# 17: La photosynthèse

La photosynthèse permet aux plantes, aux algues et à certaines bactéries d'utiliser la lumière comme source d'énergie. Les réactions primaires de la photosynthèse ont lieu dans des membranes spécialisées, comme les thylacoïdes des chloroplastes, qui contiennent des complexes composés de protéines, de chlorophylle et d'autres pigments. Ces complexes agissent ensemble pour scinder l'eau et produire de l'oxygène et des molécules riches en énergie comme l'ATP et le NADPH. Ces composés sont utilisés dans le métabolisme, et notoirement pour la transformation du CO<sub>2</sub> en composés organiques comme des sucres. Ces processus peuvent être résumés simplement par l'équation suivante :

A travers les chaînes alimentaires, la photosynthèse fournit presque la totalité de l'énergie de la biosphère. Elle produit aussi l'oxygène essentiel à la respiration, et permet la séquestration de CO2 présent dans l'atmosphère. On estime que les algues qui vivent dans les océans contribuent pour moitié à la fixation du CO2 par la photosynthèse au niveau global.

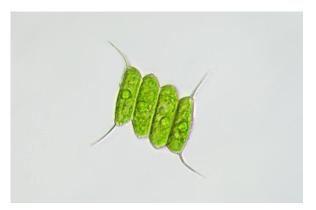
Dans cette expérience, vous allez observer comment la photosynthèse permet à des algues unicellulaires (Scenedesmus) de fixer le CO<sub>2</sub>. Dans l'eau, le CO<sub>2</sub> forme de l'acide carbonique qui abaisse le pH. Sa consommation par les algues fait donc augmenter le pH du milieu. En utilisant des indicateurs de pH colorés, il est donc possible d'observer indirectement la réaction de photosynthèse.

L'expérience se déroule en 2 étapes : la première consiste à fixer les algues dans des petites billes d'alginate puis de les tester en les exposant à la lumière. Ce protocole allie donc manipulations chimiques et test d'activité biologique.

#### L'algue Scenedesmus

L'algue *Scenedesmus* fait partie du genre des algues vertes. Ce sont des algues non-mobiles microscopiques qui mesurent de 5 à 30 µm. Elles sont généralement regroupées par quatre, formant ainsi une structure que l'on nomme cénobe. Pour cette expérience nous allons utiliser l'espèce *Scenedesmus quadricauda*, fréquemment utilisée comme modèle biologique.





Scenedesmus quadricauda

#### L'alginate de sodium

L'alginate de sodium est un composé extrait de certaines algues brunes, tel que *Macrocystis pyrifera* et autres Laminaria. Nous le connaissons sous forme d'une poudre blanchâtre, utilisé comme épaississant ou émulsifiant dans certains composés. Il est également utilisé en « cuisine moléculaire », permettant de détourner l'aspect originel d'un produit, comme par exemple confectionner des perles de sirop. L'alginate de sodium à la propriété de se gélifié instantanément, à froid, au contact d'ions Ca++

#### L'EXPERIENCE

### 1) Immobilisation des algues en billes d'alginate

Il est difficile de travailler avec des algues directement dans leur milieu de culture, c'est pourquoi, la première étape consiste à les emprisonner en billes d'alginate, ce qui permet non seulement de les conserver facilement, mais également d'avoir plus ou moins la même quantité de matériel pour effectuer l'expérience.

Vous allez recevoir une culture d'algues, une solution d'alginate de sodium, et une solution de chlorure de calcium.

- o Préparez un bain de calcium en versant 15 ml de chlorure de calcium dans un bêcher.
- Dans un Falcon 15 ml, mélangez à volume égal les algues et l'alginate de sodium. 1 ml de culture pour 1 ml d'alginate. Mélanger en pipetant. Cette quantité permet de former environ 80 billes.
- A l'aide la P1000, laisser tomber goutte à goutte votre solution d'algues dans le bain de calcium.
  Les billes se forment instantanément. (Afin d'obtenir de jolies billes, laisser la pointe de la pipette à environ 1 cm de la surface du liquide)
- Laisser les billes ainsi formées dans le calcium 5-10 minutes. Les billes devraient tomber au fond du bêcher.
- Vider le calcium dans l'évier et rincer les billes 2-3 fois à l'eau distillée en laissant décanter entre chaque lavage. Garder les billes dans un petit volume d'eau.



 Les billes peuvent se conserver plusieurs jours dans l'eau distillée, à la lumière, à une température d'environ 22°.



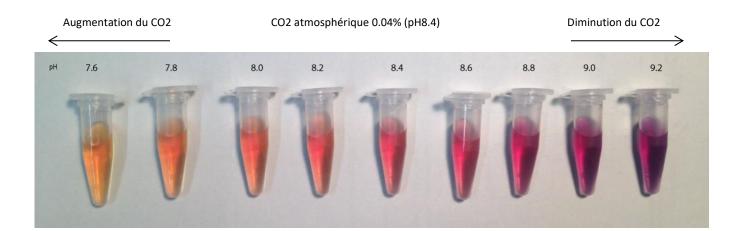
# 2) Préparation de la gamme de standards

Remarque : A préparer par l'enseignant avant le tp.

Vous recevez 9 tubes eppendorf avec une gemme de pH allant de 7.6 à 9.2 comme illustré ci-dessous. Chaque tube contient déjà 900 μl de la solution pH correspondante.

O Au moment de l'expérience, ajouter 100 μl d'indicateur pH 10x concentré dans chaque tube.

N.B : La gamme de standards est assez stable dans le temps, vous pouvez donc parfaitement utiliser la même pour plusieurs classes.





## 3) Préparation de l'indicateur pH 1x

Pour les diverses investigations, les billes vont être disposées dans plusieurs tubes contenant uniquement un indicateur pH 1x concentré.

- O Dans un contenant, mélanger 4 ml d'indicateur pH 10x et 36 ml d'eau distillée.
- Laisser agiter plusieurs heures (sans fermer le contenant) afin que l'indicateur s'équilibre à la concentration de CO2 atmosphérique. L'indicateur doit être rouge.

Note : L'indicateur pH 1x peut être préparé la veille du tp

### 4) Investigation lumière/obscurité

- o Prendre deux tubes eppendorf et ajouter dans chacun d'eux 1 ml d'indicateur pH 1x.
- o Ajouter le même nombre de billes dans chaque tube (une quinzaine) et le refermer.
- Laisser un des tubes près d'une fenêtre (pas trop chaud !) et envelopper l'autre dans du papier d'alu afin d'obscurcir totalement l'intérieur du tube.
- Observer et commenter les résultats 30-60 minutes plus tard.

Remarque: Vous pouvez utiliser d'autres sources lumineuses.

#### 5) Résultats et discussion

Exemple de résultats obtenus avec différentes sources lumineuses



Lumière forte directe > lampe de bureau > lumière d'ambiance > obscurité



# **Autres investigations possibles:**

Vous pouvez également vous amuser à tester d'autres conditions, comme la quantité d'algues, l'utilisation de filtres (en utilisant des fourres de couleur par exemple) ou encore la distance d'une même source lumineuse.

## Stockage du matériel :

Toutes les solutions se gardent à température ambiante.

La culture d'algue ainsi que les billes formées se gardent également à température ambiante. Préférez un endroit lumineux mais pas trop chaud (éviter l'exposition directe derrière une vitre)

