

II. Ex. d'anabolisme de molécule énergétique : la Photosynthèse

Principe de la photosynthèse

a) Les échanges gazeux nutritifs sont à l'inverse des échanges respiratoires

- Définition des échanges gazeux nutritifs : permettent la croissance des organismes autotrophes à partir de matière carbonée minérale CO_2 et d'énergie, lumineuse chez les photosynthétiques (plantes vertes et bactéries chlorophylliennes)
- Aspect qualitatif des échanges gazeux nutritifs : absorption de CO_2 et rejet de O_2 nécessitant de la lumière
- Conséquences directe de la photosynthèse : apparition d'amidon dans les chloroplastes, circulation de saccharose dans la sève élaborée

b) Les pigments chlorophylliens absorbent dans le bleu et le rouge

- Pigment caractéristique des plantes vertes
- Absorbe les radiations dans le bleu et le rouge ce qui lui donne sa couleur verte
- Problème : est-ce que cette molécule absorbe l'énergie correspondante?

c) Bilan apparent de la photosynthèse

- En première analyse, la photosynthèse serait :
 - une capture de l'énergie du rayonnement solaire et
 - son stockage sous forme de composés chimiques (type amidon) ayant une énergie potentielle

$6 \text{H}_2\text{O}$ (entrant au niveau des racines par osmose : suit les potentiels hydriques de plus en plus négatifs) + 6CO_2 (absorbé par les stomates des feuilles et à travers la cuticule, circule entre les méats dans toute la mésophylle) donnent en présence de chlorophylle des thylakoïdes des chloroplastes et de photons de haute énergie ($h\nu > 675 \text{ kcal}$) 6O_2 émises par les feuilles (au niveau des stomates) + $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (puis saccharose remis en circulation ou amidon stocké dans les chloroplastes)

d) Une des étape limitante de la photosynthèse ne nécessite pas de lumière

- Méthode d'étude : Etude du rendement : CO_2 assimilé/énergie absorbée, en lumière intermittente (disque percé tournant à grande vitesse)

- Résultats : le rendement est maximum pour
 - des éclairs de 10^{-5} s
 - séparés par des périodes obscures de $2 \cdot 10^{-2} \text{ s}$.

Il n'est pas rentable d'augmenter la durée d'éclairement (10^{-4} s)

- Interprétation : Il existe donc 2 phases distinctes de la photosynthèse :
 - une phase qui nécessite de la lumière (anciennement appelée phase lumineuse)
 - une phase qui ne nécessite pas de lumière (anciennement appelée phase obscure)

A. Première phase de la photosynthèse : conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique (dans les membranes de thylakoïdes)

1- Les pigments chlorophylliens : des récepteurs d'énergie photonique

a) Mise en évidence de l'intervention des pigments chlorophylliens

- Diversité des spectres d'absorption des pigments végétaux : chlorophylles a, b, caroténoïdes etc.
- Chlorophylle "a" la plus répandue chez les végétaux; absorbe dans $\lambda = 430$ et 680 nm
- Phycoérythrine et phyco cyanine chez les cyanobactéries absorbent dans $\lambda = 540$ et 630 nm
- Comparaison du spectre d'absorption et de l'intensité photosynthétique
- L'énergie utilisée par la photosynthèse est celle captée par les chlorophylles (on a répondu à la question du début)
- Par contre, pas de superposition avec les spectres des autres pigments : problème = les autres pigments n'interviendraient pas?

b) Notion d'énergie photonique

b1) Notion de photon :

- est un quantum d'énergie porté par une onde électromagnétique
- a pour origine les réactions thermonucléaires solaires :
 4H donnent $\text{He} + 2\text{e}^- + \text{h}\nu$
- l'énergie du photon $W = h\nu = hc/\lambda$
- avec $c = 3.10^8 \text{ ms}^{-1}$ et
- $h =$ constante de Planck = $6.62.10^{-34} \text{ Js}$ (donc $hc=19.8 \cdot 10^{-26}$)
- Dans le bleu $\lambda = 430 \text{ nm}$; $W = 280 \text{ kJmol}^{-1}$ et $\Delta E^\circ = -2.9 \text{ eV}$
- Dans le rouge $\lambda = 660 \text{ nm}$; $W = 180 \text{ kJmol}^{-1}$ et $\Delta E^\circ = -1.9 \text{ eV}$
- $\Delta rG^\circ = -96.5 \Delta E^\circ$ ΔE° s'exprime en électron Volt (eV)

b2) Conversion d'énergie photonique en énergie électronique au niveau d'un atome donneur (ex. la chlorophylle a)

- L'atome excité subit diverses modifications telles que :
 - modification des distances atomiques
 - augmentation de l'énergie rotative des électrons
 - augmentation de l'énergie vibratoire
 - Ces modifications conduisent à des pertes thermiques
 - L'électron possède de l'énergie $E = a - b/2r$ avec r : rayon de l'orbite de Bohr, discontinue
 - Un atome est activé par changement d'orbite d'un e-
 - Au repos, l'atome a le niveau énergétique stable le plus bas possible : c'est l'état fondamental
 - Excité par un photon, l'électron change d'orbite et passe dans un nouvel état :
 - état singulet excité instable (en 10^{-11} s); l'électron revient sur son orbite (en 10^{-10} s) en restituant l'énergie sous forme de **chaleur** ou de **fluorescence** dans une longueur d'onde supérieure (énergie moindre : avec $h\nu' < h\nu$)
- Etude du spectre de fluorescence de la chlorophylle a en solution dans l'éther :
fluorescence dans le rouge sombre ($\lambda = 670 \text{ nm} = -1.7 \text{ eV} = 164 \text{ kJ}$) quelque soit le photon activateur (rouge ou bleu de plus haute énergie donc le rouge est plus économique)
- état triplet excité métastable; le retour à l'état fondamental se fait en un temps plus long (10^{-4} à 10^{-3} s). Le retour s'effectue par phosphorescence dans une

longueur d'onde supérieure (énergie moindre : avec $h\nu < h\nu'$) ou par transfert d'énergie sur un accepteur : c'est la **photosensibilisation**

b3) La photosensibilisation permet l'utilisation de l'énergie électronique dans des réactions chimiques

- L'énergie restituée pour une conversion externe est de **1,35 eV in vitro** mais de **1 eV** seulement in vivo

2- Les photosystèmes : lieu de la conversion de l'énergie externe en énergie électronique

a) L'antenne collectrice de photons permet, par photosensibilisation de la chlorophylle a, le départ d'un électron

a1) Mise en évidence d'une synergie entre photons de longueurs d'ondes différentes : Effet Emerson

- Expérience : on applique à des chlorelles (algue unicellulaire ayant un seul chloroplaste riche en chlorophylle b) des quantités d'énergie lumineuses telles que :

- en éclairage à 700 nm on obtient une intensité I
- en éclairage à 650 nm on obtient la même intensité I
- Si on applique 50% de l'éclairage en 700 nm et 50% en 650 nm, on obtient une intensité photosynthétique $I' \gg I$

- Interprétation :

- Le mélange des longueurs d'ondes est plus efficace : il existe une synergie entre petites et grandes longueurs d'ondes du rouge
- Cet effet **Emerson** traduit l'existence de 2 photorécepteurs (appelées PSI et PSII) couplés *cf fiche complémentaire "Effet Emerson" jointe*

a2) Il existe 2 types de photosystèmes

- L'étude des agglomérats des membranes de thylakoïdes et par isolement des complexes (par détergents) on a trouvé PSI et PSII

- **PSI** est le seul présent chez les bactéries (le plus fondamental); il est constitué de :

- 1 chlorophylle a absorbant à **700 nm** (longueur d'onde maximale du système)
- 200 chlorophylles a absorbant à 680 nm
- 20 chlorophylles a absorbant 670 nm
- Chlorophylles b absorbant à 650 nm, plastocyanines et cytochrome F

- **PSII** est constitué de :

- 1 chlorophylle a absorbant à **680 nm** (longueur d'onde maximale du système)
- 120 chlorophylles a absorbant à 660 nm
- 120 chlorophylles b absorbant 650 nm
- Carotène, plastoquinones et manganèse Mn^{2+}

a3) Photosensibilisation de la Chla680

- Etude des spectres de fluorescence des pigments en solution dans l'éther :

- La chl**b** éclairée à 450 nm fluoresce à **650 nm**.
- La chl**a** éclairée à 450 nm fluoresce à **670 nm**.
- Si on associe **Chla + chlb**, éclairées à 450 elles fluorescent uniquement à **670 nm**, longueur d'onde de fluo. de la chla.
- On en conclue que chl**b** peut transmettre l'énergie qu'elle absorbe à chl**a**
- ceci est possible du fait que la fluo. de chl**b** se fait dans la longueur d'onde d'absorption de chla.

- Etude 3D de l'antenne collectrice de photons :
 - les molécules pigmentaires associées à des lipoprotéines sont très proches au sein d'un photosystème
 - La transmission d'énergie se fait par un phénomène de résonance extrêmement rapide (10^{-10} s) qui concerne l'état singulet : le rendement énergétique est très élevé (95%)
- Structure de la chl a favorable au départ d'un électron :
 - nombreuses liaisons c=c conjuguées du noyau tétrapyrrol (et chaîne phytol)
 - donc nombreux électrons π facilement arrachables (entrent facilement en vibration)
 - l'électron arraché est pris en charge par un accepteur
 - La chl a récupère un électron inactivé venant d'un donneur D en 10^{-9} s. L'écart de temps entre la restitution d'un e- par D et la durée du phénomène de résonance (10^{-10} s) permet une fluorescence entropique

b) Le donneur d'électrons est l'eau; l'accepteur est une quinone ou du Fer (sel ferrique Fe³⁺)

b1) Mee d'un dégagement artificiel d'O₂ sur des fragments de thylakoïdes : Réaction de Hill (1937)

- Expérience : des chloroplastes isolés ou des fragments de thylakoïdes exposés à la lumière en absence de CO₂ mais en présence d'un oxydant (sel ferrique Fe³⁺ ou quinone) montrent un dégagement d'O₂ (mis en évidence par oxymétrie ou ajout d'Hb qui devient HbO₂ suivi en spectroscopie)

b2) L'O₂ dégagé provient de l'eau : exp. A H₂¹⁸O de Ruben et Kramen (1941)

- Expérience : cultures d'algues vertes en présence d'eau marquée à ¹⁸O. L'O₂ dégagée est à ¹⁸O
- Interprétation : il y a oxydation photochimique de l'eau

b3) Bilan de la photolyse de l'eau:

- La molécule d'eau est lysée par aspiration thermodynamique grâce à l'arrachage d'électrons de la chlorophylle a 680 du PSII (nécessite Mn²⁺) et de PSI par conversion externe de l'énergie de photons. Les électrons sont pris en charge par un accepteur : une quinone ou un sel ferrique Fe³⁺

3- Conversion de l'énergie électronique en énergie chimique : photophosphorylations et réduction des coenzymes

a) La photophosphorylation acyclique nécessite les 2 types de photosystèmes

- Modélisation selon les potentiels électroniques (Arnon 1954) : image du billard électronique
- Principe :
 - sous l'impulsion d'un photon, un électron remonte 0.9 ou 0.95 eV
 - spontanément, un électron redescend 0.4 eV
- Commentaires :
 - Le passage de PSII à PSI met 10 ms
 - Il faut 2 impulsions successives pour atteindre un niveau d'énergie potentielle électronique suffisant pour réduire l'accepteur final : NADP⁺
 - La plastoquinone PQ est un tampon à électrons: elle est 7 fois plus abondante que PSII et peut stocker des électrons si PSI est insuffisant; c'est aussi un véritable transporteur mobile dans la membrane du thylakoïdes (comme l'ubiquinone mitochondriale; cf. cours suivant) qui distribue les électrons aux PSI environnants

b) La photophosphorylation cyclique : un mécanisme primitif

- Mise en évidence expérimentale : on utilise un inhibiteur de la Quinone : le DCMU
- Physiologiquement : elle a lieu quand le PSII est bloqué (en absence de Mn^{2+} par ex., ou en milieu réducteur) ou quand le $NADP^+$ n'est pas régénéré
- Chez les bactéries photosynthétiques : c'est le seul mécanisme existant; PSI fonctionne avec la bactériochlorophylle b qui absorbe dans les infrarouges (longueur d'onde $\lambda = 890$ nm); le donneur d'électron n'est en général non pas l'eau mais SH_2 ou une molécule organique dont les électrons sont transmis au PSI par l'intermédiaire d'un transporteur intracellulaire : un cytochrome

c) Modélisation et Bilan énergétique de la 1^{ère} étape de la photosynthèse

- Méthodes d'étude :
 - Par résonance paramagnétique nucléaire, on peut suivre l'état de Mn
 - Par RMN, on peut suivre les protons en solution
 - Par spectroscopie optique et diffraction aux RX, on peut suivre les variations de compositions chimiques et d'arrangements 3D des molécules
- Modèle 3D : par Pierre Juliot (1969)
- Bilan :
 - la libération d'une mole d' O_2 par phosphorylation acyclique nécessite 4 électrons soit 8 photons;
 - on obtient 2 ATP et 2 $NADPH+H^+$ (attention : le coenzyme $NADP^+$ doit être recyclé pour permettre à la photosynthèse de se poursuivre dans des conditions normales)
- Par phosphorylation cyclique, on peut obtenir des ATP supplémentaires (1 ou 0,5 par photon) disponibles pour la photosynthèse ou le métabolisme

B. La deuxième phase de la photosynthèse élabore de la matière organique (carbonée) à partir de CO_2 dans le stroma des chloroplastes, sans nécessité de lumière

- Rappel du bilan global de la photosynthèse :
 $6CO_2 + 12 H_2O + 48 hv$ donnent $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O$
- CO_2 est une forme très oxydée du C : son utilisation nécessite des réactions endergoniques, à coupler avec des réactions exergoniques : consommation de l'ATP formé durant la première étape de la photosynthèse

1- Mise en évidence d'intermédiaires métaboliques

a) Absorption direct du CO_2 gazeux : méthode des éclaircissements brefs

- Rappel de la structure d'une feuille
- Dans les lacunes des feuilles, le CO_2 pourrait se transformer lentement en HCO_3^- en présence d'eau (vapeur); hors, même pour un éclaircissement bref, CO_2 est très rapidement et abondamment utilisé donc il est accepté directement, sans passer par l'état HCO_3^- .

b) Mise en évidence d'intermédiaires métaboliques : utilisation d'inhibiteurs

- L'inhibition de la chaîne métabolique photosynthétique qui participe à la synthèse des glucides bloque la pénétration de CO_2 : on en déduit que c'est donc le CO_2 qui fournit le C utilisé dans la synthèse de glucides
- Certains inhibiteurs spécifiques d'une étape de la chaîne métabolique de synthèse des glucides provoquent l'accumulation de produits "en amont" du maillon bloqué : on peut ainsi connaître les intermédiaires métaboliques (mais pas leur ordre d'apparition)

c) Détermination de l'ordre d'apparition des intermédiaires : méthode des marquages courts

- Technique : Ruben et Kramen (1941) puis Calvin (1949-1952)
- Matériel d'étude : des chlorelles
- Principe ; on fournit du CO₂ marqué au ¹⁴C pendant une durée fixée (comprise entre 1 et 15 s); les produits obtenus pendant cette durée sont fixés chimiquement; on les trie par chromatographie sur papier; par autoradiographie, on repère les produits marqués au ¹⁴C pour chaque expérience (1 s, 2s...) : on détermine ainsi l'ordre d'apparition des différents intermédiaires métaboliques
- Résultats : Le premier produit formé est l'ac3Pglycérique (une molécule en C3) à partir de ribulose1-5biP (une molécule en C5)

2- Le cycle de CALVIN : obtention de glucides par réduction du CO2 et utilisation de l'énergie chimique de la première phase photosynthétique

a) Cycle simplifié

- cycle simplifié :

Ribulose1-5diP + CO₂ donne 2 acides3Pglycériques qui seront phosphorylés par 2 ATP en ac1-3diPglycériques puis réduits par 2 NADPH₂ en 2 triosesP : Glycéraldéhyde3P et DihydroxyacétoneP. Un des trioseP perd un Pi et réassociation en Ribulose 1P qui se fait phosphoryler par un ATP pour redonner Ribulose15BiP (par phosphate ribulose kinase)

- Dans la réalité : succession de 3 cycles avec des intermédiaires en C3, C5, C7 etc.

b) Le cycle de Calvin : plaque tournante du métabolisme

- Synthèse d'acides aminés à partir d'acide3Pglycérique, par incorporation d'azote minéral provenant de la sève brute (nitrates)
- Synthèse de lipides : d'acides gras à partir de l'ac3Pglycérique; de glycérol à partir de triosesP
- Synthèse de glucides : sous forme de saccharose circulant ou d'amidon stocké directement dans les CP. Peut éventuellement fonctionner en surgénérateur en constituant d'avantage de RudiP en cas de fort ensoleillement

c) La photorespiration : dérivatif des plantes en C3

La RUBISCO peut fonctionner soit en carboxylase, soit en oxygénase (fonctions des pressions partielles en O₂). En cas de forte présence d'O₂, il y a compétition et la RUBISCO devient Oxygénase. Le cycle de Calvin est alors détourné vers la photorespiration cf. schéma

d) Cas des plantes en C4

- Chez certaines monocotylédones (ex poacées) l'organisation de la feuille est différente de celles des dicotylédones : on n'observe qu'un seul type de parenchyme (pas de parenchyme palissadique) et des stomates sur les deux faces (pas de dissymétrie dorso-ventrale). Une couche de cellules dite "gaine" périvasculaire (cf. TP de botanique en fin d'année) est nettement visible autour des veines. A ce niveau, un stockage temporaire du CO₂ est possible :

- incorporation du CO₂ la nuit quand la température est douce et que les stomates sont ouverts. Stockage sous forme de malate (molécule en C4!).
- De jour, les stomates se ferment quand la température externe augmente. Le fort ensoleillement est alors favorable à la photosynthèse qui se fait à partir du malate. Les

stomates étant fermés, il n'y a pas de compétition avec l'O₂ donc pas de photorespiration.

- Le rendement photosynthétique des plantes en C₄ est donc supérieur à celui des plantes en C₃.

C. Bilan de la photosynthèse

- Le cycle de CALVIN correspond à une réduction du CO₂ par l'hydrogène provenant de l'eau (hydrolyse de l'eau favorisée par la première phase de la photosynthèse)

- Compartmentation des CP est fonctionnement photosynthétique :

- Membrane interne des saccules imperméable à H⁺; ATP, NADP

- Membrane interne permet des échanges choisis : TrioseP et Pi par navette (antiport)

- BILAN GLOBAL de la photosynthèse :

- calculs très approximatifs dans les conditions in-vivo

- On considère que la 1ère étape de la photosynthèse nécessite, pour obtenir 2 moles ATP et 2 moles NADPH₂ :

- Pour la phosphorylation acyclique, il faut : 4 photons au niveau du PSII (dans le bleu, chaque photon fournit 280 kJmol⁻¹ soit 1120 kJ) et 4 photons au niveau du PSI (dans le rouge, chaque mole de photon fournit 180 kJ soit 720 kJmol⁻¹). Au total : 1840 kJmol⁻¹

(- Pour la phosphorylation cyclique, il faut 2 photons rouges fournissant 360 kJmol⁻¹)

- L'utilisation de 2 moles d'ATP et 2 moles de NADPH₂ au cours de la 2ème étape de la photosynthèse permet l'incorporation d'un CO₂; hors il faut 3 moles de CO₂ pour une mole de trioseP soit 1/ mole de Glucose. Donc 2 moles d'ATP et 2 moles de NADPH₂ permettent l'élaboration d'une mole de CHO₂H soit 1/6 de mole de Glucose dont l'énergie libre est 2820 kJmol

- Le rendement de la photosynthèse est donc :

- de $(2820/6) / 1840 \times 100 = 26\%$

- Dans les conditions cellulaires, le rendement doit être d'environ 30% vis à vis de l'énergie solaire reçue par les photosystèmes

- Vis à vis de l'énergie solaire reçue à la surface des feuilles :

- 10% sont réfléchis

- 27% sont transmis

- 63% sont absorbés dont :

- 17% de rayonnement thermique

- 45% en transpiration

- 1% pour la photosynthèse

- donc 0.3% de l'énergie solaire est exploité directement!

- Devenir des triosesP issus de la photosynthèse :

- Glucose utilisé dans le hyaloplasme pour fournir ATP dans mitochondries

- Ac3Pglycérique utilisé comme matière première aa, lipides

- Evacués sous forme de saccharose (non réducteur) : distribués dans le végétal vers organes puits = croissance (taille ou nombre d'organes) ou réserves (graines, tubercules etc.)