

Rapport de physiologie végétale :
Influence de facteurs extérieurs
sur la photosynthèse

Table des matières :

1^{ÈRE} PARTIE : MESURE DE L'IMPACT DE VARIATIONS DE DIVERS PARAMÈTRES SUR L'ACTIVITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE D'UNE PLANTE AQUATIQUE : L'ÉLODÉE.	3
1) PHOTOSYNTHÈSE NETTE ET PHOTOSYNTHÈSE BRUTE	3
2) INFLUENCE DE LA TENEUR EN CO ₂	5
3) INFLUENCE DE L'INTENSITÉ LUMINEUSE	6
2^{ÈME} PARTIE : MESURE DE LA FLUORESCENCE DE LA CHLOROPHYLLE SUR DES FEUILLES DE MAÏS	7
1) MISE EN EVIDENCE DU STRESS AU FROID SUR LA FLUORESCENCE.....	7
2) MISE EN EVIDENCE DE L'EFFET DE L'ATRAZINE SUR LA FLUORESCENCE.....	8
CONCLUSION SUR LES FACTEURS INFLUENÇANT LA PHOTOSYNTHÈSE	9
3^{ÈME} PARTIE : TRAVAIL DE RECHERCHES PERSONNEL SUR LES CAROTÉNOÏDES.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.

1^{ère} partie : Mesure de l'impact de variations de divers paramètres sur l'activité photosynthétique d'une plante aquatique : l'élodée.

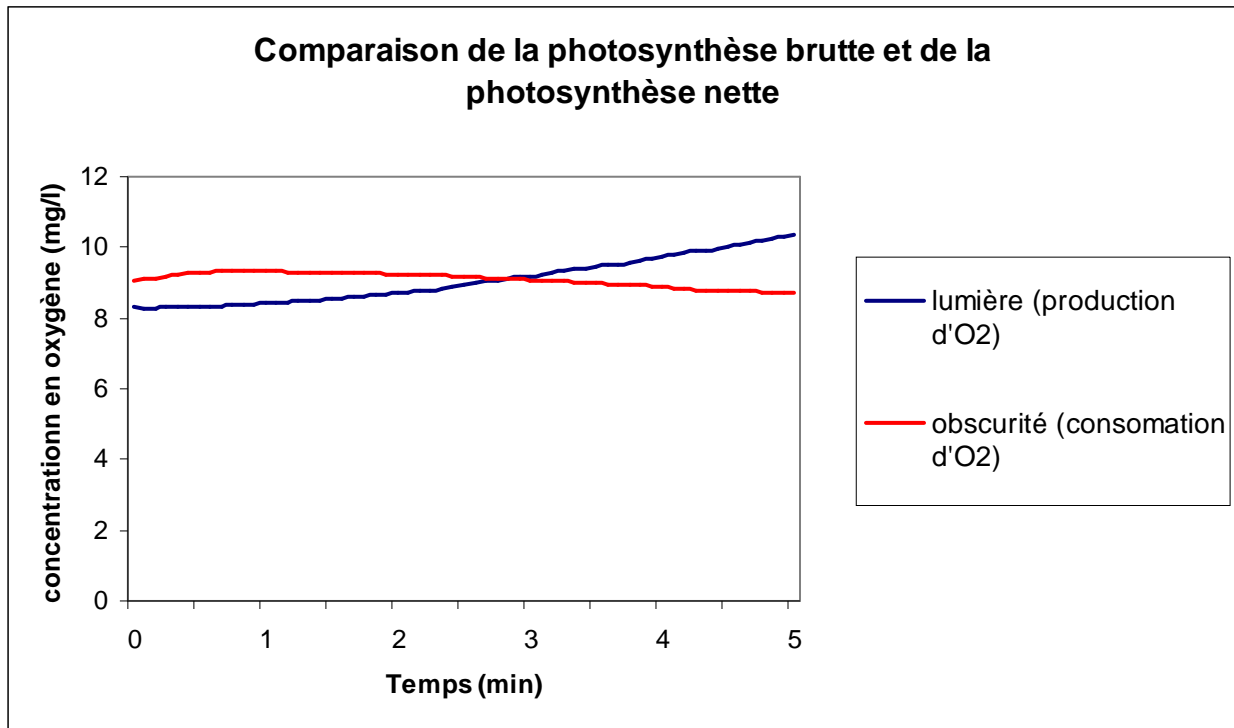
L'objectif de cette première partie est la mise en évidence de l'effet de la concentration en CO_2 et de l'intensité lumineuse sur l'activité photosynthétique. Les expériences sont réalisées sur des feuilles d'élodée du Canada, une plante oxygénante entièrement immergée.

Il est possible d'évaluer quantitativement la photosynthèse en mesurant la concentration d' O_2 produit. On dispose, pour cela, d'un oxymètre. L'oxymètre utilise une électrode à oxygène couplée à un dispositif électronique de mesure. L'électrode à oxygène est constituée par une cathode en argent et une anode en zinc reliées par une solution de sels conductrice. Cet ensemble est séparé du milieu à étudier par une membrane de téflon. Celle-ci est imperméable à l'eau et aux ions, ce qui garantit la constance de la concentration de la solution de sels, mais perméable à l'oxygène dissous dans le milieu. L'électrode est polarisée sous une tension de -0,65 volts. Dans ces conditions, l'oxygène est réduit en eau par les électrons délivrés par la cathode en argent. La solution de sels entièrement dissociés permet au zinc de l'anode de donner des électrons. Le courant produit est proportionnel à la concentration en oxygène de la solution de sels. A cause de la solubilité de la membrane de téflon à l'oxygène, cette concentration est en équilibre avec la concentration en oxygène dans le milieu et donc le courant est proportionnel, après un certain temps de latence, à la concentration en oxygène du milieu. Un module électronique approprié (convertisseur, adaptateur) transforme le courant produit en une tension proportionnelle à la concentration en oxygène du milieu qui l'entoure. Afin que les résultats obtenus soient cohérents, nous devons utiliser un agitateur magnétique qui augmentera la dissolution de l'oxygène dans l'eau.

1) Photosynthèse nette et photosynthèse brute

Pour étudier la photosynthèse nette et brute nous avons recours à l'expérience suivante : les feuilles d'élodée du Canada subissent des périodes d'obscurité et de lumière. Elles sont placées en présence d'une source de carbone (NaHCO_3). Préalablement, nous hachons finement les feuilles d'élodée afin d'augmenter le rapport surface/volume. La surface de contact entre la solution contenant du CO_2 (NaHCO_3) et la feuille d'élodée est donc plus grande et le carbone plus facilement absorbé. Hacher finement les feuilles donnera également une solution plus homogène. De plus, nous savons que l'élodée produit de grosses bulles d'air ce qui pourrait altérer le fonctionnement de l'oxymètre. Lorsque nous travaillons avec de très petits morceaux d'élodée les bulles produites sont petites.

Suite à l'analyse des données nous avons obtenu le graphe suivant :



La concentration en O₂ produite par les feuilles d'élodée diminue progressivement à l'obscurité. Nous pouvons calculer la quantité d'O₂ consommée durant la phase à l'obscurité : on prend deux points séparés par un intervalle de temps de 4 min (par exemple), on observe une consommation d'O₂ qui vaut 0,19 mg/l. Il suffit alors de diviser cette valeur par 4 pour obtenir la consommation par minute, à savoir : 0,048 mg/l/min d'oxygène. Durant cette phase d'obscurité, les feuilles ne reçoivent plus l'énergie des photons nécessaire pour exciter la chlorophylle des photosystèmes. La chlorophylle ne passant plus à un état excité, elle ne retombe plus dans l'état radical cation nécessitant un électron et donc la photolyse de l'eau n'a pas lieu et il n'y a pas production d'oxygène. La diminution de l'oxygène provient de sa consommation lors de la respiration cellulaire, processus toujours en activité même à l'obscurité. En effet, la respiration effectue le processus inverse de la photosynthèse : consommation d'O₂ et production de CO₂.

Inversement, la concentration en O₂ produite par les feuilles d'élodée augmente progressivement à la lumière. On a une augmentation de 0,58 mg/l d'O₂ dissous pour 4 minutes, ce qui donne un gain d'oxygène de 0,145 mg/l/min. Pendant la période lumineuse, la concentration en oxygène augmente : cette production d'oxygène est due à la photosynthèse. Les photons sont désormais accessibles aux chlorophylles et la photolyse de l'eau peut avoir lieu.

En fait, pendant la période lumineuse, la respiration et la photosynthèse se déroulent simultanément. La production d'oxygène correspond à la photosynthèse nette, résultat de la différence entre la photosynthèse brute et la respiration. La photosynthèse nette est égale à la quantité de carbone fixé (photosynthèse brute) moins les pertes liées à la respiration.

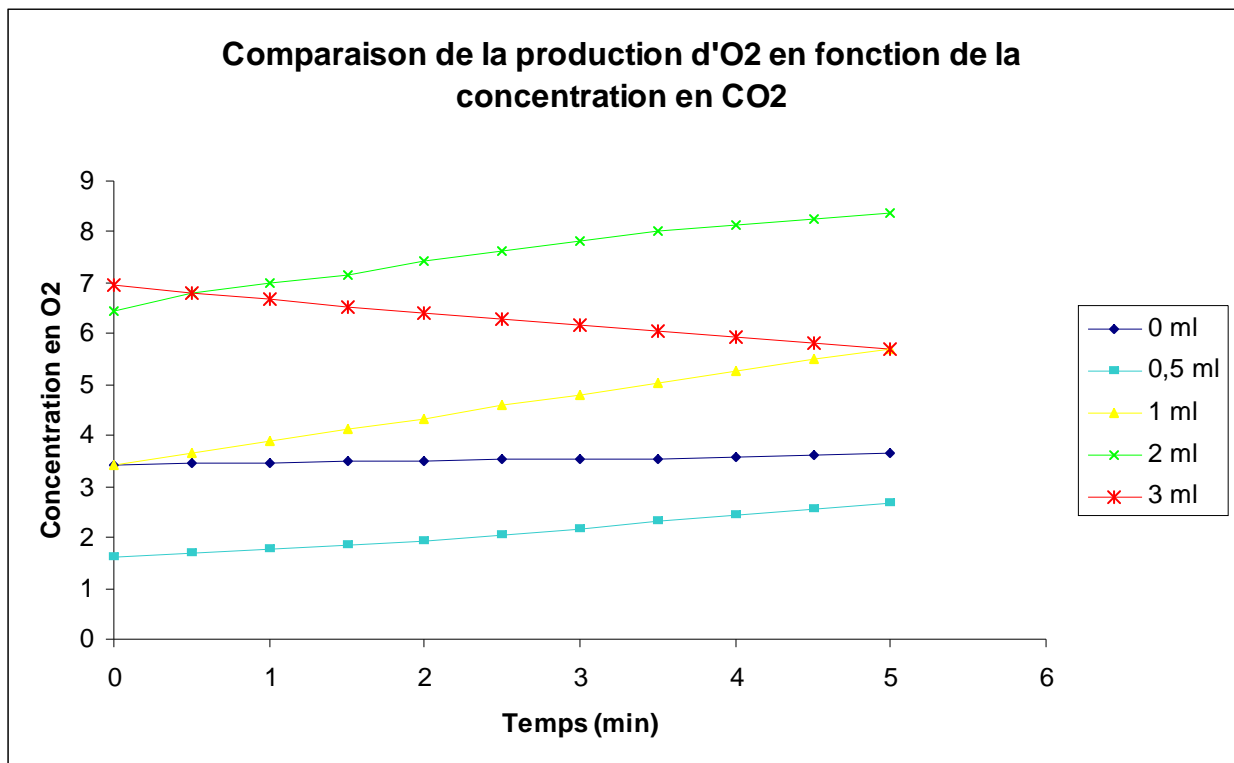
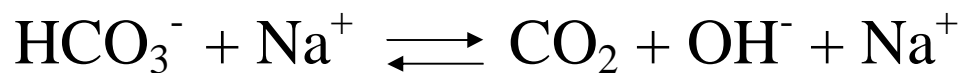
On sait que : - La respiration cellulaire consomme 0,048 mg/l/min d'O₂.

- La photosynthèse brute produit 0,145 mg/l/min d'O₂.

Donc, la photosynthèse nette produit $0,145 - 0,048 = 0,097$ mg/l/min d'O₂.

2) Influence de la teneur en CO₂

L'objectif de cette manipulation est d'observer l'importance du CO₂ sur le fonctionnement optimal de la photosynthèse. Pour cela, nous allons mesurer l'évolution de la concentration d'oxygène en absence de carbone, à la lumière ; la même expérience sera ensuite réalisée en présence de différentes doses de NaHCO₃. Ce dernier, soluble dans l'eau, est absorbé par la plante et converti en CO₂ selon la réaction :



Nous allons, ici, analyser les différentes courbes du graphique. Sur la courbe réalisée en absence de NaHCO₃, nous observons une légère augmentation de la concentration en oxygène. Ceci est probablement dû au fait que notre solution d'eau bouillie a été préparée trop longtemps à l'avance et aussi au fait que notre système n'est pas hermétiquement clos et que, dès lors, du CO₂ ambiant peut venir influencer nos mesures. Il faut aussi prendre en considération le CO₂ produit par la respiration cellulaire.

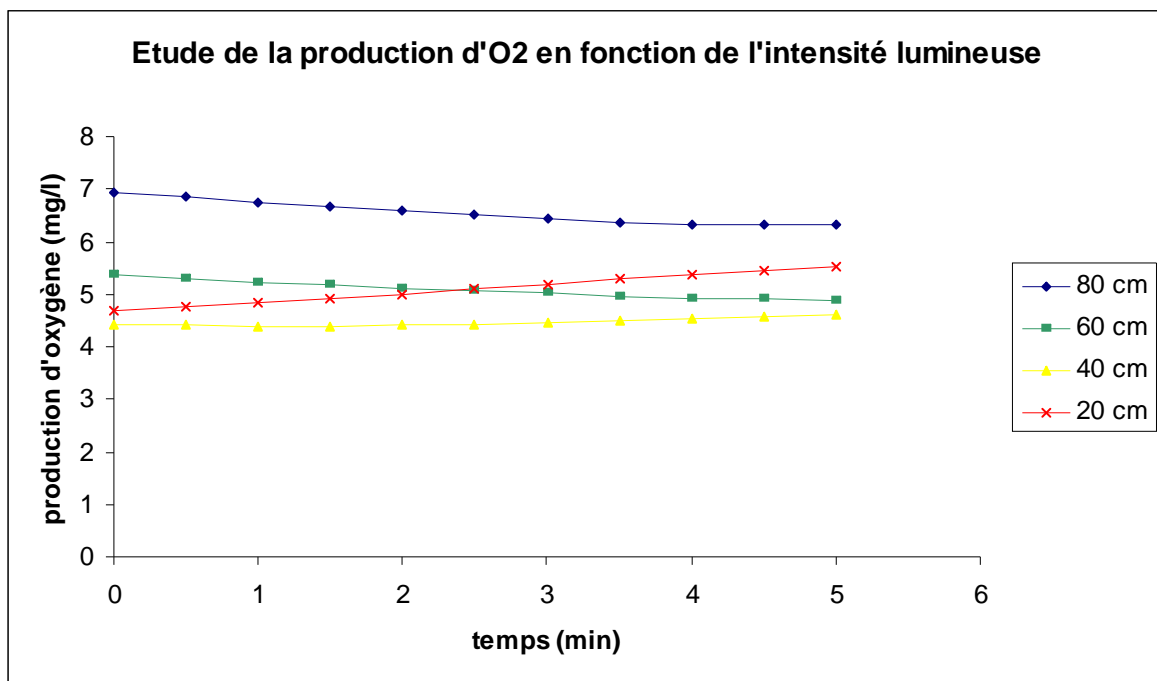
Lorsque nous introduisons du NaHCO₃, nous pouvons constater une production ou une consommation d'oxygène, que l'on peut quantifier :

- Ajout de 0,5 ml de NaHCO_3 : 0,81 mg/l pour 4 min \rightarrow 0,203 mg/l/min d' O_2 produit.
- Ajout de 0,5 ml de NaHCO_3 : 1,86 mg/l pour 4 min \rightarrow 0,465 mg/l/min d' O_2 produit.
- Ajout de 1 ml de NaHCO_3 : 1,70 mg/l pour 4 min \rightarrow 0,425 mg/l/min d' O_2 produit.
- Ajout de 1 ml de NaHCO_3 : 1,02 mg/l pour 4 min \rightarrow 0,255 mg/l/min d' O_2 consommé.

Au début, lorsqu'on ajoute du NaHCO_3 , la concentration en O_2 produit augmente. Par la suite, lorsque nous augmentons la quantité de NaHCO_3 nous constatons que nous arrivons à un maximum de production d'oxygène et finalement à une consommation d'oxygène (courbe à 3 ml sur le graphe). L'arrêt de la production et le début de la consommation d'oxygène sont dus au fait que un apport trop important de NaHCO_3 entraîne aussi un apport important d'ions OH^- ce qui provoque une modification du pH de la cellule qui provoque un arrêt de la photosynthèse. Cette modification du pH peut être contrée par un ajout d' HCl mais cela modifierait la concentration en sels et aboutirait à une lyse cellulaire. Au vu de cela, nous pouvons dire que, pour atteindre un maximum d'activité photosynthétique, nous devons fournir à la plante une réserve suffisante de carbone mais nous devons faire attention à ne pas saturer notre système en carbone.

3) Influence de l'intensité lumineuse

Il s'agit ici de faire varier l'intensité lumineuse reçue par la plante. Pour cela, on va travailler à partir d'une source lumineuse constante que l'on va progressivement approcher de notre échantillon d'élodées. Pour obtenir des résultats corrects, une étape de 5 min à l'obscurité doit être réalisée entre chaque test à la lumière.



Après analyse du graphique nous pouvons calculer les productions et consommations d'oxygène de la plante avec différentes intensités lumineuses :

- A 80 cm : -0,60 mg/l pour 4 min → -0,15 mg/l/min
- A 60 cm : -0,46 mg/l pour 4 min → -0,115 mg/l/min
- A 40 cm : 0,11 mg/l pour 4 min → 0,028 mg/l/min
- A 20 cm : 0,66 mg/l pour 4 min → 0,165 mg/l/min

Nous pouvons observer ici que, lorsque la lumière est loin de la plante (80 et 60 cm) elle ne semble pas affecter le fonctionnement photosynthétique des élodées. Mais lorsque la lumière est proche (40 et 20 cm) on peut affirmer qu'elle interagit avec la plante en lui permettant d'augmenter sa production d'oxygène.

Ceci provient de résultats expérimentaux mais nous savons par la théorie que nous n'aurions pas dû observer de consommation d'oxygène pour les deux premières mesures mais plutôt une production d'oxygène, même légère, car les photosystèmes reçoivent des photons et donc activent le cycle de la photosynthèse. La production d'oxygène aurait dû augmenter conjointement au rapprochement de la source lumineuse. Ce que nous avons observé lors des deux dernières mesures. La photorespiration observée lors des mesures à 80 et 60 cm est certainement due aux conditions expérimentales (obscurité relative du laboratoire).

2^{ème} partie : Mesure de la fluorescence de la chlorophylle sur des feuilles de maïs

Le but de cette seconde manipulation est de mettre en évidence l'effet du froid sur des feuilles de maïs et l'effet que peut avoir l'atrazine (en différentes quantités sur les feuilles de chicorée). Nous allons pouvoir mettre cela en évidence grâce à la mesure de la fluorescence de la chlorophylle.

La fluorescence de la chlorophylle correspond à la ré-émission de lumière dans le rouge lorsque l'énergie reçue par les différents photosystèmes est supérieure à l'énergie utilisable pour le mécanisme de la photosynthèse. Cette saturation des photosystème est due à toutes sortes de facteurs extérieurs limitant et un exemple de cela est la Quinone A (accepteur primaire du PS2) qui, lorsqu'elle est soumise à un éclaircissement très important, bloque la chaîne des transporteurs d'électrons parce qu'elle est plus rapidement réduite que ré-oxydée.

1) Mise en évidence du stress au froid sur la fluorescence

Pour évaluer les dégâts subis par les feuilles de maïs exposées à de basses températures, nous avons mesuré la fluorescence des chlorophylles présentes au sein de différentes pousses de maïs exposées à 20, 4 et -4 °C pendant une nuit.

Tout d'abord, observons la morphologie générale de nos plants ayant subis les différents stress au froid :

- à 20°C : feuilles bien droites, résistantes et vertes.
- à 4°C : feuilles pliées sur le bout.
- à -4°C : feuilles ramollies et certaines feuilles jaunâtres

Lorsque nous observons le spectre de fluorescence des chlorophylles (voir page annexe : stress au froid) nous pouvons voir que les plants de maïs à 20 et à 4°C ont une courbe de fluorescence assez semblable. Par contre nous pouvons observer que lorsque l'on descend à -4°C, la fluorescence diminue fortement. Nous pouvons donc établir un lien entre la diminution de température et celle de la fluorescence. De plus nous savons, de par nos observations qu'une forte diminution de température crée des dommages au niveau tissulaire. Cette interprétation est confirmée par le fait que la fluorescence est fortement diminuée pour la plante à -4°C et que cela peut également s'expliquer par une dégradation des tissus.

Nous pensons que le froid est, en fait, responsable de la détérioration des membranes cellulaires du maïs. Cette détérioration déclenche une série de réactions secondaires comme un ralentissement de l'activité photosynthétique.

Une baisse de température va induire une perturbation de paramètres cinétiques des réactions enzymatiques aboutissant à une diminution de la fixation du CO₂ pour la photosynthèse. Ceci va conduire à un déséquilibre entre l'énergie captée par l'antenne collectrice et l'énergie utilisée par la photosynthèse, ce déséquilibre va provoquer une « énergisation » des membranes des thylakoïdes qui favorise la production d'espèces réactives d'O₂.

Par ailleurs, une exposition au froid va induire une rigidification des membranes.

Tout cela va nous permettre d'expliquer pourquoi la fluorescence diminue à -4°C. Nous pensons que pour tenter de rester dans un état optimal la plante va essayer de contrer les modifications du milieu et pour cela elle va utiliser une quantité supplémentaire d'énergie qu'elle n'a pas besoin ni à 20, ni à 4°C. Ce supplément d'énergie utilisée se traduit par une diminution de la fluorescence.

2) Mise en évidence de l'effet de l'atrazine sur la fluorescence

L'atrazine est un herbicide qui vient se fixer à deux des acides aminés de la protéine D1 du photosystème 2, site de fixation de la plastoquinone. C'est donc un inhibiteur compétitif de la plastoquinone. De cette manière, la chaîne de transfert d'électrons est rompue.

Notez tout de même qu'il existe des mutants naturels qui sont résistants à l'atrazine. Ces mutants ont remplacé certains acides aminés par d'autres qui permettent seulement la fixation de la plastoquinone et pas celle de l'atrazine. Ces mutants peuvent être très intéressants pour l'agriculture.

Nous allons pouvoir interpréter les résultats de notre expérience (voir annexes : effet atrazine) de trois points de vue différents. Préablement nous devons signaler que le graphe de fluorescence à 250µM après 30 min est erroné, ceci est dû à des erreurs d'expérimentation. Nous allons dès lors, pour ce graphe, utiliser nos connaissances théoriques et non les résultats de notre propre expérience pour les différentes analyses et interprétations.

Premièrement, au niveau des concentrations en atrazine :

Les différentes concentrations en atrazine ne semblent pas influencer les résultats finaux mais uniquement la vitesse de réaction. Les réactions sont plus rapides quand l'atrazine est plus concentrée.

Deuxièmement au niveau du temps :

Pour une même concentration, plus l'atrazine agit longtemps (30 min), plus vite la fluorescence maximale est atteinte (comparée à la fluorescence après 5 min).

Et enfin, en comparaison avec les témoins :

Une plante avec de l'atrazine atteint plus vite une fluorescence maximale qu'une plante témoin dans un même laps de temps. Remarquez aussi qu'une plante traitée à l'atrazine atteint une fluorescence toujours plus élevée qu'une plante témoin, cela dans les laps de temps étudiés. Cependant on peut voir que les courbes « tests » et « contrôle » semblent se rejoindre au fur et à mesure que le temps s'écoule.

Comme nous l'avons signalé plus haut : l'atrazine rompt la chaîne d'électrons au niveau de la plastoquinone, la chlorophylle excitée ne peut donc plus transférer son électron à un accepteur. L'électron retombe donc à son état fondamental en émettant de la fluorescence. Ceci explique pourquoi nous observons une augmentation de la fluorescence lorsque la concentration en atrazine augmente et lorsqu'elle est laissée plus longtemps pour une même concentration.

La fluorescence émise par les plantes témoins est due à la quinone qui, éclairée fortement, est plus rapidement réduite qu'elle n'est ré-oxydée. Ce qui provoque un arrêt de la chaîne de transport d'électrons.

Les plantes témoins atteignent moins vite leur fluorescence maximale que les plantes dans l'atrazine. En effet, pour les plantes témoins, lorsqu'elles sont soumises au flash lumineux, il faut attendre que les quinones soient réduites pour que la chaîne d'électrons soit rompue ; tandis que les plantes dans l'atrazine ont leur chaîne d'électrons rompues déjà avant le flash lumineux et atteignent donc plus rapidement leur fluorescence maximale.

Conclusion sur les facteurs influençant la photosynthèse

La photosynthèse est influencée par l'environnement d'après certains facteurs: la lumière (source d'énergie), le CO₂ (source de carbone) et la température (qui affecte l'ensemble des réactions biochimiques).

La photosynthèse est un processus qui fait intervenir beaucoup d'étapes différentes qui pourront chacune être affectée de différentes manières par les facteurs environnementaux. Ces facteurs agissent de manière indépendante sur le processus extrêmement complexe de la photosynthèse qui est dès lors contrôlé et régulé par le facteur dit limitant. Ce facteur est celui qui a la valeur la plus faible et qui dès lors limite la vitesse du processus.

Nos expériences ont aussi permis de montrer que la fluorescence de la chlorophylle constitue un indicateur fiable et rapide pour l'étude de facteurs tels que le froid ou la présence d'herbicides chez une plante.

