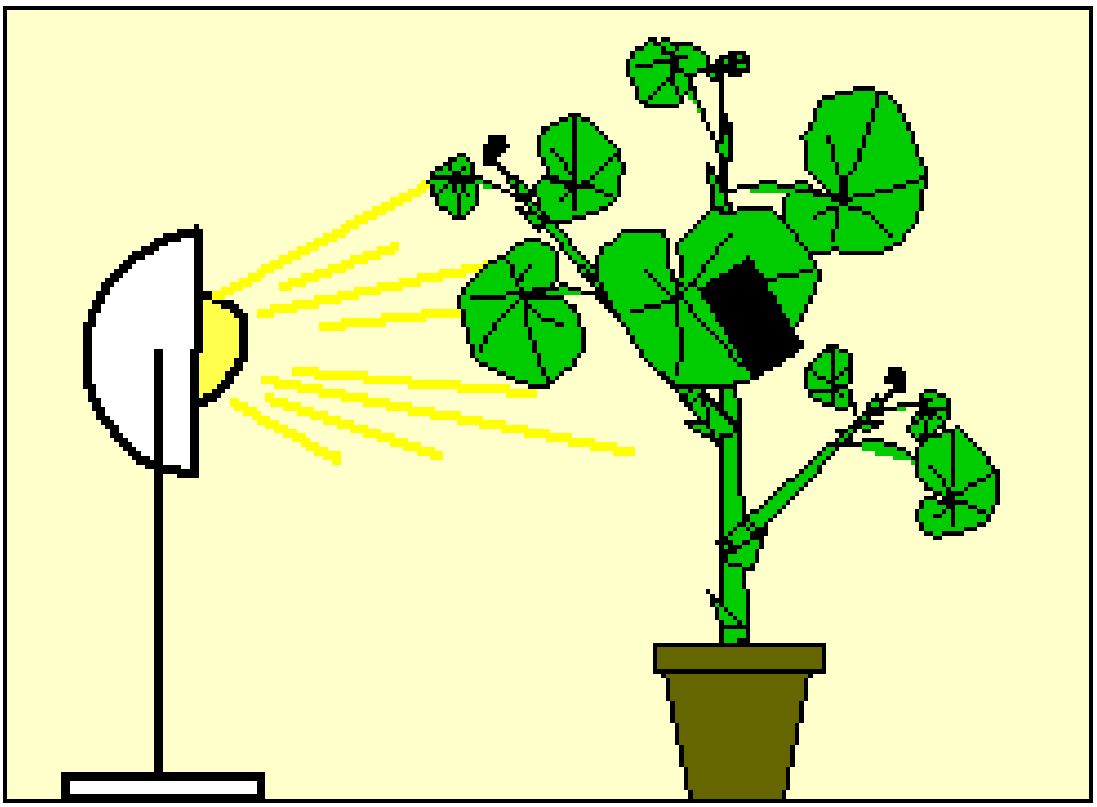


Figure 8 - Synthèse de l'amidon par une feuille de pélargonium
On éclaire une plante verte (pélargonium) pendant 12 heures. Certaines feuilles sont partiellement recouvertes d'un cache de papier noir.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

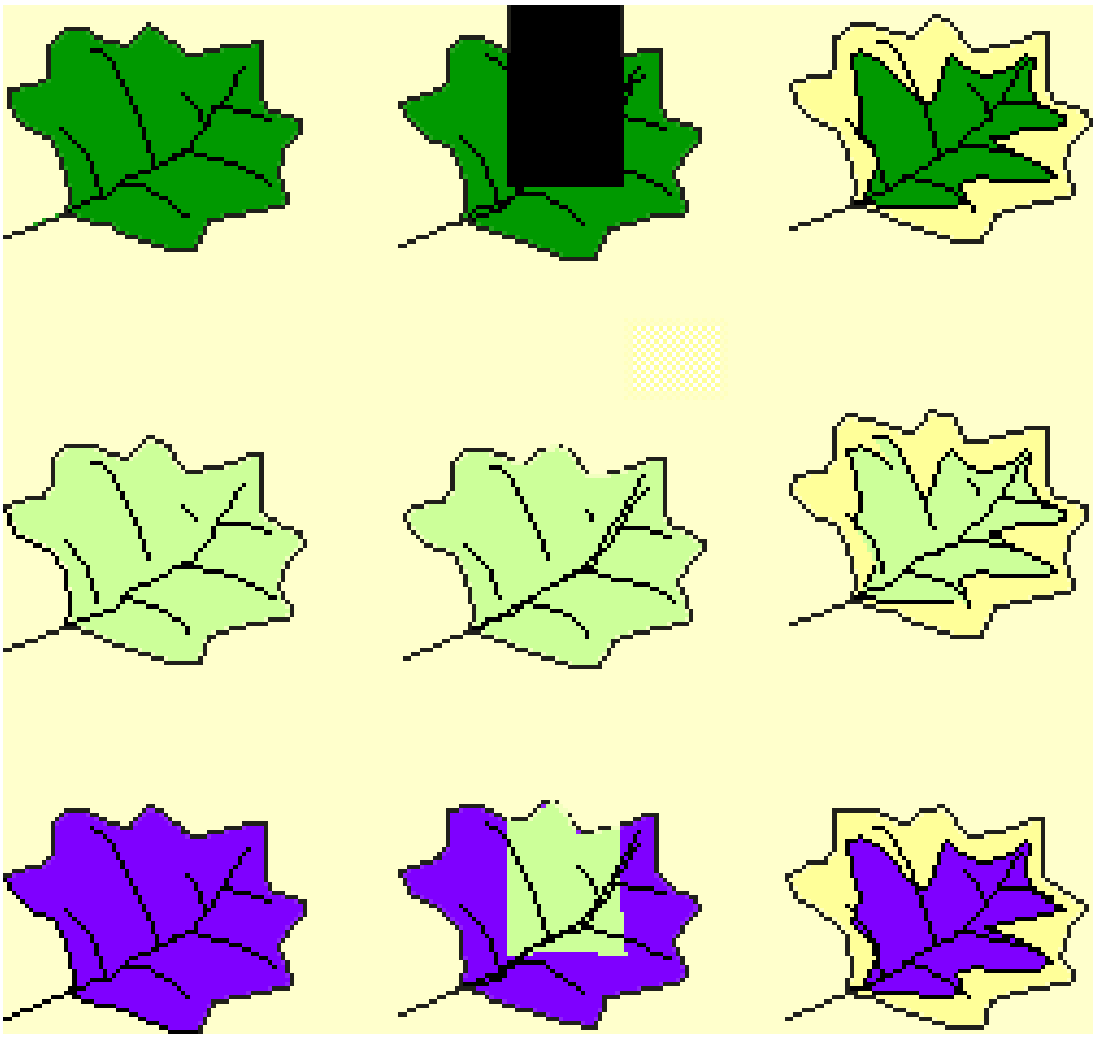


Figure 9 - Expérience de production de matière organique dans une feuille
Ligne du haut : L'expérience est réalisée avec une feuille normale, une feuille dont une partie a été cachée par du papier noir ou une feuille panachée.
Ligne du milieu : Détacher les feuilles, les décolorer par de l'éthanol bouillant pendant 5 minutes.
Ligne du bas : Les recouvrir de lugol (réactif spécifique de l'amidon) dans une boite de Pétri et observer.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Les feuilles se colorent en bleu-violet uniquement au niveau des régions vertes soumises à la lumière.

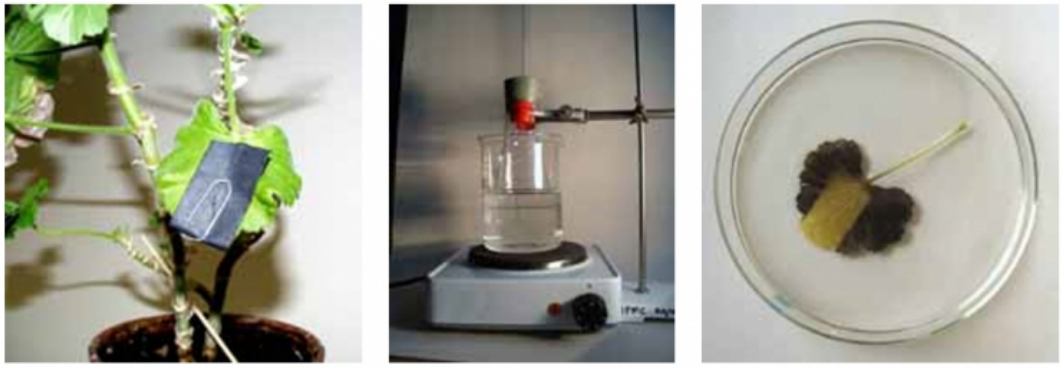


Figure 10 - Mise en évidence, en travaux pratiques, de la synthèse d'amidon par les feuilles
À gauche : sur un pied de pélargonium une partie d'une feuille est masquée par du papier noir et est vivement éclairée.
Au centre : la feuille est décolorée par de l'éthanol bouillant, un réfrigérant permet d'éviter les vapeurs éthyliques (prévoir un récipient d'eau froide en cas d'ébullition exagérée et utiliser un système de chauffage électrique et non pas à gaz).
A droite : la feuille plongée dans une boîte de Pétri contenant du lugol développe une coloration bleu-noir uniquement dans les parties éclairées, elle y a donc synthétisé de l'amidon.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)



Figure 11 - Zone de production de la matière organique dans une feuille panachée
Même expérience réalisée sur une feuille panachée.
À gauche : Dans une feuille de coleus, la partie extérieure est verte (chlorophylles), la partie intérieure est rouge (anthocyanes) et la zone intermédiaire est brune, en raison de l'association des deux types de pigments photosynthétiques (anthocyanes et chlorophylles).
À droite : Après exposition à la lumière, décoloration à l'éthanol bouillant puis coloration par le lugol, les régions vertes et brunes

sont colorées en bleu-noir, elles ont donc synthétisé de l'amidon.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Conclusion : la synthèse de matière organique (ici amidon) se réalise uniquement dans les régions vertes des feuilles lorsqu'elles sont éclairées.

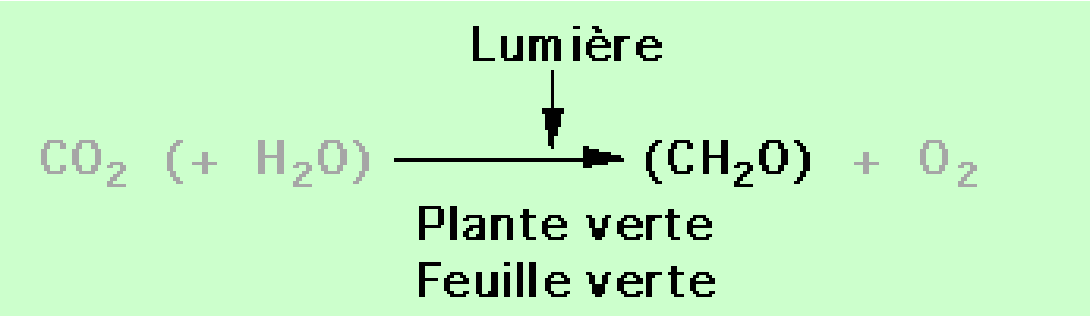


Figure 12 - Bilan de la production de matière organique de la photosynthèse

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

3.3. Expérience 3 : synthèse d'amidon par les chloroplastes

Pour obtenir des informations sur la localisation de la synthèse d'amidon à la lumière, on utilise une plante aquatique, l'élodée du Canada, dont la feuille est constituée seulement de deux assises de cellules. Ceci permet l'observation aisée des chloroplastes en microscopie photonique.

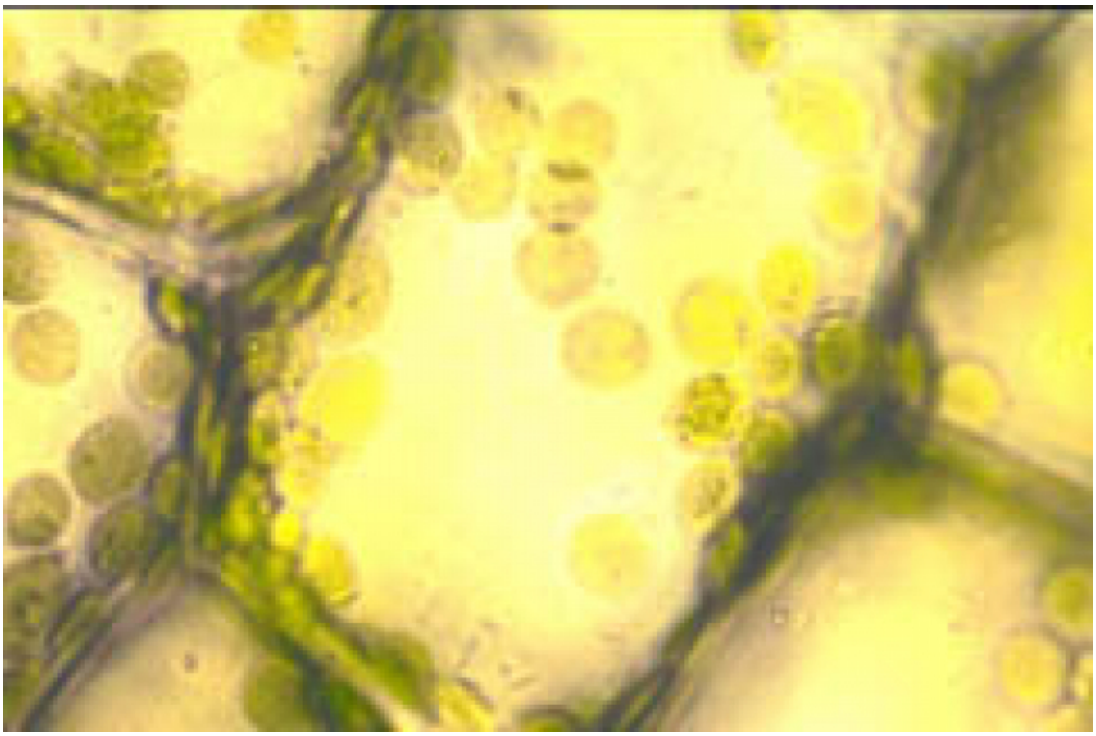


Figure 13 - Observation des chloroplastes de l'Elodée au microscope photonique
Les chloroplastes apparaissent sous forme de grains vert-jaunes, ovoïdes, localisés essentiellement sur les pourtour de la cellule végétale.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Les feuilles d'élodée sont cultivées à la lumière pendant 12 heures en présence d'hydrogénocarbonate à 1 % (source de carbone). Elles sont observées telles quelles (A) ou après coloration par le lugol, réactif spécifique de l'amidon (B).

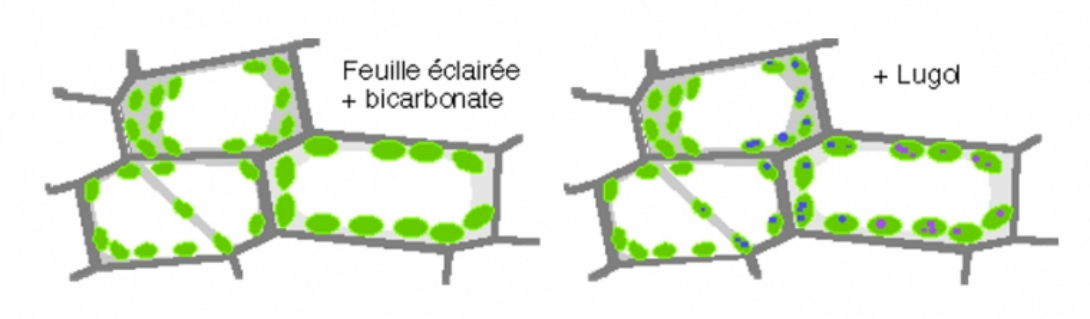


Figure 14 - Observation microscopique d'une feuille cultivée à la lumière pendant 12 heures en présence d'hydrogénocarbonate à 1 %
A gauche : observation sans coloration.
A droite : observation après coloration au lugol, réactif spécifique de l'amidon.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Dans certaines parties de la feuille, des grains bruns apparaissent dans les chloroplastes. La couleur brune (au lieu du bleu caractéristique de l'amidon) est due aux couleurs parasites (vert du chloroplaste et jaune du lugol).

Conclusion : la synthèse d'amidon (glucide) se réalise, à la lumière, en présence de dioxyde de carbone dans les chloroplastes des cellules chlorophylliennes.

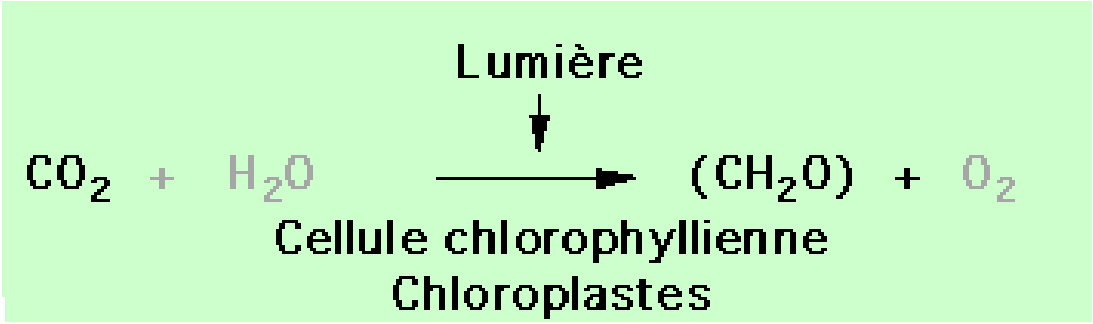


Figure 15 - Bilan carbone de la photosynthèse

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

4. Études en ExAO de la photosynthèse

Les matériels ExAO, présents aujourd'hui dans tous les lycées, permettent de réaliser quelques expériences simples sur la photosynthèse. On utilise, dans tous les cas présentés ici, un montage simple (voir figure ci-dessous).

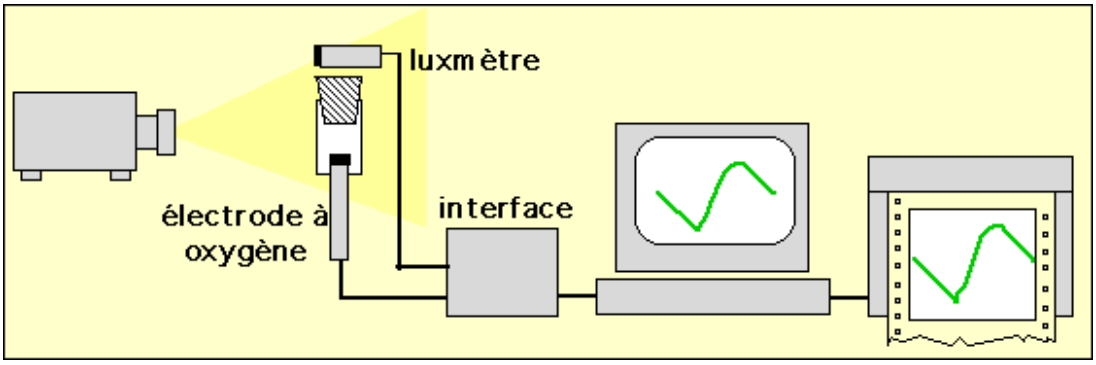


Figure 16 - Montage ExAO

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Le détail des matériels et logiciels utilisés est, bien entendu, fonction de ce qui est disponible dans votre établissement.

Matériel biologique : chlorelles (algues vertes unicellulaires) ou d'autres algues comme *Senedesmus* qui peuvent remplacer avantageusement les chlorelles (moins mobiles, elles se prêtent mieux aux numérations sur cellules de Malassez) toutes deux disponibles chez Algobank, banque de microalgues à l'université de Caen), élodée ou cabomba (ces deux plantes se trouvent

facilement dans les magasins d'aquariophilie).

4.1. Expérience 1 : photosynthèse nette et photosynthèse brute

4.1.1. Principe

La cuve du bioréacteur est remplie de chlorelles, algues vertes unicellulaires, ou de fragments de feuilles d'élodée ou de cabomba, en présence d'hydrogénocarbonate de sodium (source de carbone). On effectue une séquence obscurité / lumière / obscurité, en mesurant la concentration en oxygène du milieu.

4.1.2. Astuces pour réussir l'expérience

Lorsque l'on utilise l'élodée, il est important de prélever des feuilles jeunes (près de l'apex). Le cabomba donne aussi de bons résultats, mais il est alors fondamental d'opérer à une température d'environ 25 °C. De manière générale, une température trop froide du milieu nuit gravement à la réussite de l'expérience.

L'hydrogénocarbonate est indispensable pour espérer observer de la photosynthèse. Ne pas hésiter à en verser quelques millilitres en plus dans la cuve du bioréacteur si ça ne « démarre » pas…

Enfin, il faut se rappeler que cette expérience marche mieux au printemps qu'en plein mois de janvier… Mais avec de bonnes élodées, dans de bonnes conditions, on voit en général toujours quelque chose.

4.1.3. Résultat

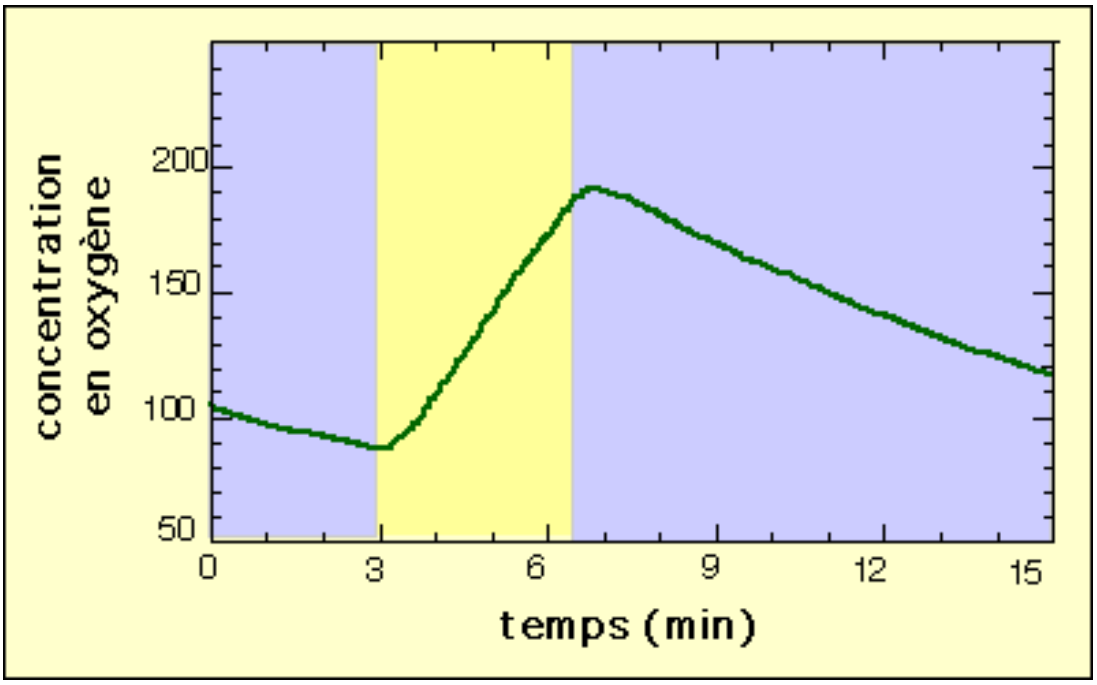


Figure 17 - Résultats d'une expérience d'ExAO sur la photosynthèse
Dans la cuve du bioréacteur, la concentration en oxygène diminue pendant les périodes d'obscurité (en violet sur le graphique) et augmente pendant la période d'éclairement (en jaune).

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

4.1.4. Interprétation

Pendant les périodes obscures, la concentration en dioxygène diminue : cette consommation en dioxygène est due à la respiration des cellules.

Pendant la période lumineuse, la concentration en dioxygène augmente : cette production de dioxygène est due à la photosynthèse.

En fait, pendant la période lumineuse, la respiration et la photosynthèse se déroulent simultanément. La production de dioxygène correspond à la photosynthèse nette, résultat de la différence entre la photosynthèse brute et la respiration.

- Photosynthèse brute (PB) = dioxygène produit par la photosynthèse
- Respiration (R) = dioxygène consommé par la respiration
- Photosynthèse nette (PN) = dioxygène produit réellement.

PN = [PB – valeur absolue (R)]

La photosynthèse nette est le plus souvent positive (PB >> R).
Dans le cas de faibles intensités lumineuses elle peut être nulle (PB = R) ou même négative (PB < R).
Lorsqu'elle est nulle (PB = R donc PN = [PB – R] = 0), on parle de point de compensation.

4.2. Expérience 2 : rôle de l'éclairement sur la photosynthèse

La cuve du bioréacteur est remplie de fragments de feuilles d'élodée en présence d'hydrogénocarbonate de sodium (source de carbone). Le but de l'expérience est ici d'observer l'effet d'un éclairement plus ou moins important sur la photosynthèse, mesurée par un dégagement de dioxygène.

On mesure la variation de la concentration en dioxygène du milieu à l'obscurité (2 minutes), puis à la lumière. On répète plusieurs fois l'expérience, en faisant varier la luminosité (en plaçant la source de lumière d'abord loin de la cuve, puis en la rapprochant de plus en plus).

Conclusion : plus l'éclairement est important, plus la photosynthèse est importante. Ceci montre que la lumière est nécessaire à la réalisation de la photosynthèse.

4.3. Expérience 3 : rôle du dioxyde de carbone

La cuve du bioréacteur est remplie de chlorelles, algues vertes unicellulaires, ou de fragments de feuilles d'élodée.

On réalise dans un premier temps une séquence obscurité/lumière/obscurité dans un milieu sans CO_2, par exemple dans de l'eau distillée (ceci correspond donc à une répétition de l'expérience 1, mais sans ajout d'hydrogénocarbonate).

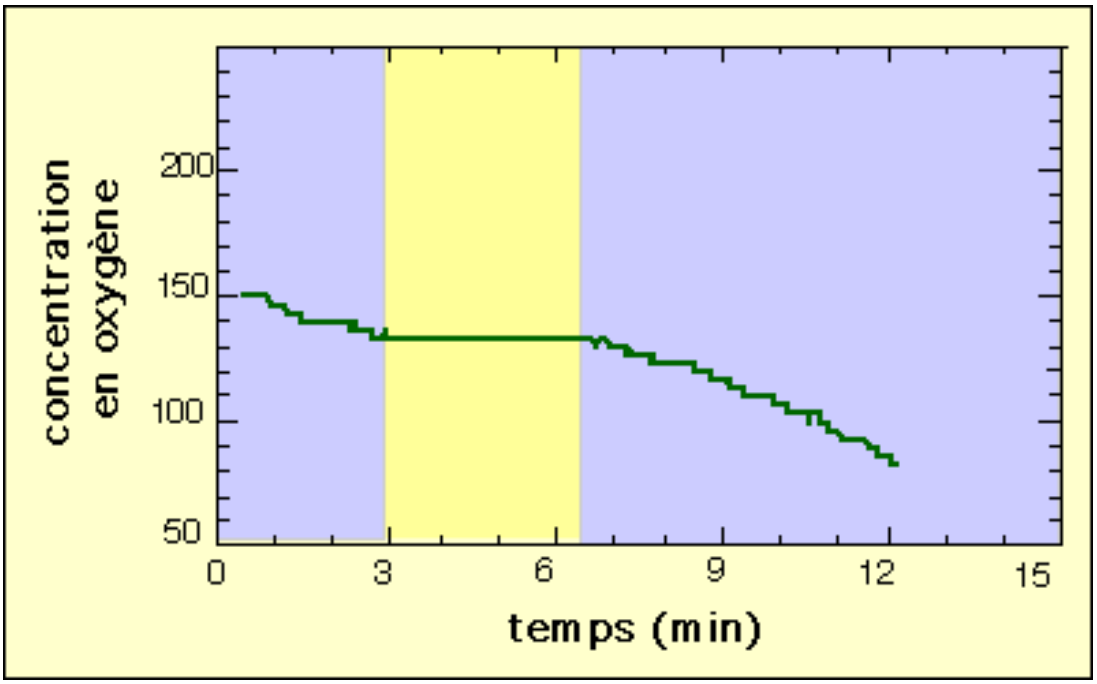


Figure 18 - Photosynthèse dans un milieu sans CO_2
Dans le bioréacteur, la concentration en dioxygène diminue pendant les périodes d'obscurité (en violet sur le graphique) et reste stable pendant la période d'éclairement (en jaune).

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Pendant la période d'obscurité, la concentration en dioxygène diminue (consommation de dioxygène due à la respiration) et pendant la période lumineuse, la concentration reste stable. Il n'y a pas de production nette de dioxygène en absence de CO_2, même sous un éclairage optimal.
Sans source de carbone, la photosynthèse dépend essentiellement de la production de CO_2 par la respiration. La photosynthèse brute est alors égale (ou inférieure) à la respiration (en valeur absolue). La photosynthèse nette est donc nulle.

Dans un deuxième temps, on réalise l'expérience suivante : la cuve est laissée à l'obscurité 2 minutes, puis éclairée, en absence de CO_2 (donc on n'observe pas de photosynthèse). Il suffit alors d'ajouter quelques gouttes d'hydrogénocarbonate à la solution d'incubation pendant la période d'éclairement pour observer une production intense de dioxygène.
Remarque : si le végétal « refuse » de photosynthétiser, c'est en général que l'ajout de CO_2 a été insuffisant ; répéter alors l'opération.

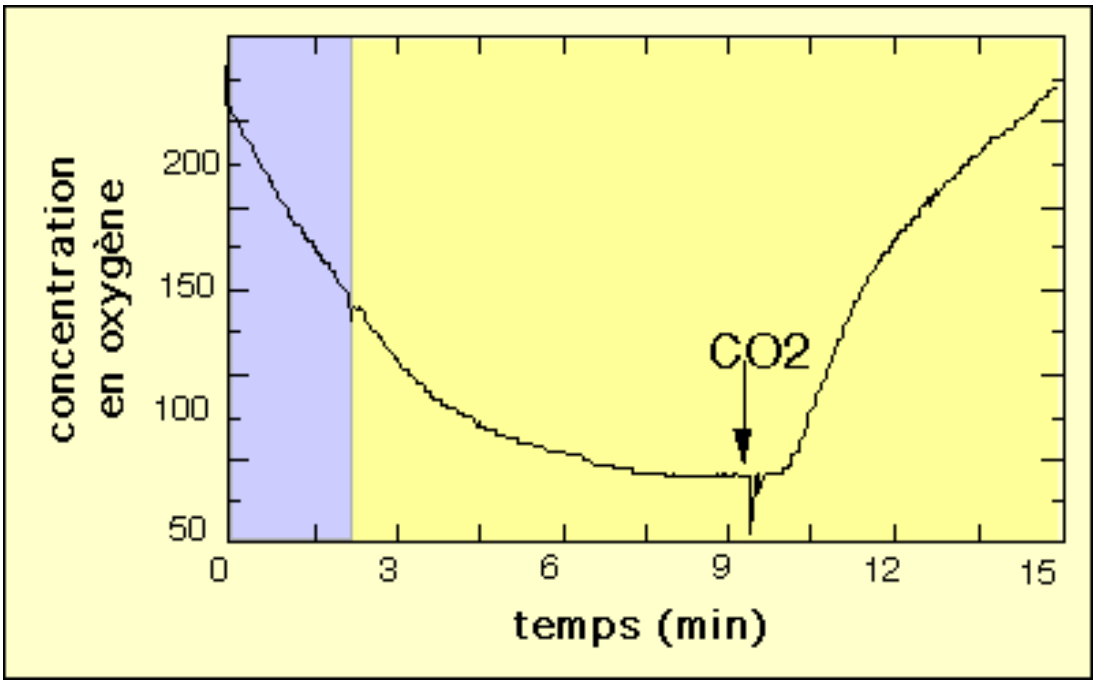


Figure 19 - Photosynthèse avec ajout de CO_2
Dans le bioréacteur la concentration en dioxygène diminue pendant la période d'obscurité (en violet), ainsi que pendant la période d'éclairement (en jaune), tant que l'on n'a pas ajouté d'hydrogénocarbonate (source de CO_2) à la solution d'incubation. Une fois cet ajout effectué, la teneur en dioxygène augmente intensément.

Auteur(s)/Autrice(s) : Roger Prat, Nicole Blanchouin, Véronique Vonarx, Jean-Pierre Rubinstein, Caroline Benlot – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Conclusion : La production de dioxygène à la lumière ne peut se réaliser qu'en présence de dioxyde de carbone. Cette expérience est complémentaire de celles réalisées sans ExAO sur l'autrophie au carbone.

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S)

Roger Prat

Professeur de physiologie végétale à l'université Pierre et Marie Curie.

Nicole Blanchouin

Membre de l’équipe Bmédia.

Véronique Vonarx

Travaille au sein de l'équipe BioMédia de l'université Pierre et Marie Curie.

Jean-Pierre Rubinstein

Botaniste à l'université Pierre et Marie Curie.

Caroline Benlot

Membre de l’équipe Bmédia.

MISE EN LIGNE

Gilles Furelaud

Professeur agrégé de SVT. Il a été le responsable éditorial du site Planet-Vie de 2001 à 2004.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

