

TP 5 : Le rôle des pigments foliaires

Situation initiale : Seuls les organes « verts » d'un végétal sont capables de fixer le dioxyde de carbone quand la plante est éclairée. La chlorophylle est située dans les chloroplastes.

Questions : Quels sont les pigments contenus dans la chlorophylle et quels sont leurs rôles dans la photosynthèse ?

Matériel : chaîne Exao avec photoagréateur, mortier, pilon, sable fin, feuille d'épinard, alcool à 90°, entonnoir, filtre, éprouvette graduée avec bouchon à crochet, bécher, papier Wattman, solvant, pipette pasteur, papier aluminium, spectroscope à main.

I – Séparation des différents pigments d'une solution de chlorophylle brute

1 – Extraction de la solution.

- Placer dans un mortier un peu de sable fin. Ajouter les feuilles 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 l'obtention d'un liquide résiduel de couleur foncée.
- Filtrer le contenu du mortier de façon à obtenir la solution de pigments qui doit être foncée.
- Placer à l'obscurité.

2 – La chromatographie

- Préparer l'éprouvette : suspendre le papier à chromatographie à l'aide d'un crochet fixé sur un bouchon, le placer dans l'éprouvette pour repérer le niveau du solvant à mettre (le papier doit tremper d'un demi cm dans le solvant). Veiller à prendre le papier uniquement par les bords sans poser vos doigts sur la zone de migration.
- Retirer le papier, verser le solvant jusqu'au niveau repéré et fermer l'éprouvette sans le papier.
- Tracer un trait au crayon à 2 cm du bas de la bande de papier pour marquer l'emplacement du dépôt. Déposer la solution de pigments avec la pipette (ne pas hésiter à faire un gros dépôt).
- Superposer une dizaine de gouttes de la solution en séchant entre chaque goutte à l'aide d'un sèche-cheveux.
- 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 d'un cache noir et laisser migrer le solvant à l'obscurité pendant 15 minutes.

3 – Observations – Interprétations.

- Que remarquez-vous.
- Comment pouvez-vous l'interpréter ?

II – Le spectre d'absorption de la chlorophylle

1 – Protocole

- Pendant le temps d'attente de la migration, verser un peu de solution de pigments dans le tube d'un spectroscope manuel (la diluer si nécessaire).
- Le spectromètre employé est doté de 2 prismes afin de comparer le spectre de la lumière naturelle à celui de la lumière transmis au travers la solution de chlorophylle.

2 – Observation

- Observer et comparer les deux spectres obtenus.
- Les représenter

3 – Interprétations

- Quelles radiations lumineuses sont absorbées par la chlorophylle brute ?
- Pourquoi nomme-t-on les pigments chlorophylliens, des pigments photorécepteurs ?

III – Le spectre d'action

1 – Expérimentation assistée par ordinateur

Protocole (s'aider de la feuille « comment se servir de l'Exao »)

- Mettre une feuille d'Elodée dans de l'eau enrichie en hydrogénocarbonate dans le bioréacteur.
- Mettre en place la sonde à dioxygène.
- Laisser le montage « s'équilibrer » 5 minutes.
- Ensuite allumer l'éclairage et commencer les mesures. (durée totale de l'enregistrement : 10 minutes).
- Après 3 minutes d'éclairage, placer le bioréacteur à l'obscurité (couper l'éclairage) pendant 2 minutes.
- Puis placer un filtre rouge et allumer pendant 3 minutes.
- Remplacer ensuite le filtre rouge par un filtre vert jusqu'à la fin de l'enregistrement.

Résultats

- Décrivez l'enregistrement obtenu.

Interprétation

- Précisez les périodes où la photosynthèse est active.

Conclusions

- Reliez vos observations du TP pour établir un lien entre le spectre d'action photosynthétique et le spectre d'absorption de la chlorophylle.
- Donner le rôle des pigments foliaires.