

# Stress oxydatif chez les végétaux: Causes, effets et protection

Fait par:

MAAT Myriam

# Plan

## INTRODUCTION

**I. Origine du Stress oxydatif**

**II. Origine des espèces oxygénés activées**

**III. Effets toxiques des espèces réactives  
de l'oxygène**

**IV. Mécanismes de protection des espèces réactives  
de l'oxygène**

**CONCLUSION**

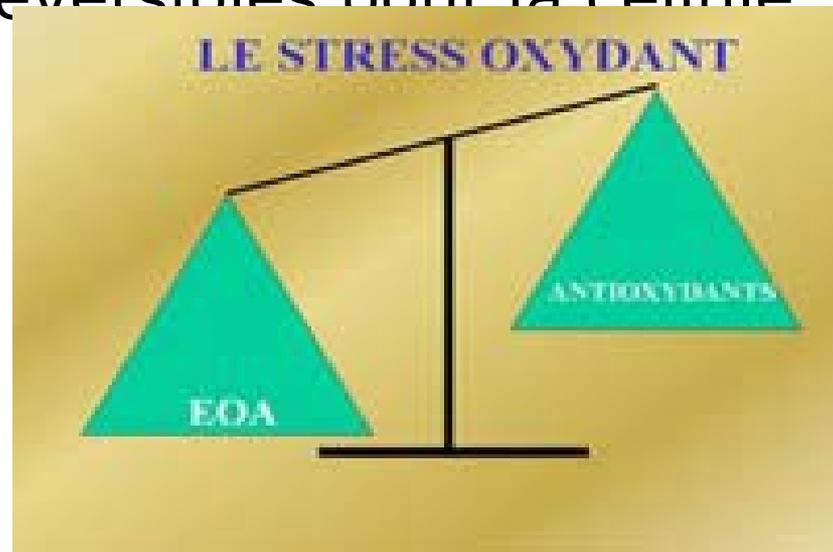
# INTRODUCTION

Divers stress abiotiques entraînent à la **surproduction** d'espèces réactives de l'oxygène (**Ros**), chez les plantes, qui sont hautement réactifs et toxiques

et causent des dommages aux **protéines**, **lipides**, **glucides** et de **l'ADN** ce qui résulte un Stress dit « **Oxydatif** » ou Stress « **Oxydant** ».

## I. Origine du Stress oxydatif

- Le stress oxydatif se définit comme étant le résultat d'un **déséquilibre** entre la balance des **ROS** et les systèmes de défense (**antioxydants**), avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule



- En général le stress oxydatif est le résultat cellulaire d'un stress environnementaux non oxydatif

## II. Origine des espèces oxygénées activées

Les Ros comprennent à la fois

\*des **radicaux libres** :(molécules très réactives qui présentent un (des

doublet): **-OH**

Électron(s) non apparié(s) (état

et des composés non radicaux

(molécules)

\***O<sub>2</sub>**: bi radical qui présente deux électrons non appariés, de spin

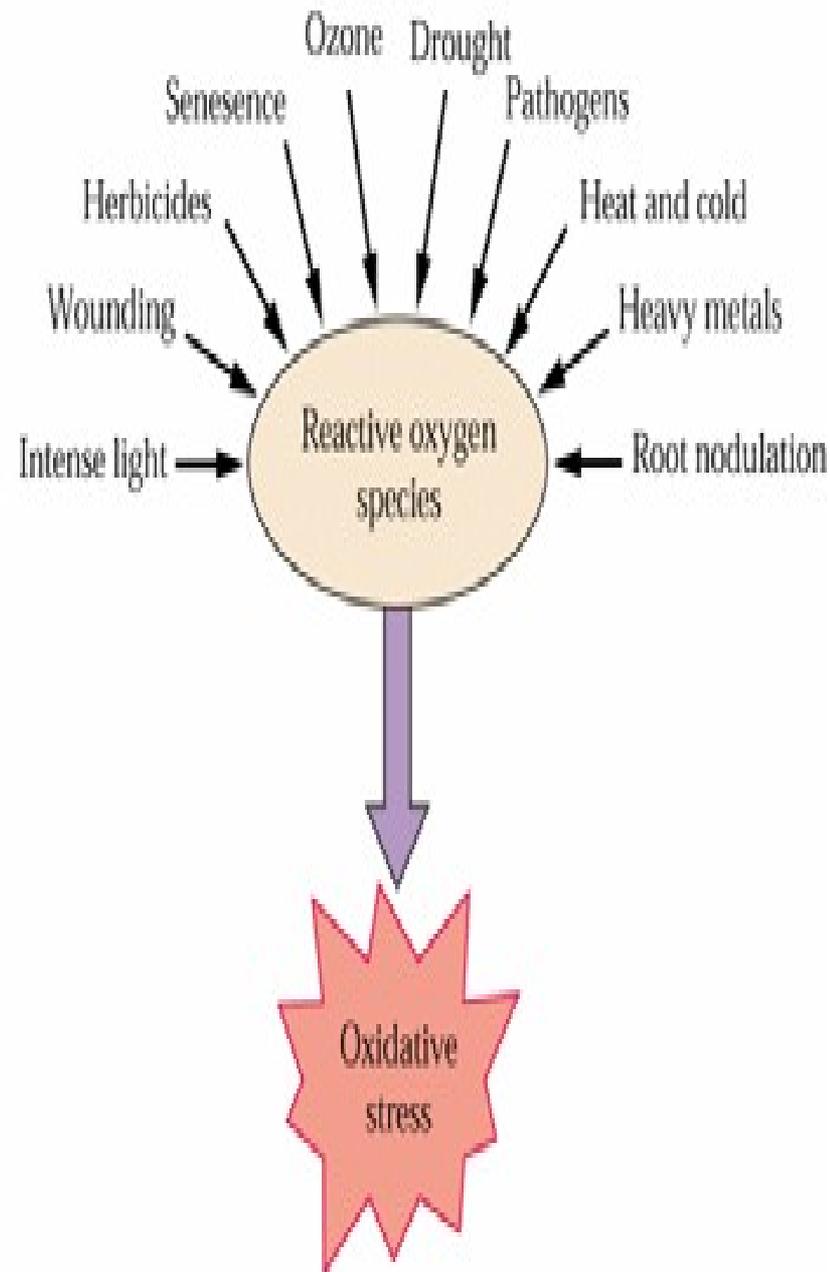
parallèle (état triplet – conservation de spin). **O:O** Cet état limite la

réactivité en empêchant une réaction directe et en imposant une

barrière énergétique.

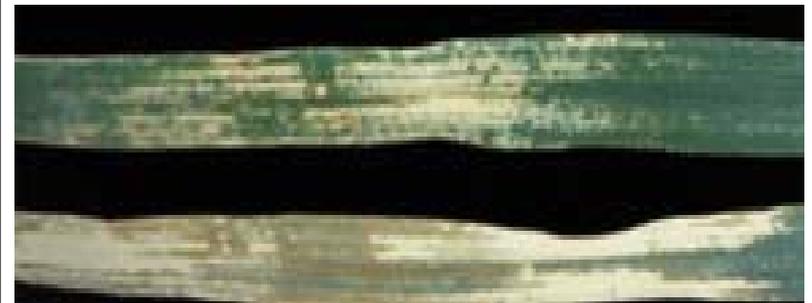
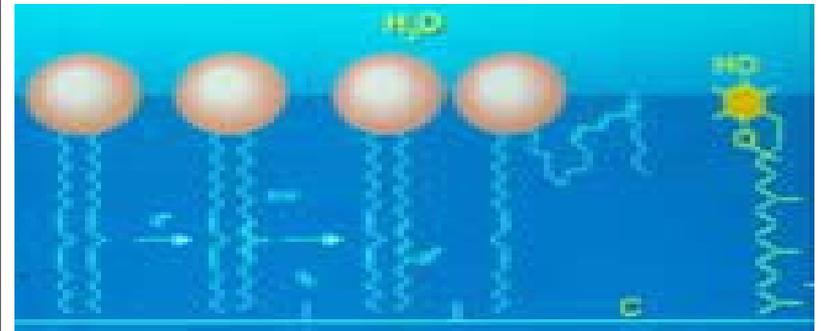
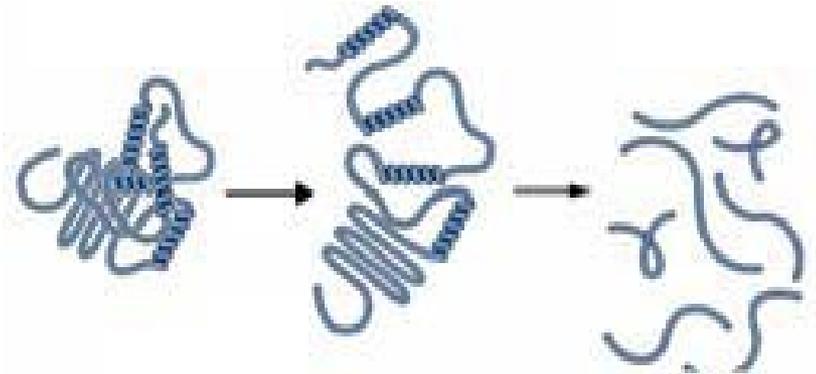
La production des espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species ou ROS, appelées aussi espèces oxygénées activées ou EOA) est une conséquence inévitable de la

**photosynthèse oxygénique...**  
et des **conditions de stress environnementaux.**



Les ROS (qui peuvent être soit des **radicaux**, soit des molécules **non radicalaires**), par leur nature instable, sont particulièrement réactives et sont capables de provoquer des dégâts cellulaires importants :

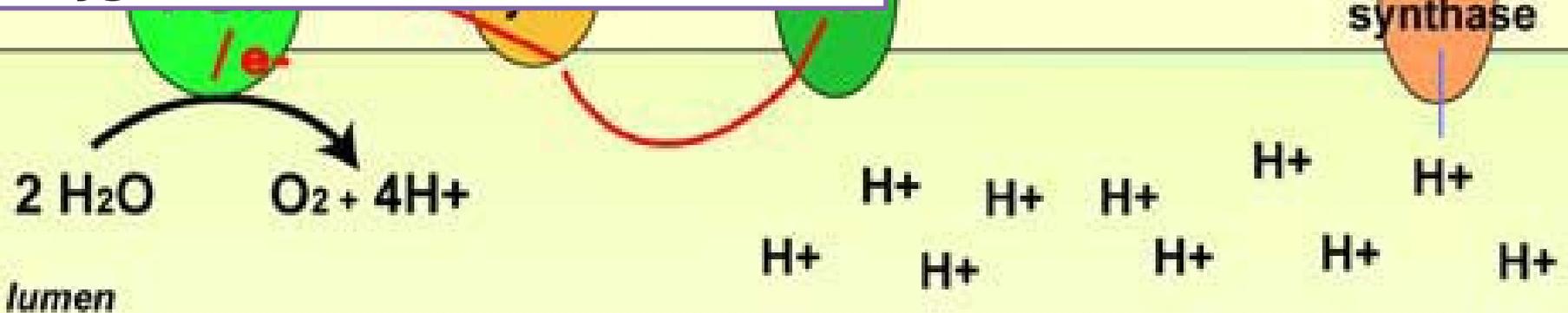
- ❖ en provoquant des cassures et des mutations de l'ADN
- ❖ en inactivant des protéines et des enzymes
- ❖ en oxydant les pigments, les sucres ...
- ❖ en induisant des processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire.



# Photosynthèse

## Réactions obscures

Le plantes, grâce à la photosynthèse, peuvent capturer l'énergie lumineuse et produire de l'oxygène moléculaire par oxydation de l'eau. Ces deux phénomènes qui se produisent en même temps et dans le même organite (le chloroplaste) peuvent conduire à la production d'espèce réactives de l'oxygène (ROS).



# Lieu de formation d'espèces réactives de l'oxygène

Les Sites majeures de production des Ros :

- \*Dans les **Chloroplastes** (Photosystème I et Photosystème II)
- \*Dans les **mitochondries** : Complexe I (Ubiquinone) et Complexe II (Chaine de transport des électrons)
- \*Dans les **Peroxisomes** et autres....

# Dans le chloroplaste:

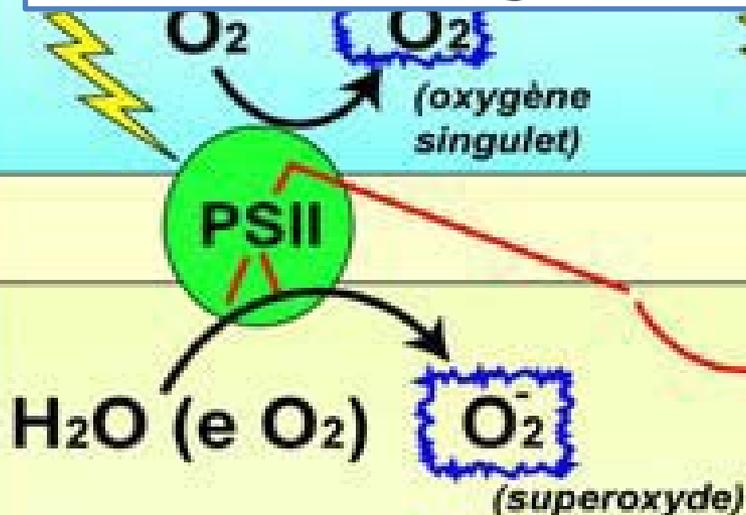
5) Glycolate oxydase

photorespiration  
( $H_2O_2$  indirectement)

1) Formation de Chls Triplet et transfert énergie à l' $O_2$

4) Réaction de Mehler

3) Réduction  $O_2$  au PSI



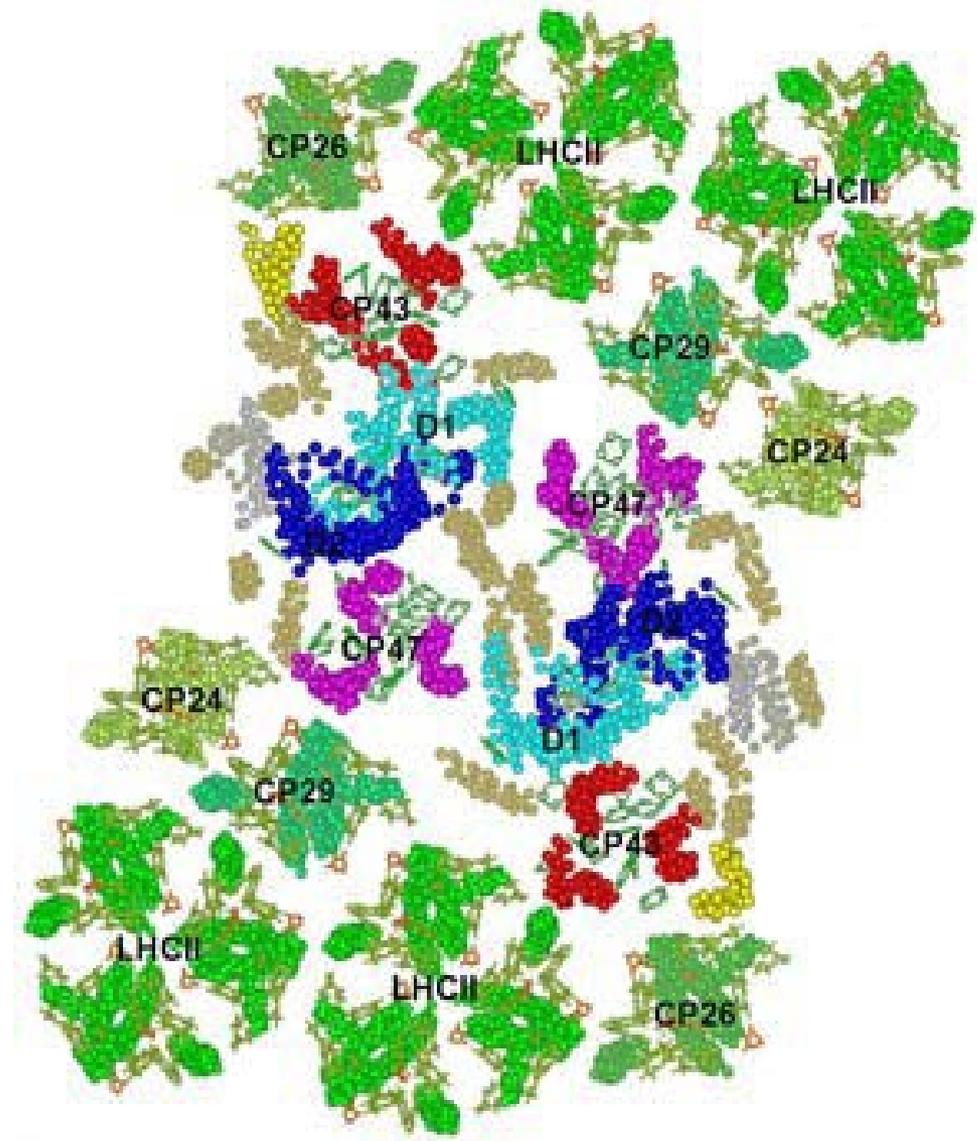
2) Défauts dans l'oxydation de l' $H_2O$  au PSII

# Photosystème II

Antennes  
externes

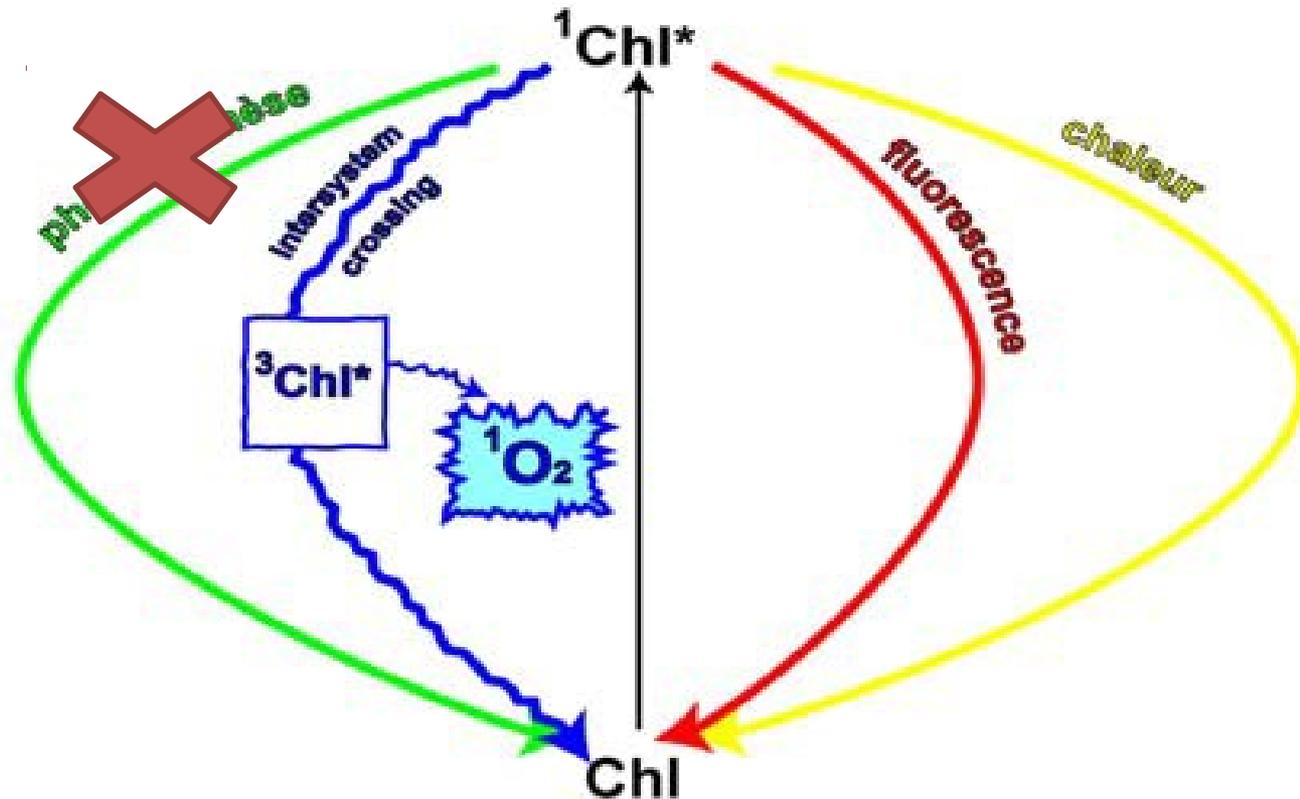
Core  
Complex

Antennes  
externes



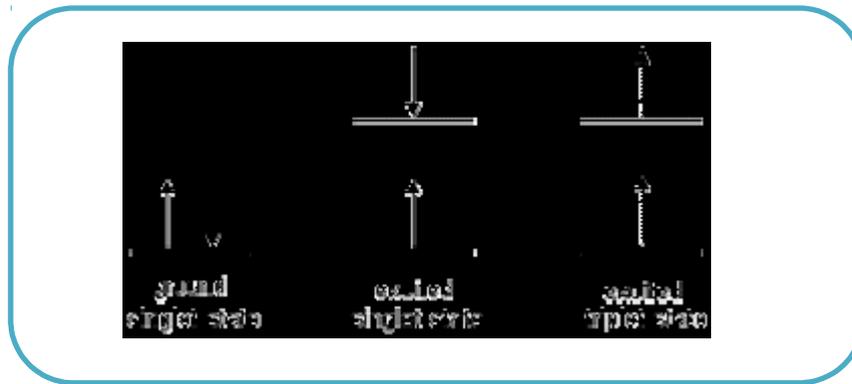
# Voies de désexcitation de la chlorophylle singulet

**Compétitions des différentes voies, le destin des états excités dépend de l'efficacité de chaque voie**



# États excités

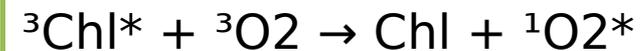
- Selon le spin de l'électron excité on peut distinguer entre état de singulet ou de triplet



- L'oxygène excité dans l'état de singulet est très instable et réagit très facilement avec les molécules voisines en les oxydant.

# 1) Formation de l'oxygène singulet au PSII

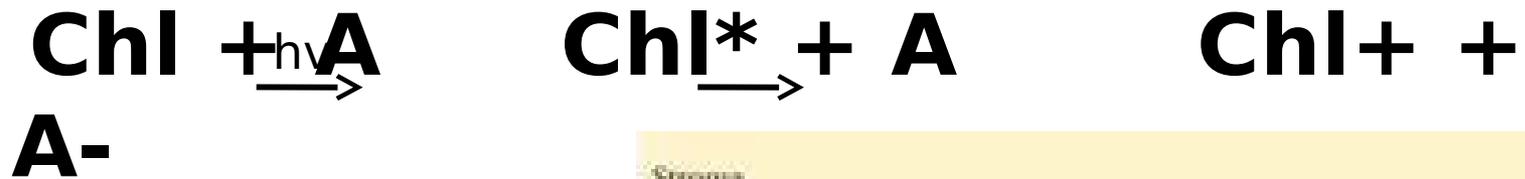
Au niveau des antennes ou des centres: la chlorophylle excitée à l'état de triplet peut réagir avec l'oxygène moléculaire et former de l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2^*$ ), une espèce réactive fortement oxydante.



***Réaction seulement toxique pour la***

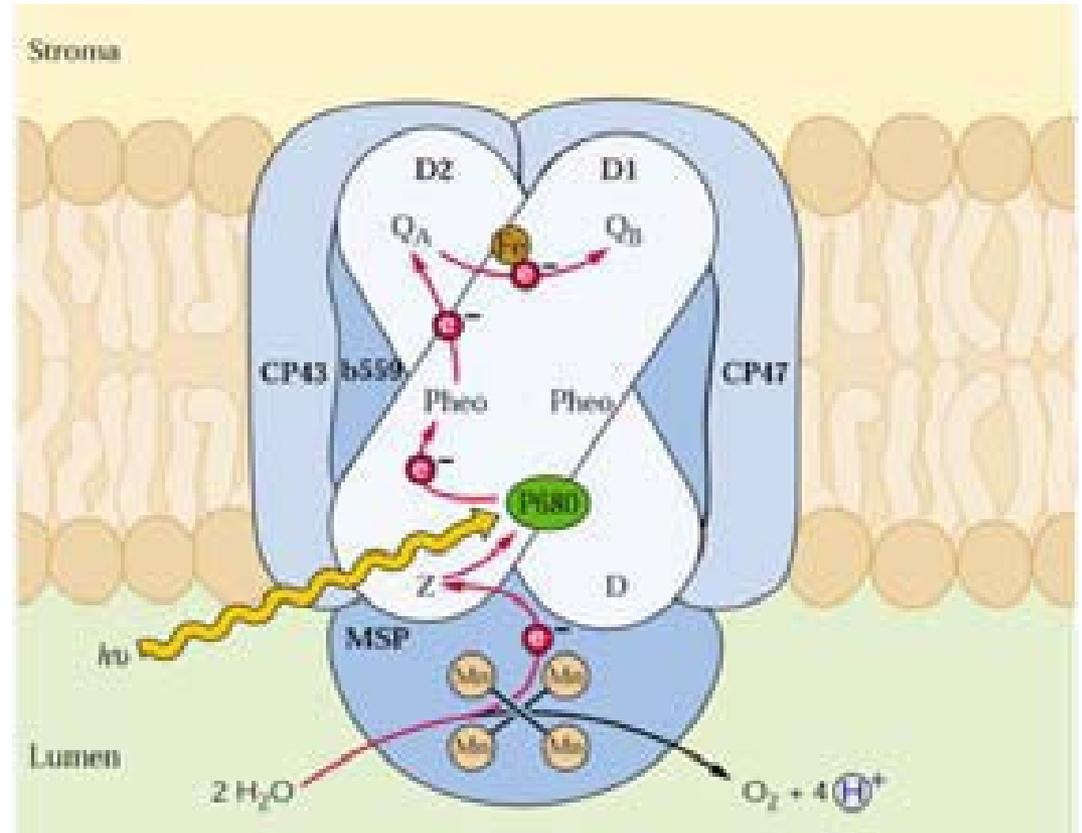
# Les centres réactionnels

- Ils catalysent cette réaction:



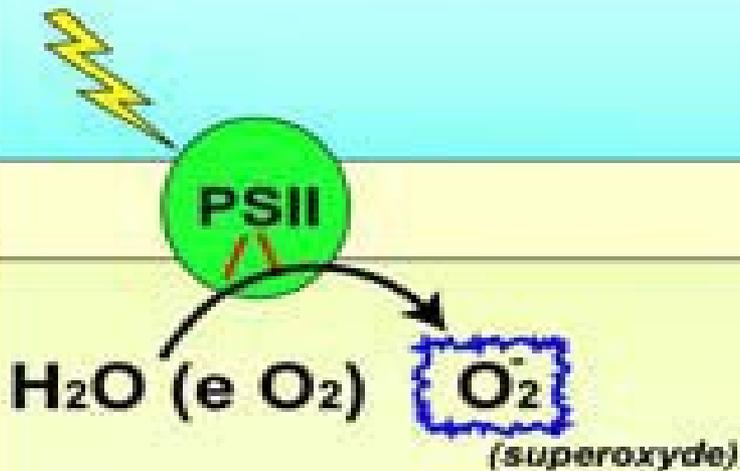
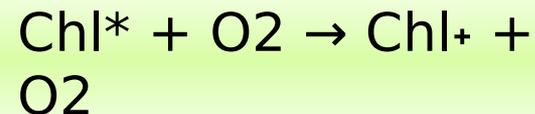
Chl est un dimère de chlorophylles nommé PAIRE SPECIAL

Ex: centre de réaction du PSII Les accepteurs finaux sont des Quinones.



## 2) Formation de superoxyde au niveau du PSII

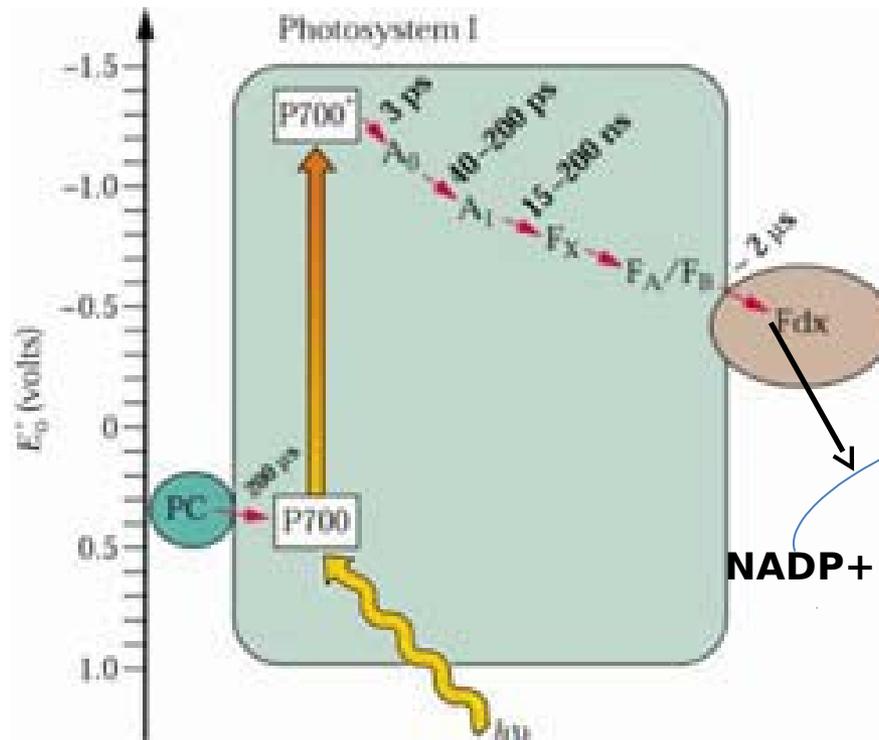
Réduction de l'oxygène moléculaire par le PSII (transfert de charge).



**Réaction seulement toxique pour la plante**

# Transfert des électrons dans les membranes du chloroplaste

La plastocyanine, en diffusant dans le lumen, transfère les électrons au PSI



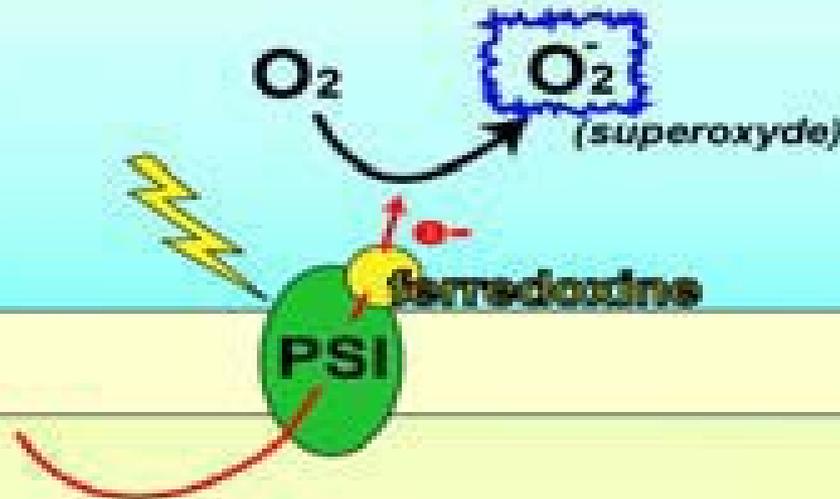
Le PSI catalyse le transfert des électrons à la Ferrédoxine

**NADPH**

L'accepteur final est le NADP<sup>+</sup>  
NADP<sup>+</sup> en formant NADPH

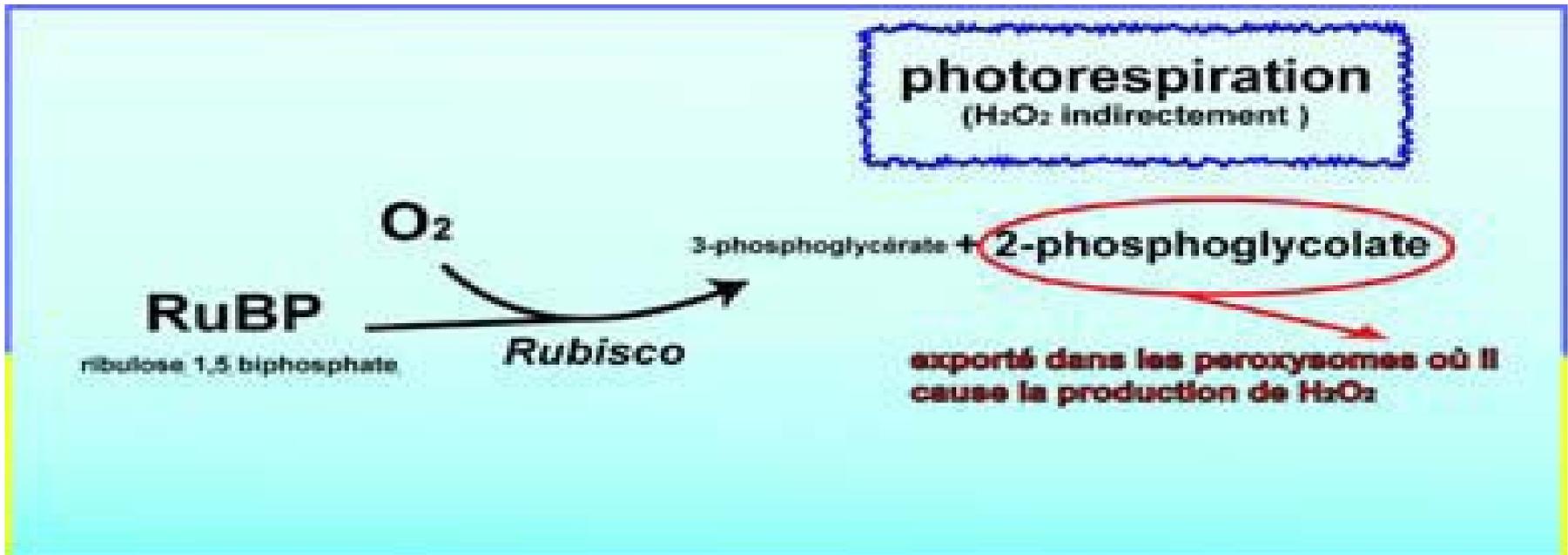
### 3) Formation de superoxyde au PSI

- La ferredoxine plutôt que réduire le  $\text{NADP}^+$  (l'accepteur normal de l'électron) peut réduire l'oxygène moléculaire.



***Le superoxyde est dangereux, mais cette réaction au PSI peut être aussi utile pour la***

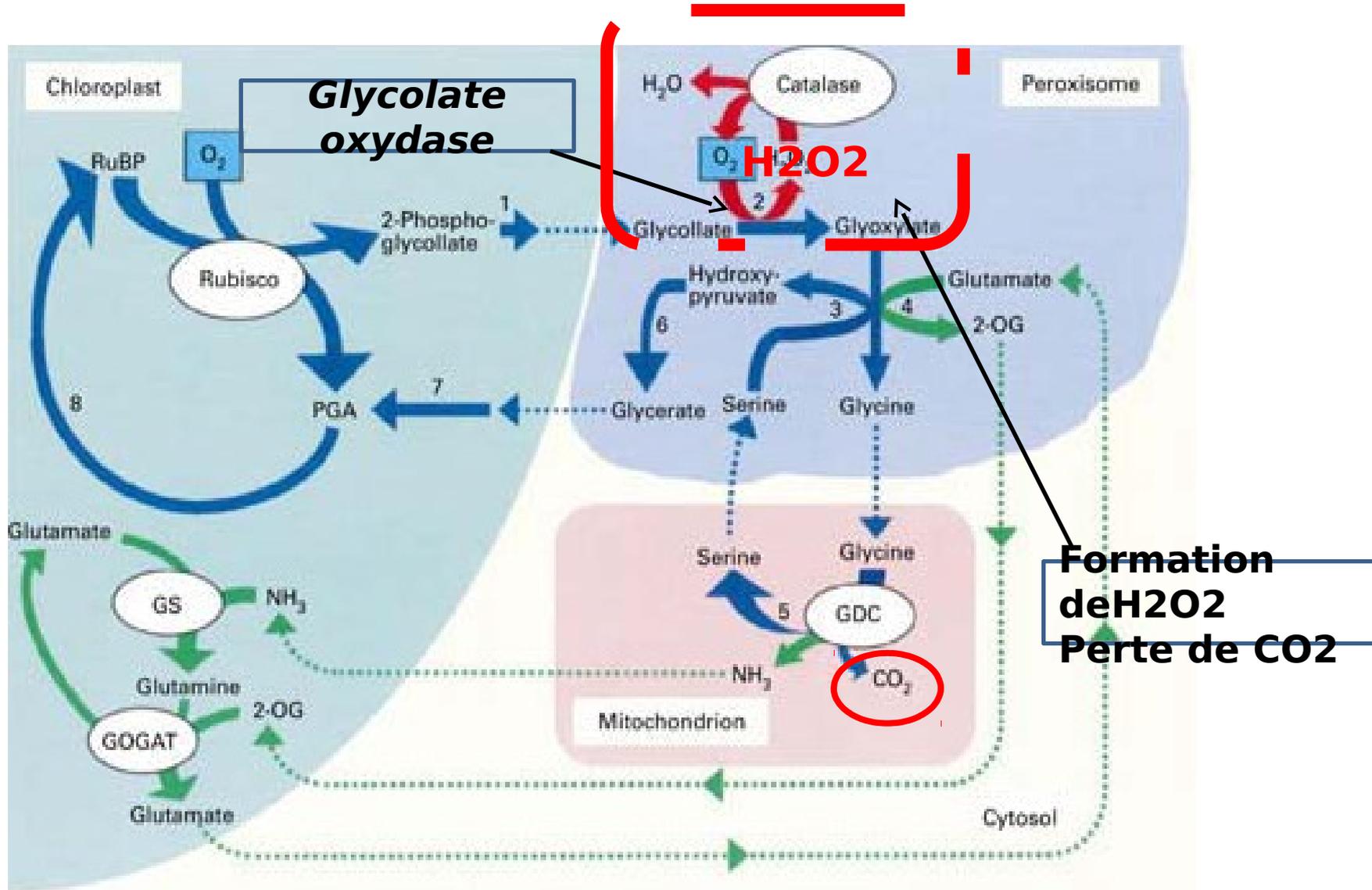
## 4) Photorespiration



L'enzyme Rubisco peut réagir avec l'O<sub>2</sub> plutôt que le CO<sub>2</sub>. Le produit de l'oxygénation (phosphoglycolate) est exporté dans les peroxysomes et impliqué dans des réactions qui entraînent la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

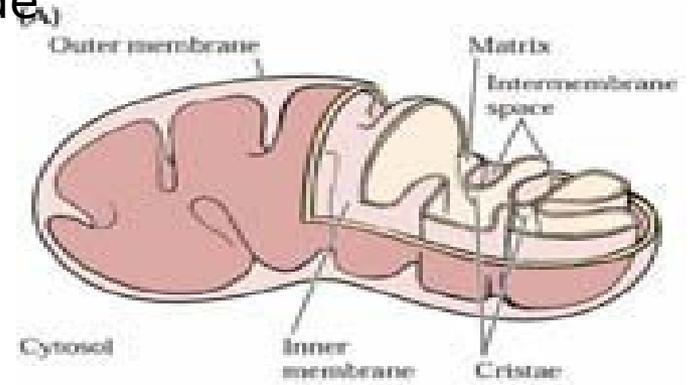
*Cette réaction, à éviter normalement, peut être utile pour la photoprotection car elle le fonctionnement du transport électronique même en carence de CO<sub>2</sub>*

# Photorespiration, formation H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le peroxyssome

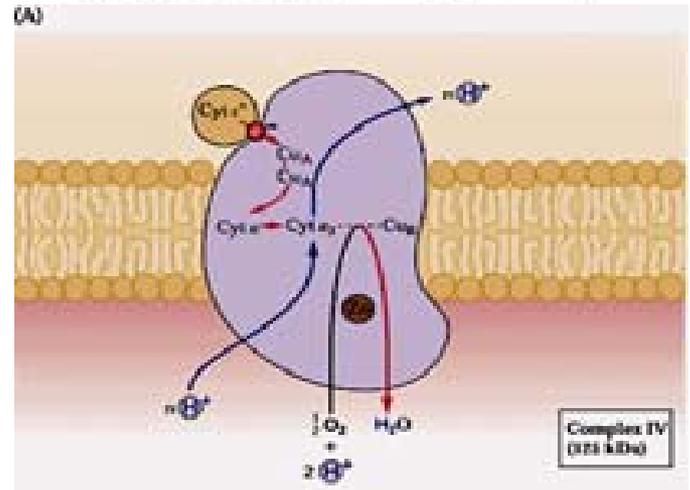
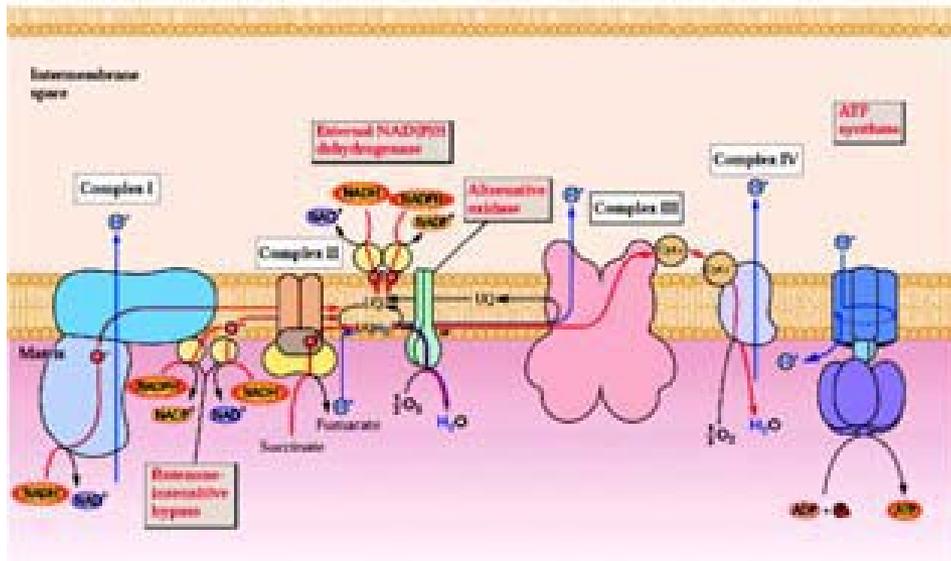


# Chez les mitochondries des plantes

L'excès de NADH ou d'O<sub>2</sub> peut induire la réduction partielle de l'oxygène en ion superoxyde.



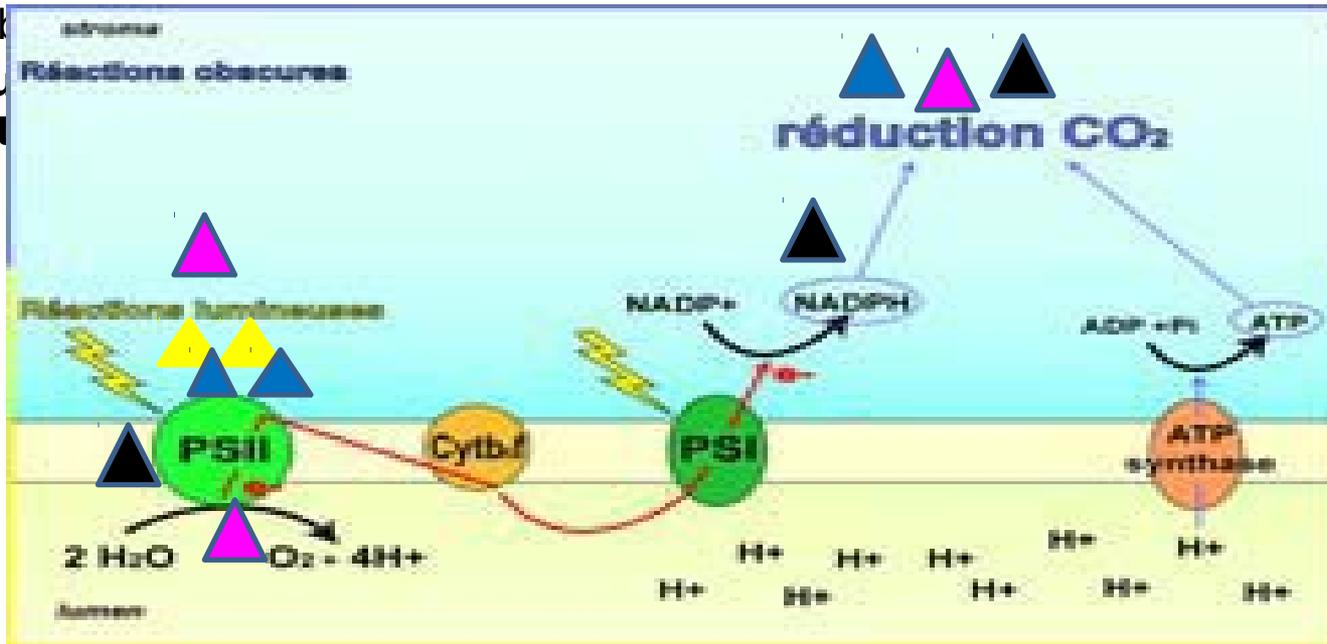
(E)  
(A)



# Dans quelles conditions les ROS sont elles produites ?

- ▲ **Lumière en excès: 800  $\mu$ E chez les plantes C3, 2000  $\mu$ E chez les plantes C4 en condition de** complète disponibilité d'eau et à température idéale de chaque plante .
- ▲ **Sécheresse: la fermeture des stomates baisse la concentration de CO2 et donc le transport des électrons.**
- ▲ **Froid: limite la mobilité de la plastoquinone à cause de la baisse de fluidité de la membrane et baisse la vitesse de réaction des enzymes de la phase os**
- ▲ **Pollu**
- ▲ **product**

Tous ces facteurs sont synergiques!



tent la

Site d'action préférentielle du stress

**En général la production de ROS est fortement augmentée lorsqu'il y a trop de lumière par rapport à la capacité de transport des électrons photosynthétiques (surexcitation des photosystèmes)**

### III. Effets toxiques des espèces réactives de l'oxygène

#### Les principales espèces oxydantes

$^3\text{O}_2$ : Oxygène triplet (état fondamental)

$\text{O}_3$ : ozone

$^1\text{O}_2^*$ : oxygène singulet

$\text{O}_2^-$ : super-oxyde

$\text{HOO}^*$ : radical perhydroxyle

$\text{H}_2\text{O}_2$ : peroxyde de hydrogène #

$\text{OH}$ : radical hydroxyle

$\text{H}_2\text{O}$ : eau

# → **possible fonctions de signalisation dans les réponses** au stress et de défense aux pathogènes

Compound	Shorthand notation(s)	Structural representation(s)	Sources
Molecular oxygen (triplet ground state)	$O_2: ^3\Sigma$	 $1s^2 2s^2 (\sigma_p)^2 (\sigma_p^*)^2 (\sigma_p)^2 (\pi_p)^2 (\pi_p)^2 (\pi_p^*)^1 (\pi_p^*)^1$	Most common form of dioxygen gas
Singlet oxygen (first excited singlet state)	$^1O_2: ^1\Delta$	 $1s^2 2s^2 (\sigma_p)^2 (\sigma_p^*)^2 (\sigma_p)^2 (\pi_p)^2 (\pi_p)^2 (\pi_p^*)^2$	UV irradiation, photoinhibition, photosystem II $e^-$ transfer reactions (chloroplasts)
Superoxide anion	$O_2^-$		Mitochondrial $e^-$ transfer reactions, Mehler reaction in chloroplasts (reduction of $O_2$ by iron-sulfur center $F_X$ of Photosystem I), glyoxysomal photorespiration, peroxisome activity, plasma membrane, oxidation of paraquat, nitrogen fixation, defense against pathogens, reaction of $O_2$ and $OH^-$ in apoplastic space
Hydrogen peroxide	$H_2O_2$		Photorespiration, $\beta$ -oxidation, proton-induced decomposition of $O_2^{\bullet -}$ , defense against pathogens
Hydroxyl radical	$OH^\bullet$		Decomposition of $O_2$ in presence of protons in apoplastic space, defense against pathogens
Perhydroxyl radical	$O_2H^\bullet$		Reaction of $O_2$ and $OH^-$ in apoplastic space
Ozone	$O_3$		Electrical discharge or UV radiation in stratosphere, reactions involving combustion products of fossil fuels and UV radiation in troposphere

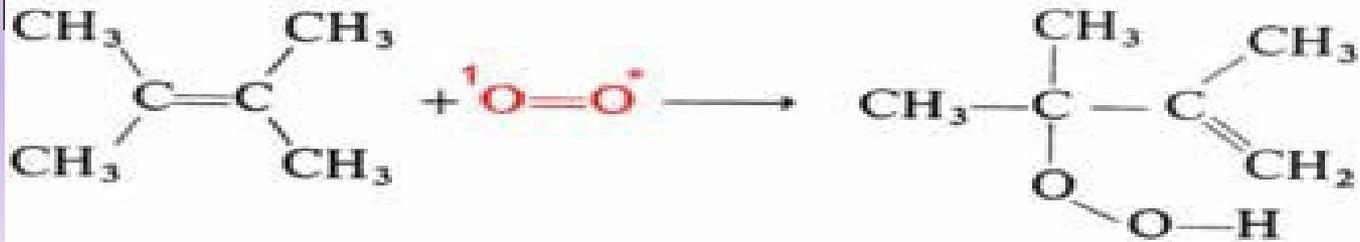
# Réactions des espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent réagir avec les constituants cellulaires: **oxyder** les lipides, les protéines, les pigments, l'ADN et d'autres molécules.

• **Oxygène singulet ( $^1O_2^*$ ):**

ex. Formation de lipides hydroperoxydes

(LOO $^{\bullet}$ )



• **Superoxyde ( $O_2^-$ ):**

Il est très oxydant; il peut dismuter en  $H_2O_2$ :



**La Dismutation est une réaction chimique dans la quelle un seul composé sert soit comme agent oxydant, soit comme réducteur**

• Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):

En présence de sels de fer, il peut former le radical hydroxyle (OH•) qui est très oxydant:



En présence de O<sub>2</sub><sup>-</sup>, le Fe<sup>3+</sup> peut être réduit:



pour avoir la réaction totale:



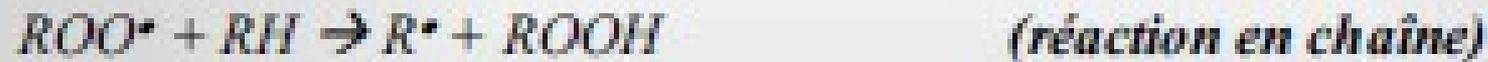
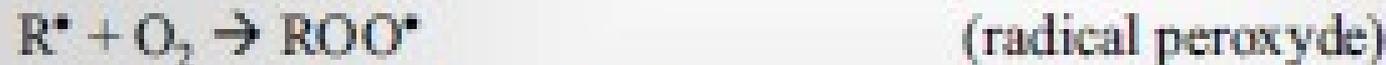
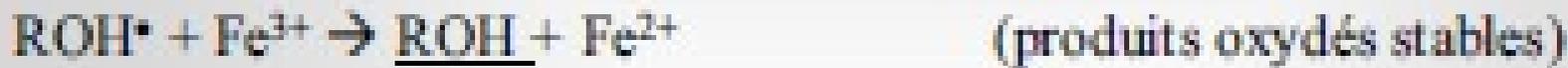
Ou (en utilisant la réaction de dismutation du superoxyde):



*D'autres métaux lourds ont le même effet.*

• Radical hydroxyle (OH•):

Il est très oxydant, il réagit avec des substrats organiques:

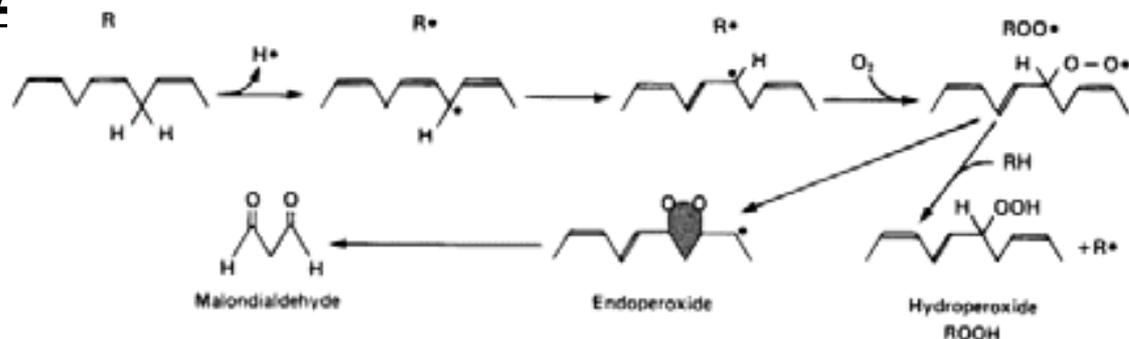


les réaction terminent avec des produits de cross-linking comme R-R ou ROOR.

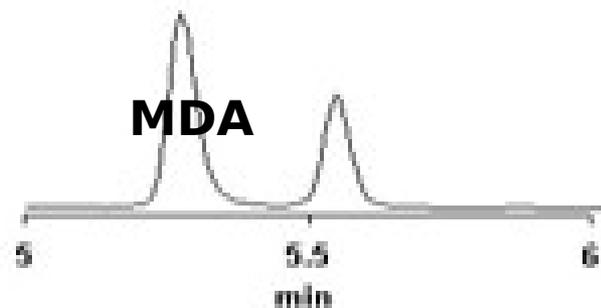
# Techniques de détection de la peroxydation des lipides

L'oxydation des lipides provoquée par les stress abiotiques (froid, forte lumière, sécheresse...) peut être mesurée avec plusieurs techniques:

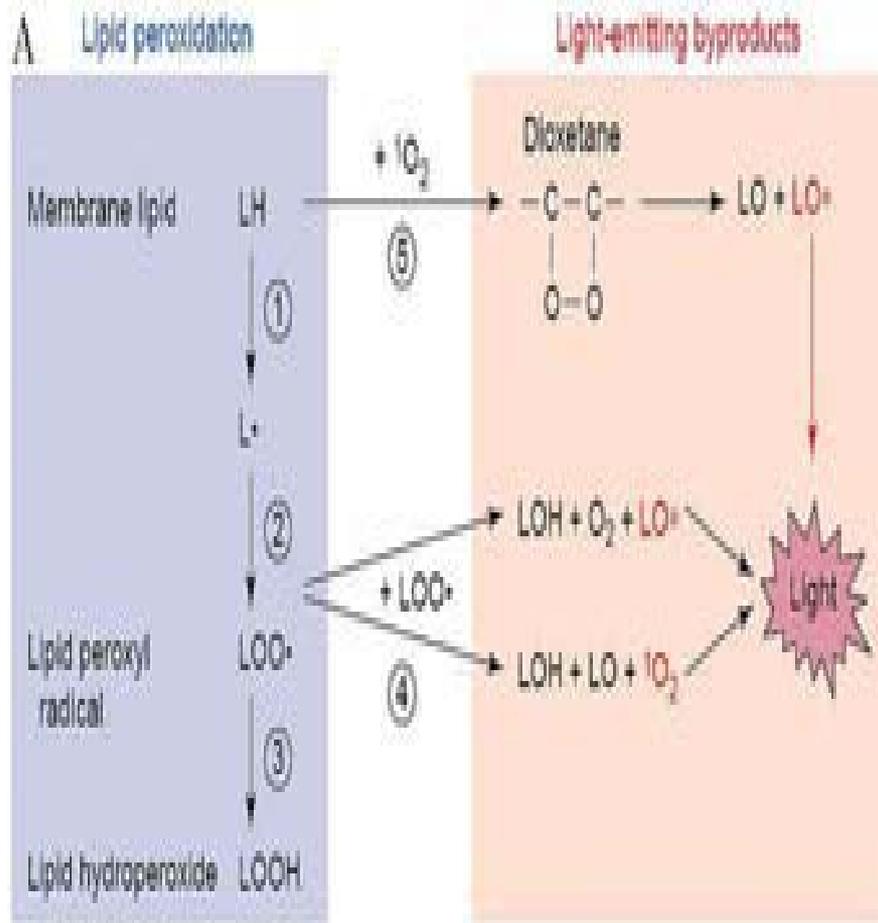
## 1) Mesure du contenu en malondialdéhyde (MDA)



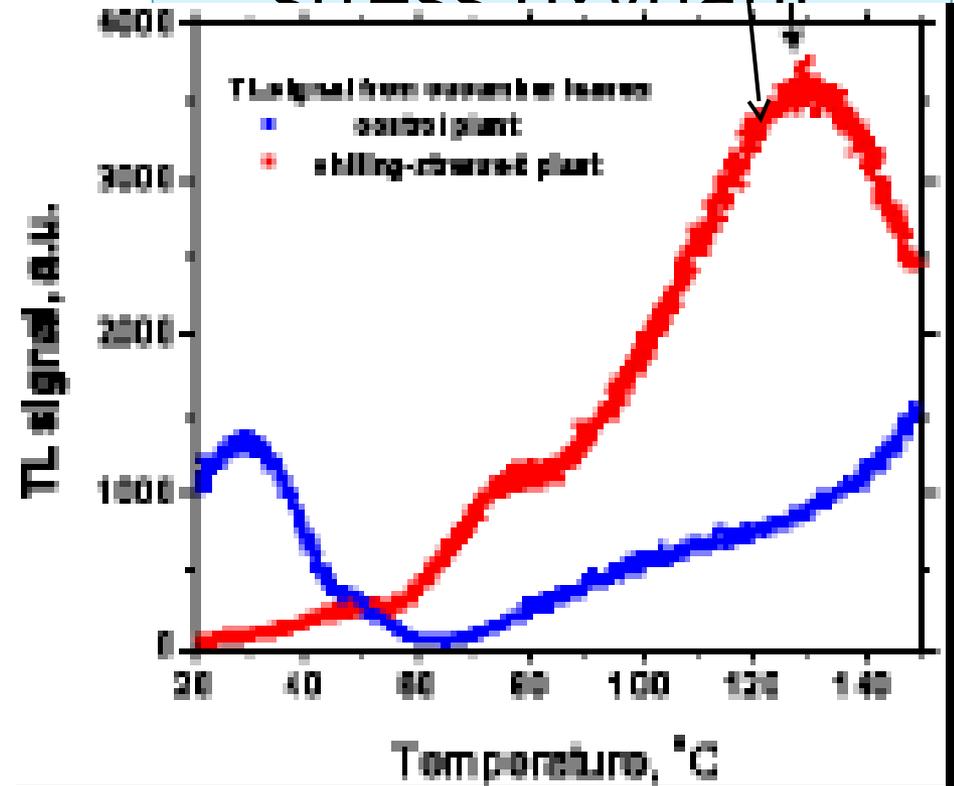
Le MDA est un sous-produit de l'oxydation des lipides. En présence d'acide thiobarbiturique, on a la production d'une molécule très colorée (1:2 MDA:TBA) qui peut être séparée et mesurée par HPLC.



**2) Thermoluminescence (TL):** hautes températures induisent la dégradation des peroxy-lipides avec une réaction qui libère de la lumière.



Plante stressée par le froid qui a subi un stress oxydatif



\_V\_ Mécanismes de

# protection des espèces réactives de

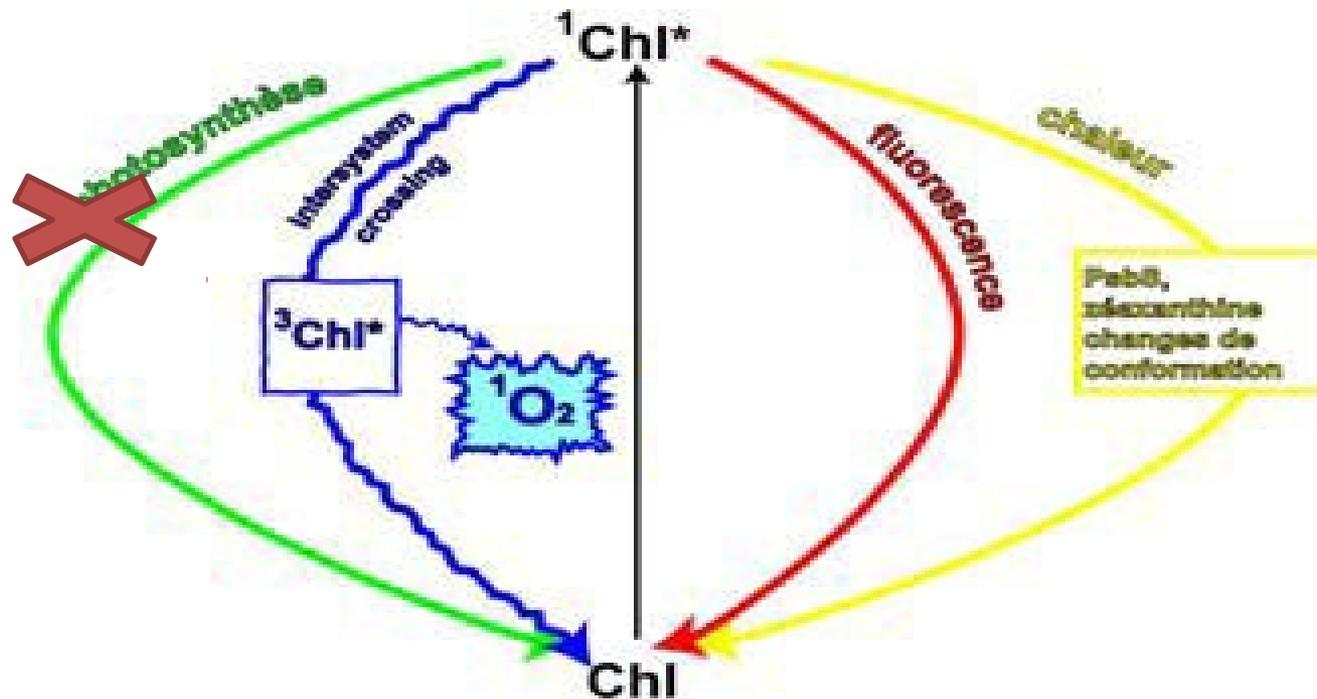
l'oxygène

**Mécanismes  
de  
prévention**

**Mécanismes de  
détoxification**

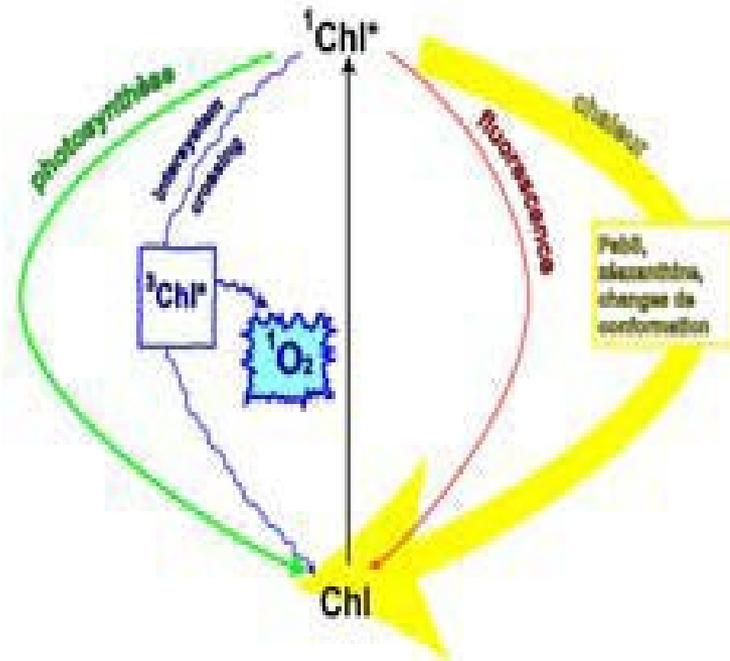
# Mécanismes de prévention

Ces mécanismes servent pour dissiper l'énergie absorbée en excès sous forme non dangereuse pour la plante (chaleur)



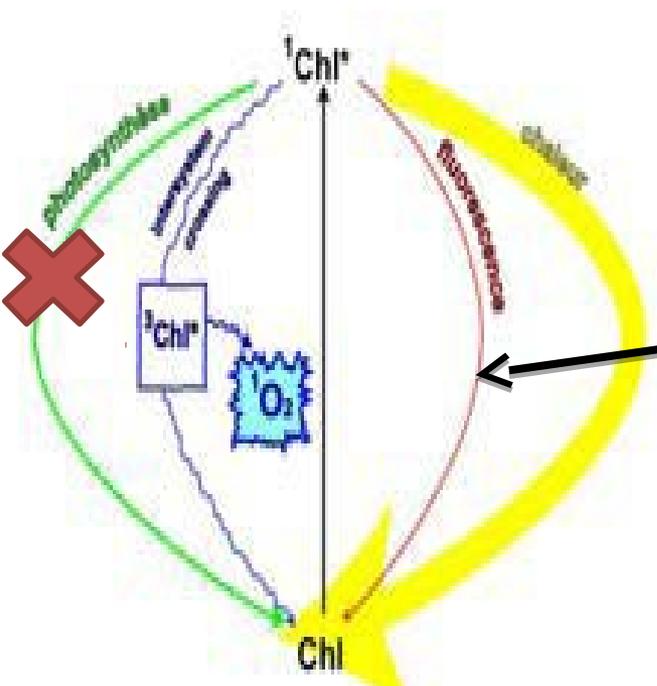
# Quenching non photochimique (NPQ, non photochemical quenching)

Quenching de la chlorophylle singulet pour éviter la surexcitation et la formation de ROS.



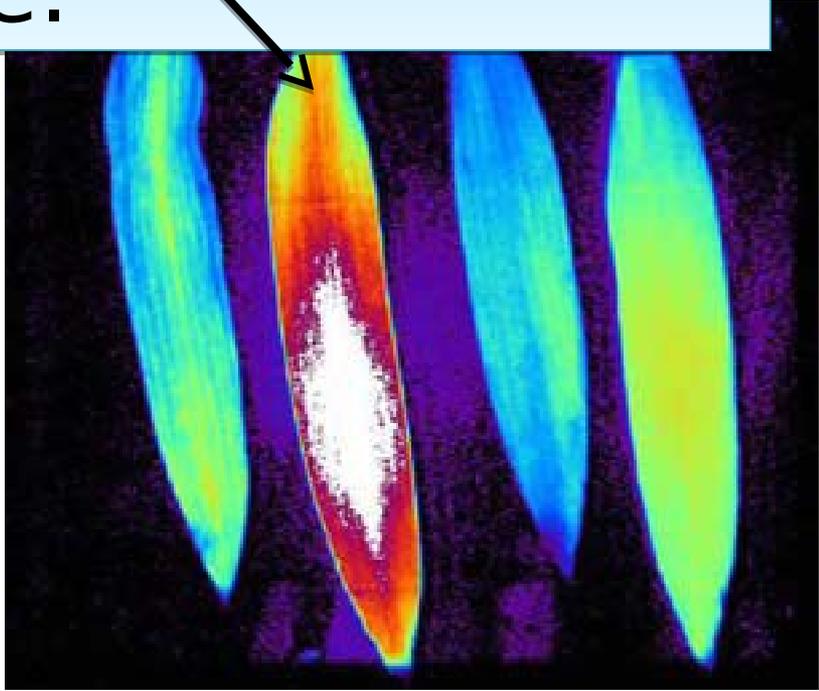
Dissipation thermique de l'énergie en excès grâce à un mécanisme qui implique:

- $\Delta\text{pH}$
- caroténoïde **zéaxanthine**
- protéine **PsbS**
- protéines antenne (**Lhc**)



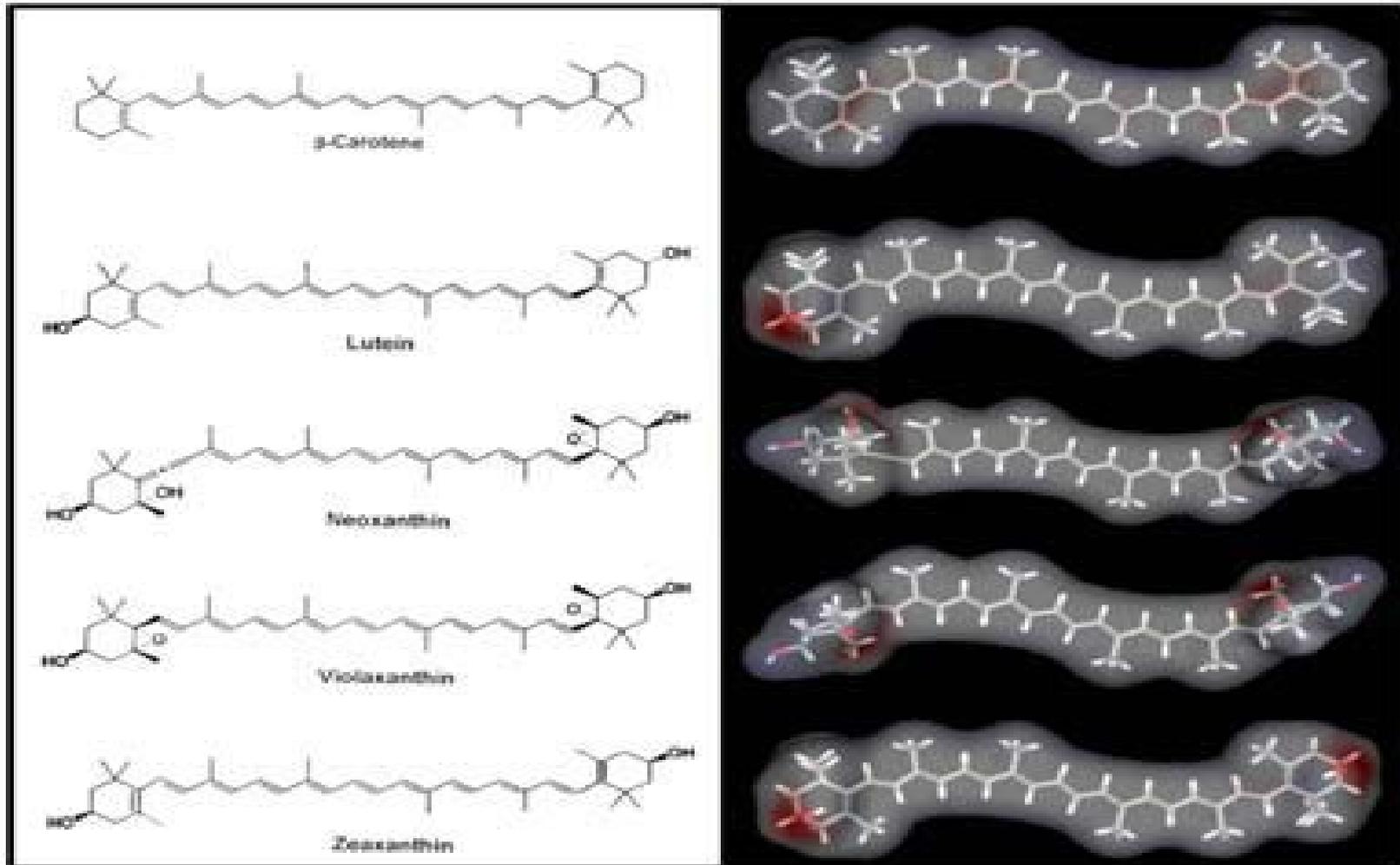
Lorsque la plante dissipe l'énergie sous forme de chaleur, la fluorescence aussi diminue.

On utilise la fluorescence des feuilles pour étudier la photoprotection





# Caroténoïdes

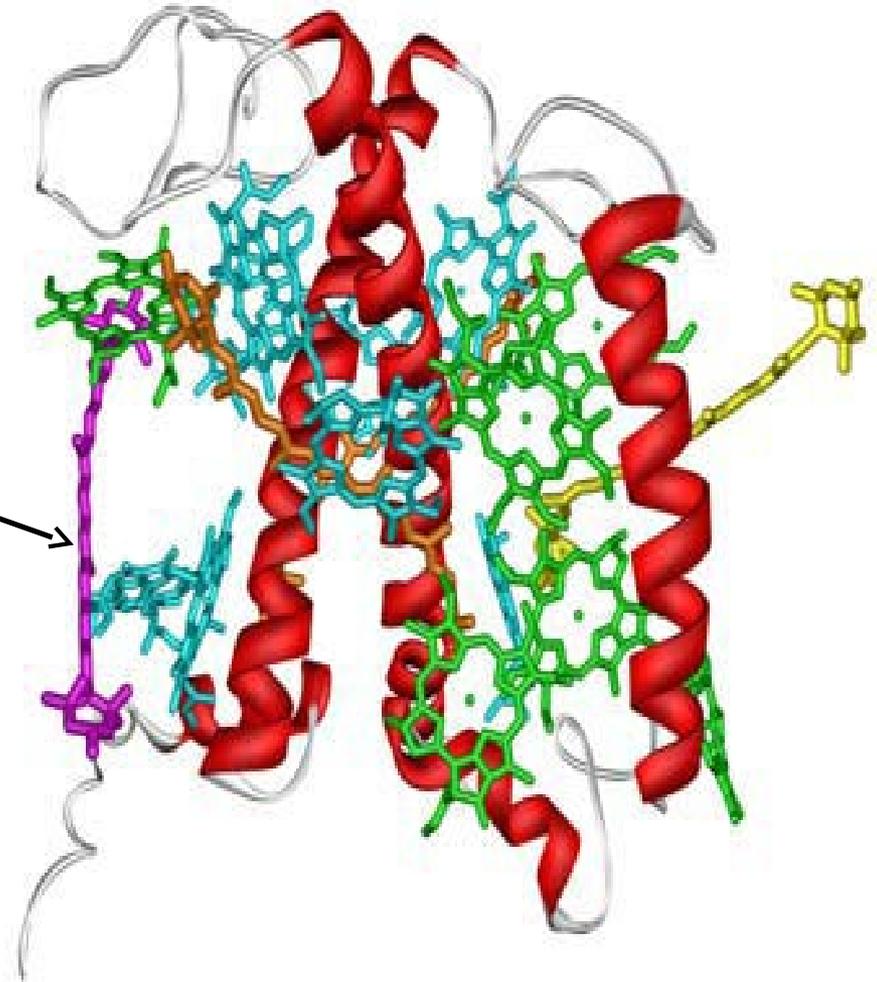




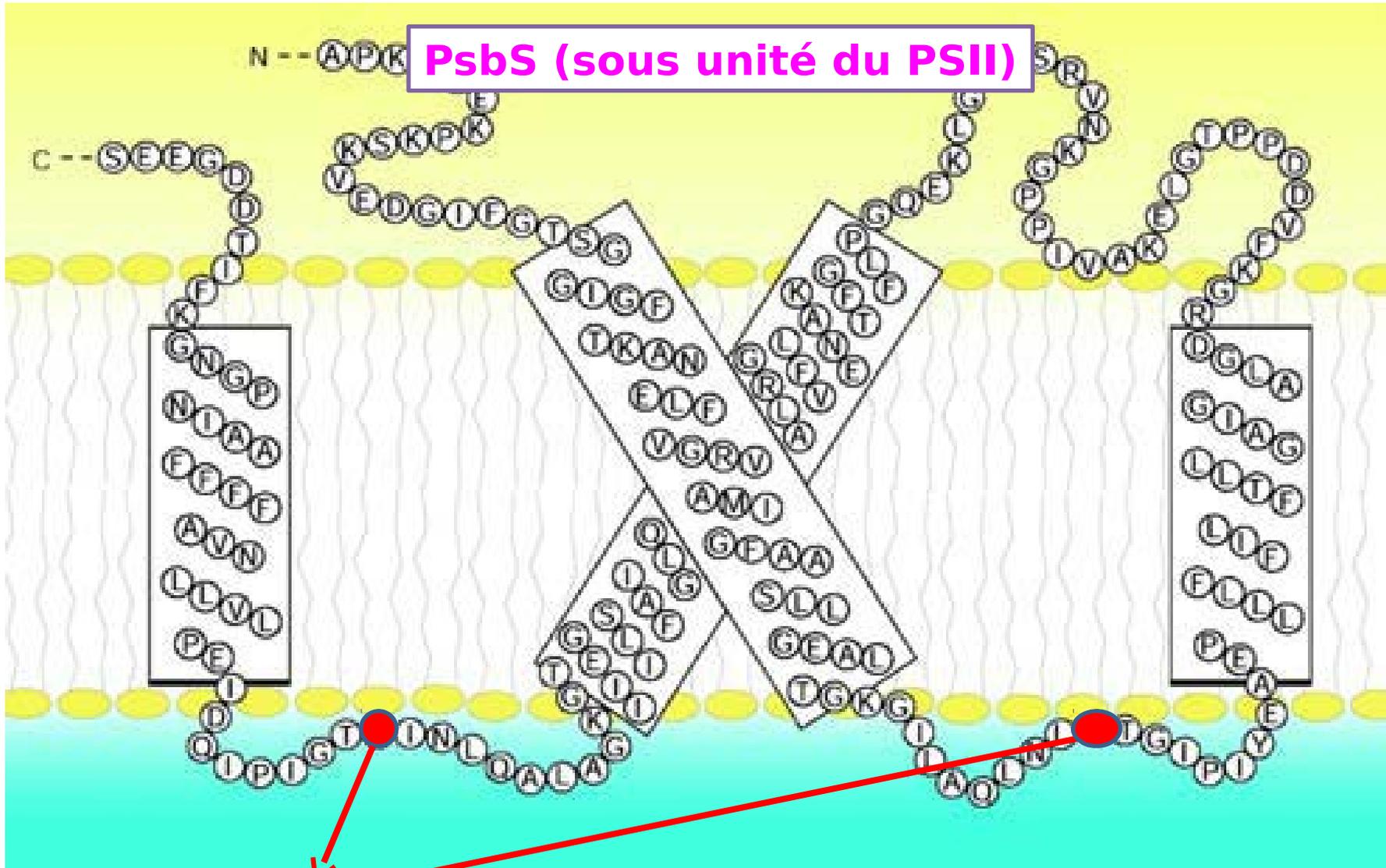
# LHCII

14 chlorophylles,  
3 caroténoïdes étroitement  
liés  
+  
1 violaxanthine faiblement  
liées

La violaxanthine lié  
dans le  
site externe est  
promptement  
disponible pour la  
deepoxydation  
à zeaxanthine



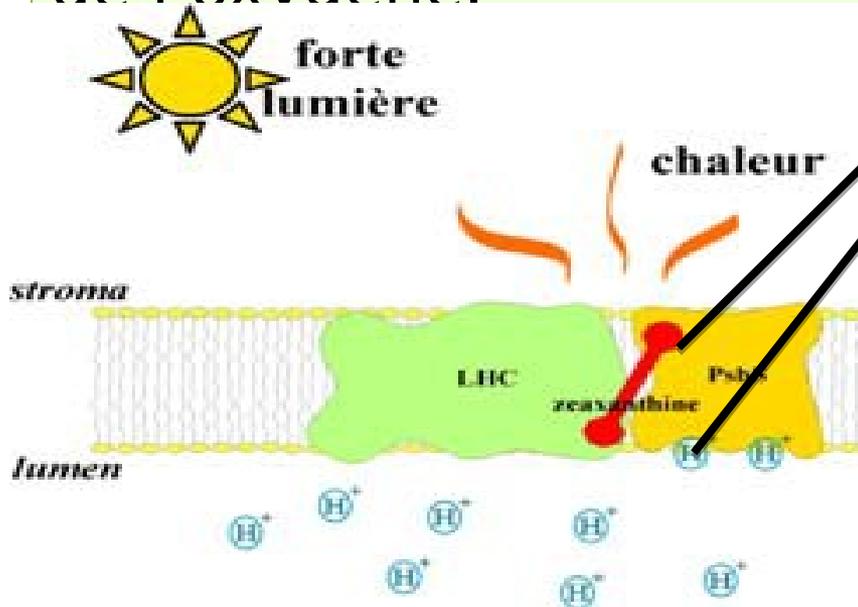
**PsbS (sous unité du PSII)**



**Ces deux glutamates se peuvent protoner et sont des senseurs du pH luminal**

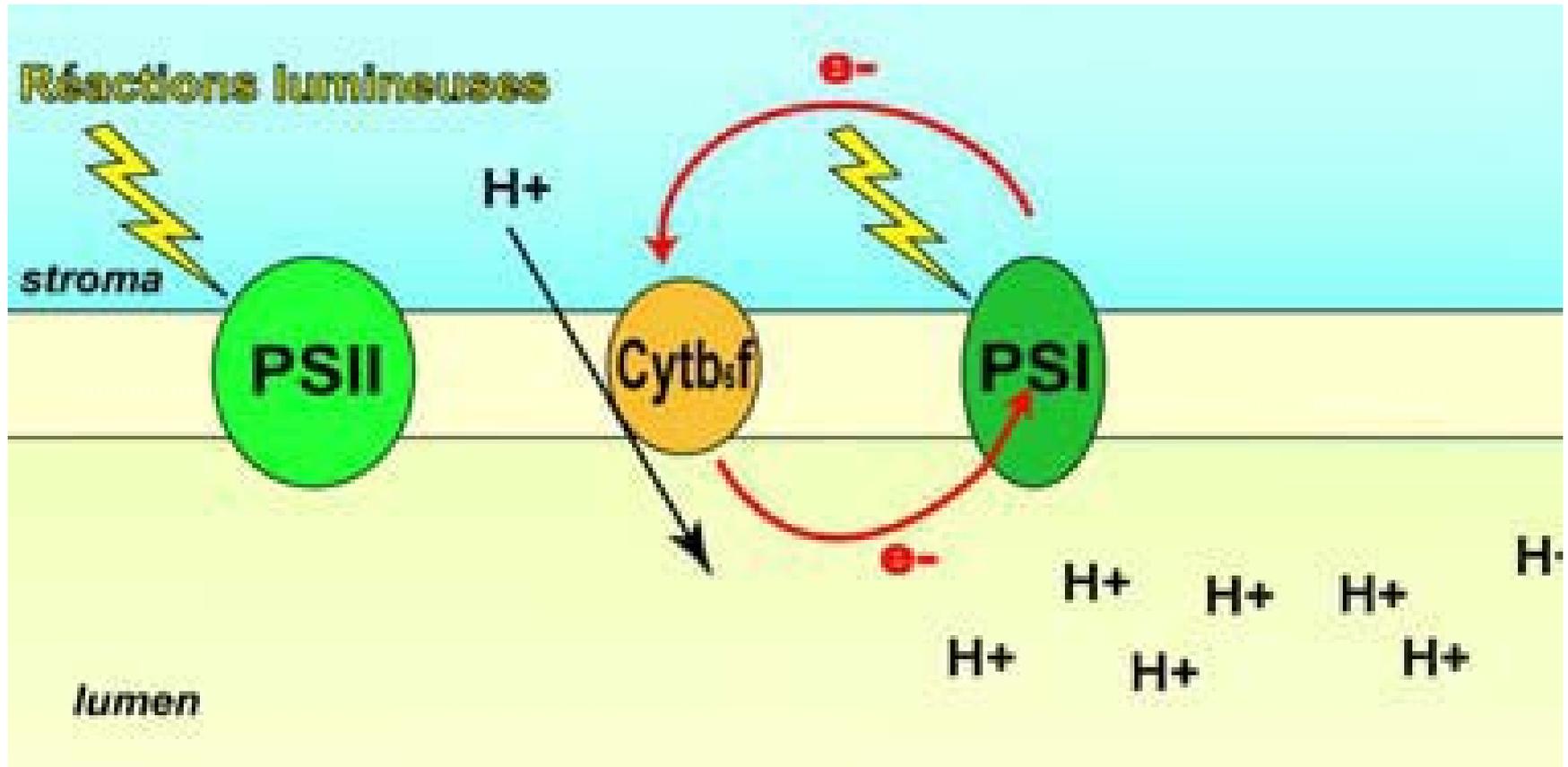
# Mécanismes du NPQ: PsbS, protéines Lhc et zéaxanthine

Les protéines LHC, qui composent le système antenne des plantes supérieures et qui lient les caroténoïdes, et la protéine PsbS interagissent pour dissiper l'énergie absorbée en excès sous forme de chaleur en évitant la formation d'espèces réactives de l'oxygène.



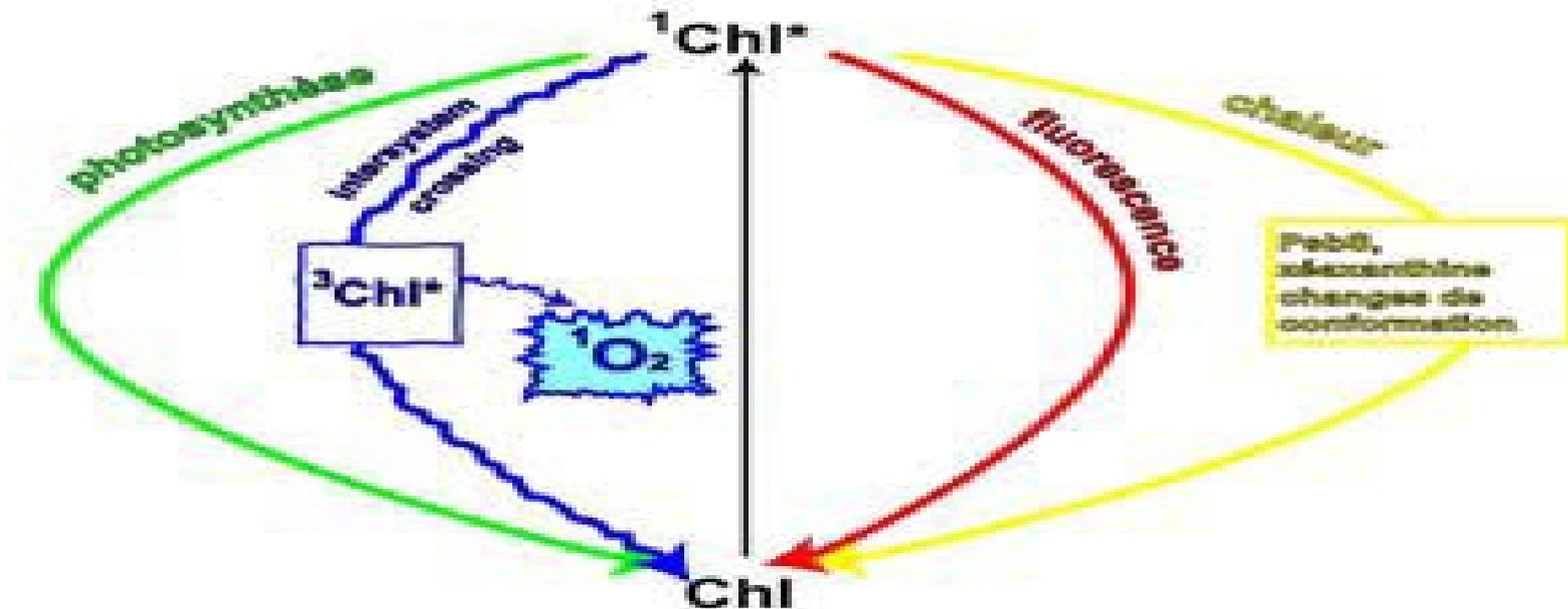
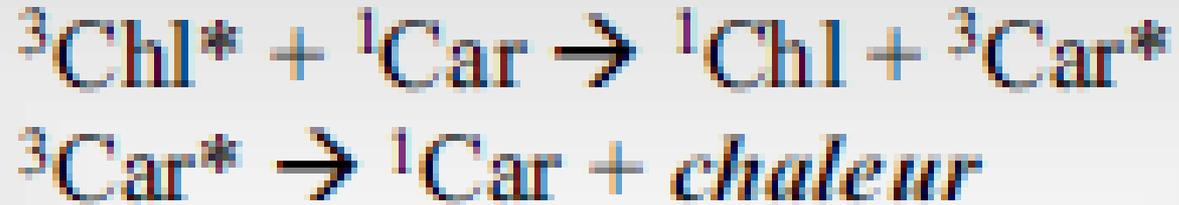
**Des changements de conformation protéique induits soit par protonation de PsbS, soit par la liaison de la zéaxanthine aux protéines LHC, sont nécessaires pour la dissipation de l'énergie en chaleur (NPQ). Le mécanisme précis du**

# Le transport cyclique des électrons permet de baisser le pH lumenal



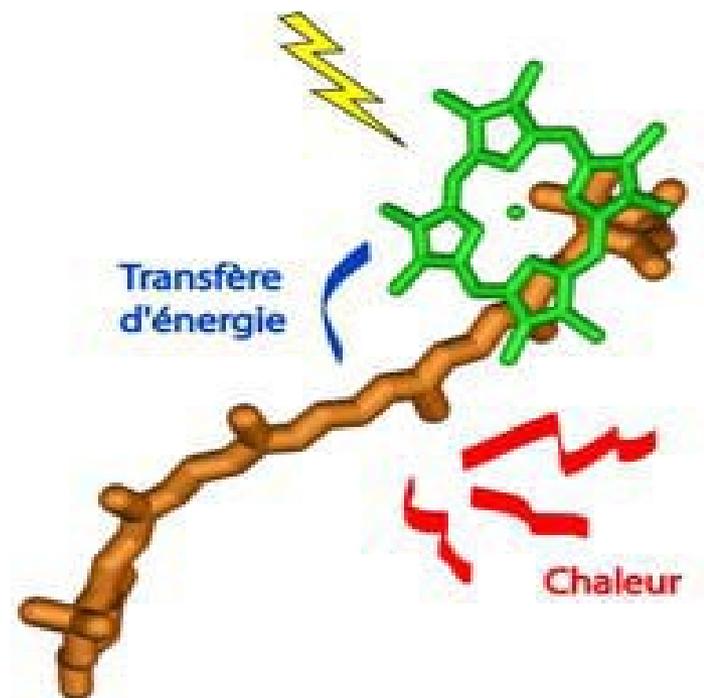
**En absence d'un accepteur des électrons, le transport cyclique peut baisser le pH lumenal et donc faire démarrer les mécanismes de photoprotection pH dépendants (PsbS, Cycle de xanthophylles).**

# Quenching des chlorophylles triplet par les *caroténoïdes*:



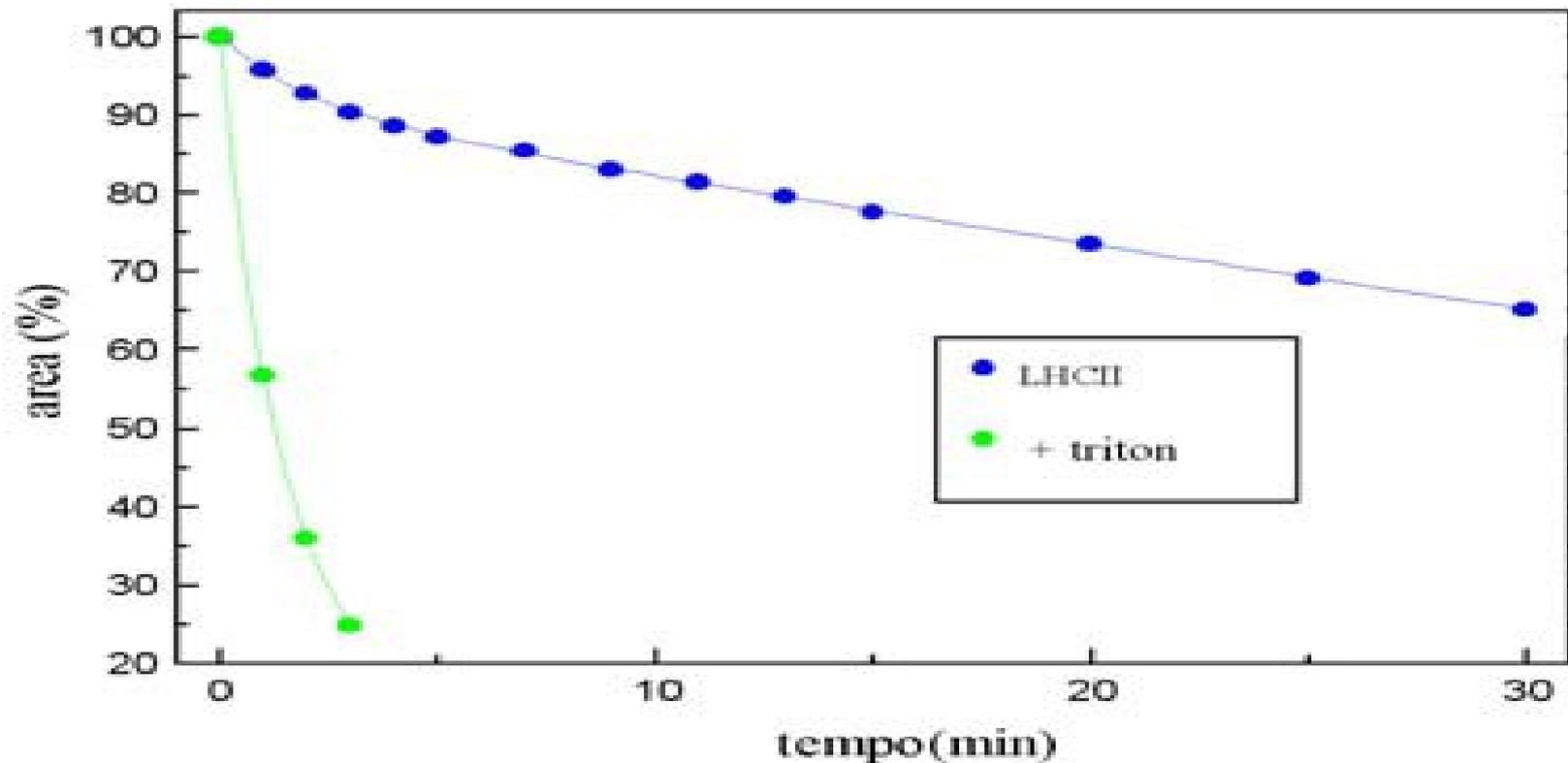
Les caroténoïdes doivent être à une distance et dans une orientation précises avec les chlorophylles

Les états triplets des chlorophylles sont dissipés par transfert d'énergie aux caroténoïdes si la distance est assez petite (van der Waals)



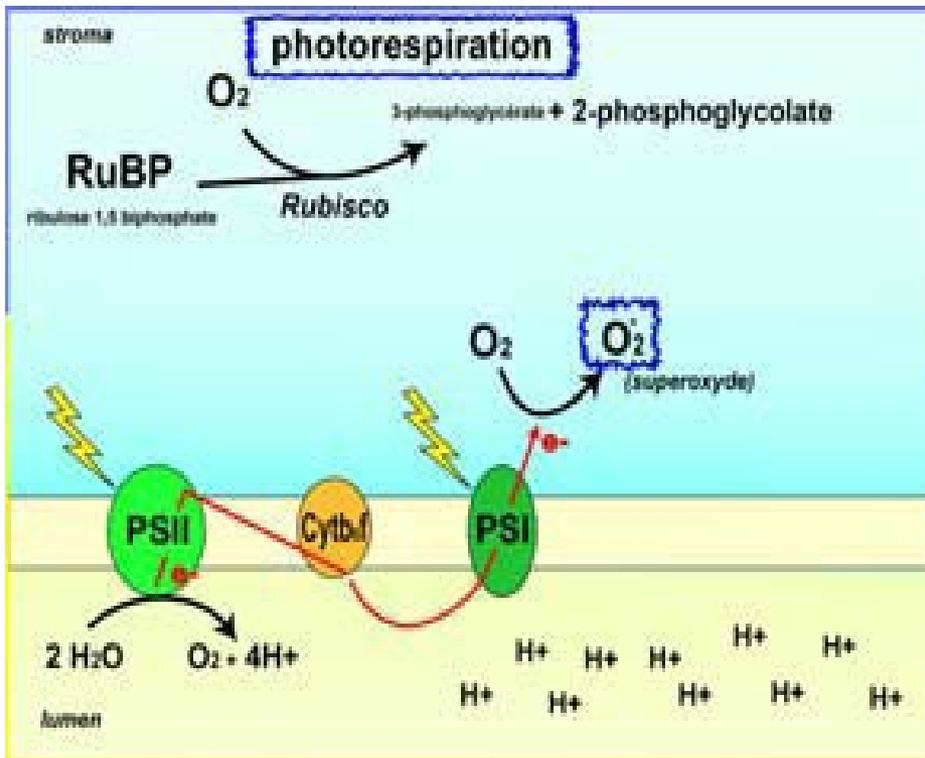
# Les caroténoïdes doivent être en contact avec les chlorophylles

Cette association est possible grâce à des protéines qui maintiennent les chlorophylles et les caroténoïdes à une distance et orientation précises.



# Quenching photochimique

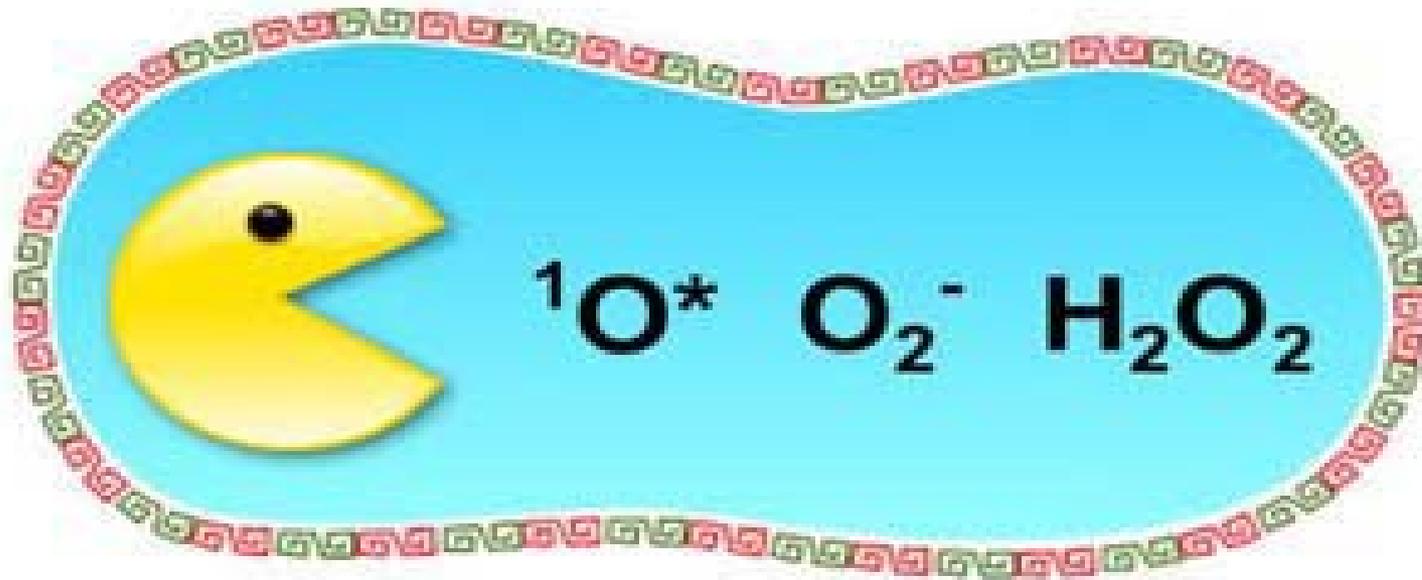
- Photorespiration:  $O_2$  comme substrat de la Rubisco (et récupération des produits à réutiliser dans la photosynthèse)
- $O_2$  comme accepteur de la chaîne de transport électronique (et suivant scavenging du superoxyde )



Important quand la concentration de  $CO_2$  est basse (sécheresse → clôture stomate) ou quand il y a de changements rapides de la photosynthèse qui peuvent saturer les accepteurs normaux des électrons ( $NADP^+ + e^- + CO_2$ )

# Mécanismes de détoxification des ROS

Ces mécanismes servent pour éliminer les ROS ou pour contenir les dégâts provoqués.



## **Définition d'un antioxydant :**

N'importe quelle substance qui, lorsqu'elle est présente à une concentration faible par rapport à un substrat oxydable, retarde de façon significative ou empêche l'oxydation du substrat.

### **\* ENZYMATIQUES**

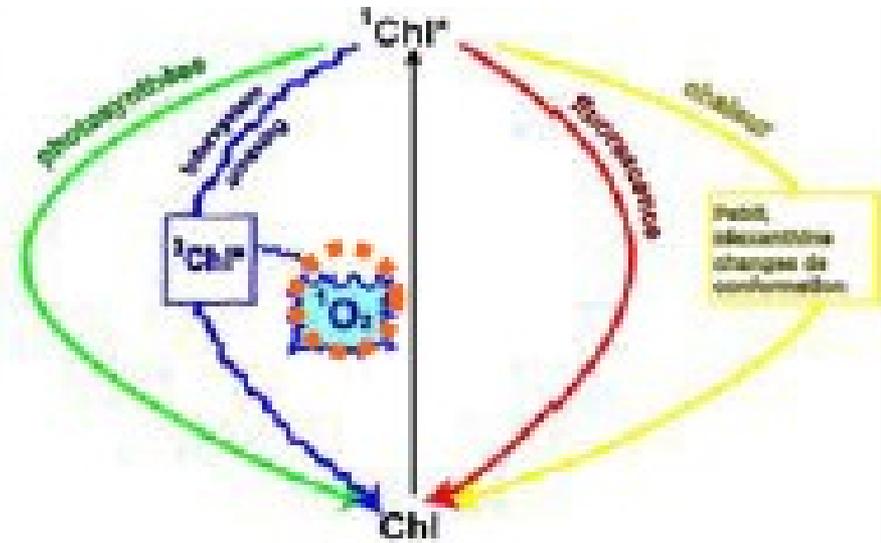
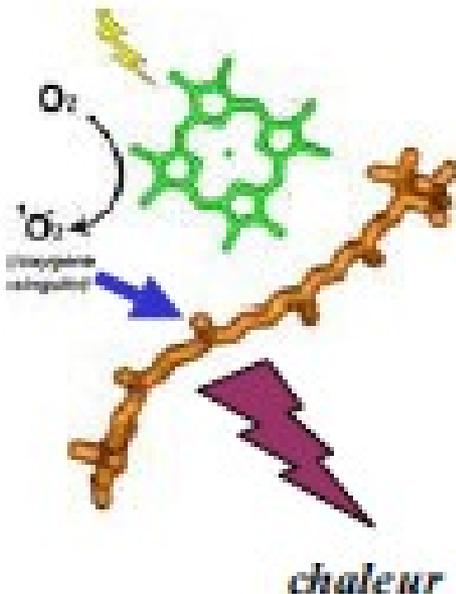
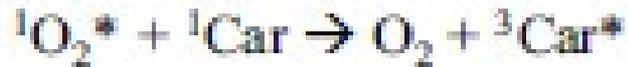
- Superoxyde dimustase
- Catalase
- Glutathion peroxydase
- Glutathion réductase
- Autres enzymes de phase 2
- Glutathion S transférase
- Thiorédoxine réductase
- Hème oxygénase

### **\*NON-ENZYMATIQUES**

- Protéines
- Albumine
- Céruloplasmine,...
- Hydrosolubles
- Vitamine C (acide ascorbique)
- Glutathion
- Acide urique
- Liposolubles
- a-tocophérol ((vitamine E))
- Coenzyme Q10
- Caroténoïdes
- Polyphénols-flavonoïdes

# 1- Scavenging de l'oxygène singulet

Par les caroténoïdes...



...et par le tocophérol (vitamine E, libre dans la membrane)



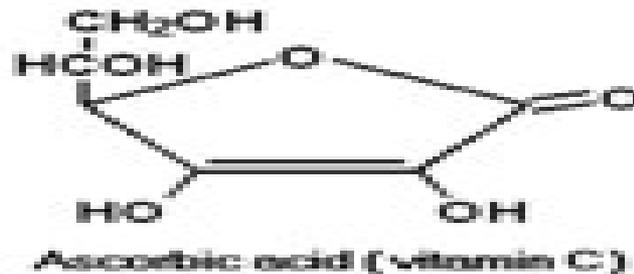
## 2- Terminaison des réactions en chaîne

(stabilisation des radicaux produits dans la peroxydation des lipides)

Par les caroténoïdes et le tocophérol avec des réaction comme:



Le tocophérol radical arrête la réaction en chaîne et il est re-converti en tocophérol par la **vitamine C (acide ascorbique)** et les caroténoïdes.



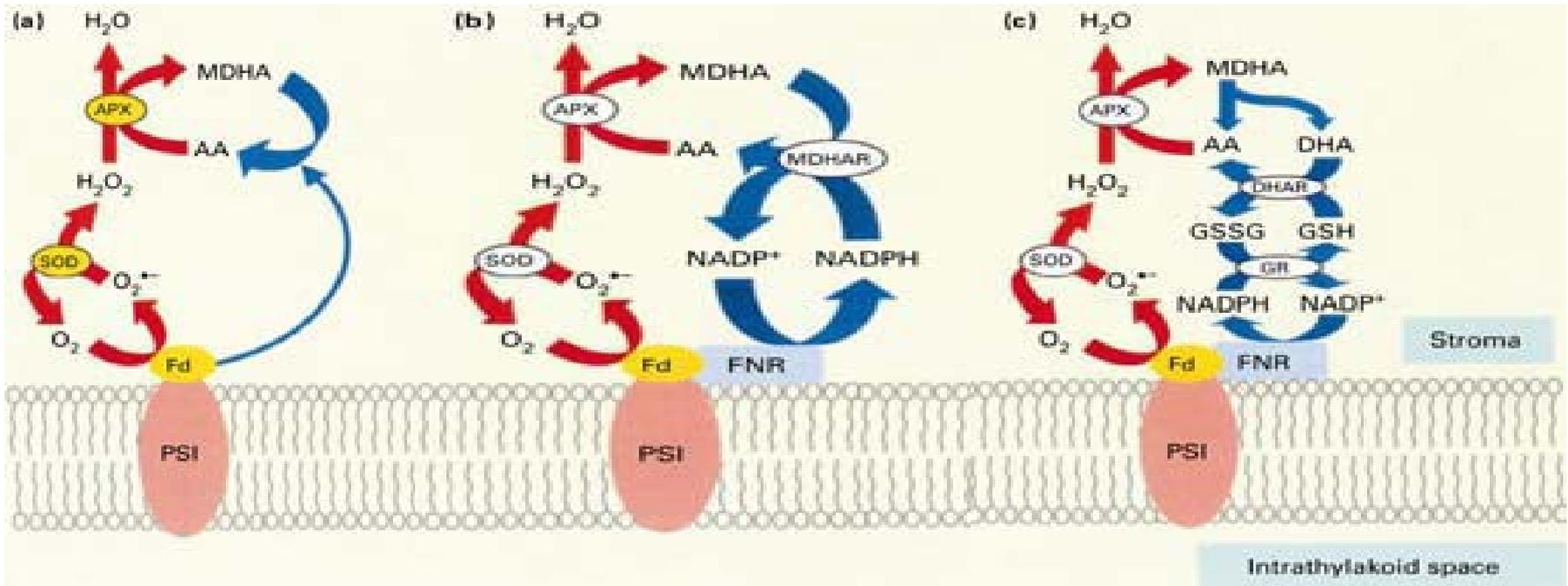
Les lipides hydroperoxydes peuvent être stabilisés par des **glutathion peroxydase**:



**Glutathion réduit**  
**Glutathion oxydé**

# 3- Scavenging du superoxyde ( $O_2^-$ )

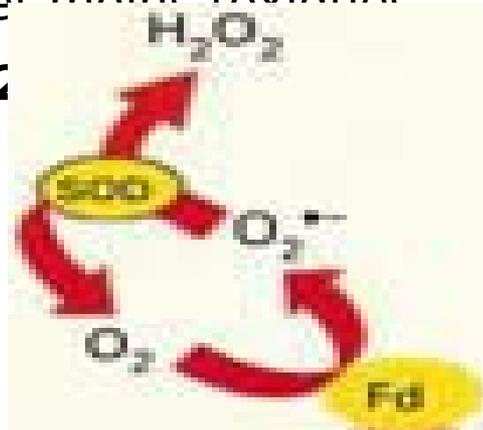
## Le cycle « water-water » (réaction de Mehl)



**Légende:** *SOD*=superoxyde dismutase; *APX*=ascorbate peroxydase; *AA*=acide ascorbique; *MDHA*=monodéhydroascorbate; *MDHAR*=MDHA réductase; *DHA*=déhydroascorbate; *DHAR*=DHA réductase; *GSH*=glutathion réduit; *GSSG*=glutathion oxydée; *GR*=Glutathion réductase; *Fd-FNR*=ferrédoxine (NADP+ reductase)

# Le « water-water » cycle

La **Superoxyde dismutase (SOD)** lie deux ions superoxyde à deux ions hydrogène pour produire de l'oxygène moléculaire et de l'eau oxygénée, neutres et moins toxiques



(**superoxyde dismutase, SOD**)



Ces enzymes contiennent du Cu, Zn, Mn ou Fe.

L'**Ascorbate peroxydase (APX)** réduit l'eau oxygénée en eau en utilisant le **pouvoir réducteur** de l'ascorbate (vitamine C):



(Ascorbate peroxydase)



# Le monodéhydroascorbate est enfin réduit en ascorbate par

1) la *Ferredoxine* (directement)



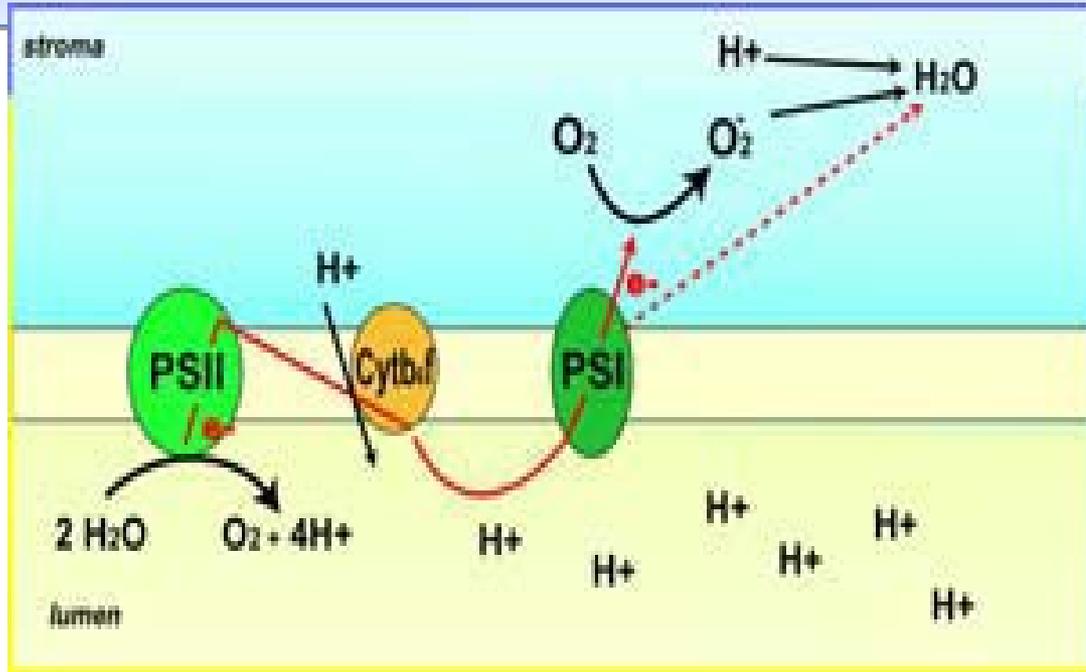
2) la *Monodéhydroascorbate réductase* (MDHAR, en utilisant le NADPH)



3) La *Déhydroascorbate réductase* (DHAR en utilisant le glutathion) qui réduit le déhydroascorbate formé spontanément par dismutation du monodéhydroascorbate



Dans le cycle water-water (réaction de Mehler) les électrons extraits de l' $H_2O$  dans le PSII retournent à l'oxygène en reformant de l' $H_2O$ .



Dans ce cycle il n'y a pas assimilation nette de carbone, ni formation de pouvoir réducteur.

L'avantage est que les transporteurs des électrons restent actifs et la pression d'excitation au PSII est réduite.

D'ailleurs, le gradient de pH dans la membrane est maintenu. Ce gradient est important parce qu'il est fondamental pour l'activation des mécanismes de prévention des ROS.

### **Enzymes clé pour la détoxification du superoxyde:**

- ***Superoxyde dismutase (SOD) → dismutation de  $O_2^-$  - en  $O_2$  et  $H_2O_2$***
- ***Ascorbate peroxydase (APX) → réduction de  $H_2O_2$  en  $H_2O$***

## 4- Détoxyfication du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Dans la photorespiration on produit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans les peroxysomes. Il est alors

dismuté en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> par l'enzyme **Catalase**  
**2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → 2 H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub> (Catalase)**



*Des Glutathion peroxydase peuvent être aussi important pour l'élimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (sûrement chez les animaux, pas encore bien caractérisé chez les plantes)*

**2GSH + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → GSSG + 2H<sub>2</sub>O (Glutathion peroxydase)**

Enzymes clé pour la détoxyfication:

- Catalase:



- Ascorbate peroxydase (APX):



*Noter que le peroxyde d'hydrogène produit chez le chloroplaste pendant le cycle water-water est réduit par l'ascorbate peroxydase.*

## Résumé

4 modalités principales de production de ROS dans le chloroplaste (au niveau du PSII, PSI, photorespiration + peroxysomes) due à surexcitation des photosystème (et les stress environnementaux amplifient ce phénomène)  
+ respiration mitochondriale défectueuse  
+ stress oxydants directs

Les plantes se protègent avec les suivantes mécanismes:

- ***Dissipation thermique de l'énergie en excès (surtout au PSII)***

- ***Dissipation photochimique de l'énergie en utilisant l'O<sub>2</sub> comme accepteur***

de la chaîne de transport électronique lorsque la [CO<sub>2</sub>] est faible.

- ***Utilisation de toute une série d'enzymes et molécules antioxydantes pour***

détoxifier les espèces réactives de l'oxygène produites.

# Molécules antioxydantes

- **Caroténoïdes, notamment la zéaxanthine (dans la membrane: NPQ, quenching**

chlorophylle triplet, scavenging oxygène singulet et radicaux peroxy)

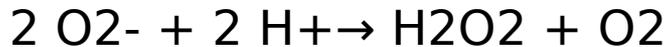
- **Acide ascorbique (vit C; soluble: scavenging radicaux, peroxyde d'hydrogène,**

nécessaire pour le cycle des xanthophylles et régénération d'autres molécules antioxydantes)

# Enzymes détoxifiants

- **Glutathion (pouvoir réducteur pour plusieurs réactions de détoxification)**

- **Superoxyde dismutases (SOD):**



- **Ascorbate peroxydases (APX):**



- **Catalases:**



- **Glutathion peroxydases**



# CONCLUSION

- Les **ROS** possèdent aussi une **fonction très importante** pour la **signalisation cellulaire** des conditions de stress afin d'**activer les réponses pour l'acclimatation à l'environnement**.
- Ces mécanismes sont pour la plupart inconnus. Les demi-vies des ROS sont très brèves (peu de secondes pour le superoxyde, microsecondes pour l'oxygène singulet) et donc leur distance de diffusion du site de génération est très courte, sauf pour le peroxyde d'hydrogène. Donc cette molécule est censée être **très importante pour l'activation des réponses cellulaire**. De toute façon, les mécanismes comme l'oxydation réversible de résidus (ex. cystéine) dans particulières protéines par d'autres ROS sont considérés nécessaires pour plusieurs réponses.

