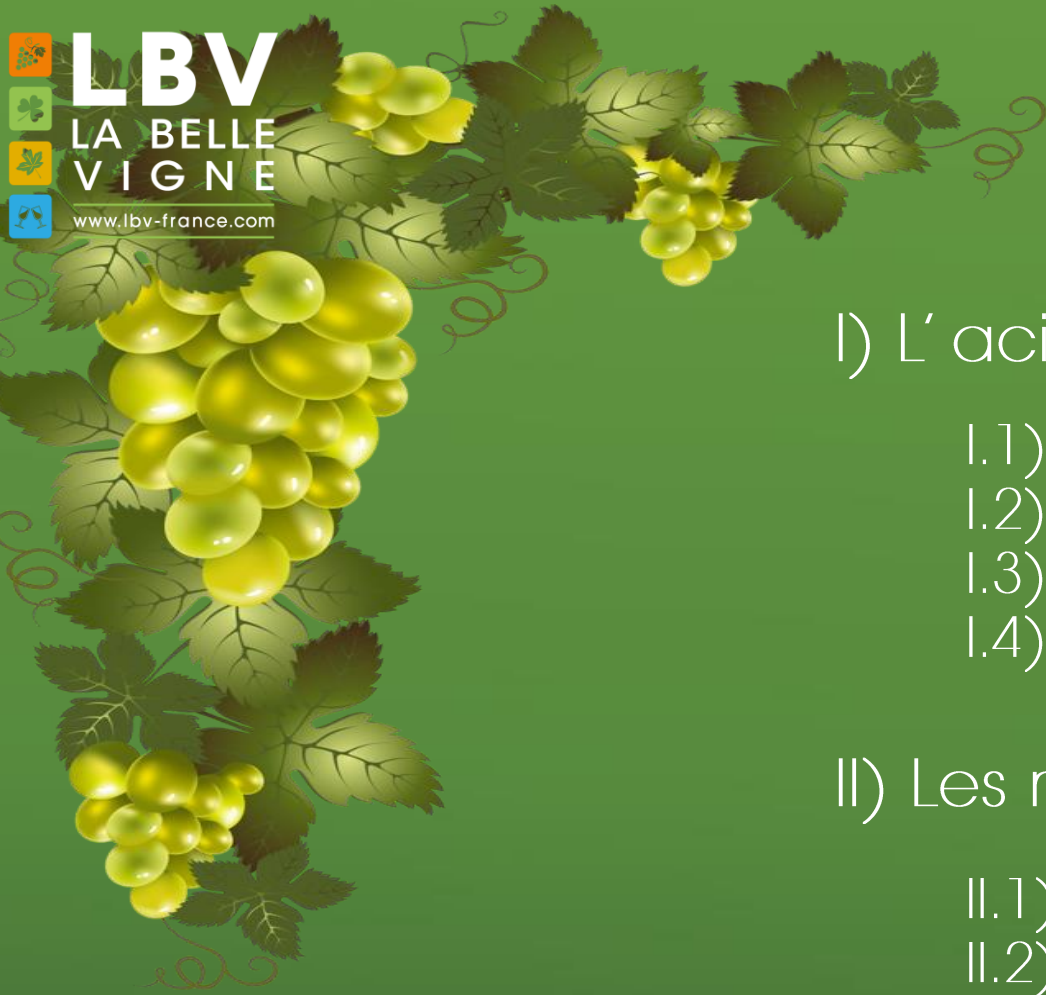


L'acide ascorbique et son rôle dans la plante





I) L'acide ascorbique (vitamine C)

- I.1) Structure de l'acide ascorbique
- I.2) Biosynthèse de l'ascorbate chez les plantes
- I.3) Recyclage de l'ascorbate et statut redox
- I.4) Variabilité des teneurs en vitamine C dans la plante

II) Les rôles de la vitamine C dans la plante

- II.1) Croissance et développement
- II.2) Cofacteur
- II.3) Antioxydant
- II.4) Défense contre les pathogènes
- II.5) Photosynthèse
- II.6) Florescence et Senescence

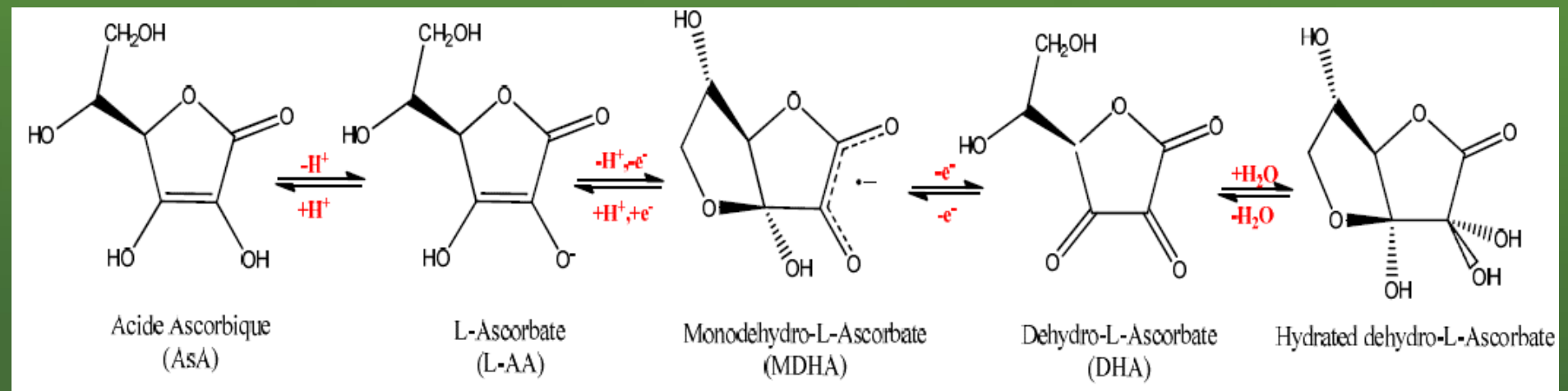
I - L'acide ascorbique (vitamine C)

La vitamine C est un donneur d'électrons (agent réducteur ou antioxydant) et toutes ses fonctions biochimiques et moléculaires peuvent probablement être expliquées par cette fonction.

I.1) Structure de l'acide ascorbique

- ✓ La vitamine C est un acide organique dont la structure est apparentée à celle des sucres à six atomes de carbone (formule chimique $C_6H_8O_6$).
- ✓ Dans la plante, l'acide ascorbique est principalement présent sous sa base conjuguée : L - Ascorbate (Cf Fig.1).
- ✓ L'ascorbate ou l'acide ascorbique constitue la forme réduite de la vitamine C.

Figure 1 : structure chimique de l'Acide Ascorbique, du L-Ascorbate, du monodéhydro-L-Ascorbate, du déhydro-L-Ascorbate et du déhydro-L-ascorbate hydraté d'après Potters et al., 2002)



I - L'acide ascorbique

I.1 - Structure

La caractéristique essentielle de la vitamine C est d'exister sous trois formes différentes dans la plante (trois degrés d'oxydoréduction différents, Cf Fig.1) :

- la forme réduite ou acide ascorbique,
 - la forme semi-réduite (ou mono-oxydée) appelée monodéhydroascorbate (MDHA),
 - la forme oxydée appelée déhydroascorbate (DHA).
-
- ✓ L'ascorbate peut donc être oxydé en monodéhydroascorbate (MDHA) qui se dissocie rapidement de nouveau en ascorbate et en déhydroascorbate (DHA).
 - ✓ Le DHA est ensuite dégradé ou de nouveau réduit (Davey et *al.*, 2000, Horemans et *al.*, 2000^b).

I - L'acide ascorbique

I.2 - Biosynthèse de l'ascorbate chez les plantes

- ✓ Il existe jusqu'à quatre voies de biosynthèse de l'ascorbate chez les plantes (Smirnoff et *al.*, 2001, Wolucka and Van Montagu, 2003, Lorence et *al.*, 2004, Valpuesta and Botella, 2004).
- ✓ La principale voie de biosynthèse est la voie D-mannose/L-galactose appelé aussi voie de Smirnoff-Wheeler dans laquelle l'ascorbate est synthétisé à partir du L-galactose (Wheeler et *al.*, 1998).
- ✓ L'ascorbate est synthétisé au niveau de l'espace intermembranaire de la mitochondrie et peut donc facilement être transporté à travers la membrane externe et ainsi être distribué à tous les compartiments intracellulaires.

I - L'acide ascorbique

1.3 - Recyclage de l'ascorbate et statut redox

- ✓ Comme nous l'avons vu la vitamine C existe sous plusieurs formes dans la plante (acide ascorbique, MDHA et DHA)
- ✓ Les formes oxydées MDHA et DHA sont obtenues par oxydation de l'ascorbate grâce à l'ascorbate oxydase (AO) ou à l'ascorbate peroxydase (APX) (Smirnoff, 2000^b).
- ✓ MDHA et DHA peuvent être soit dégradées, soit réduites par deux réductases (la monodéhydroascorbate réductase ou MDAR, et la déhydroascorbate réductase ou DHAR) pour former de nouveau de l'ascorbate (Cf Fig. 2).

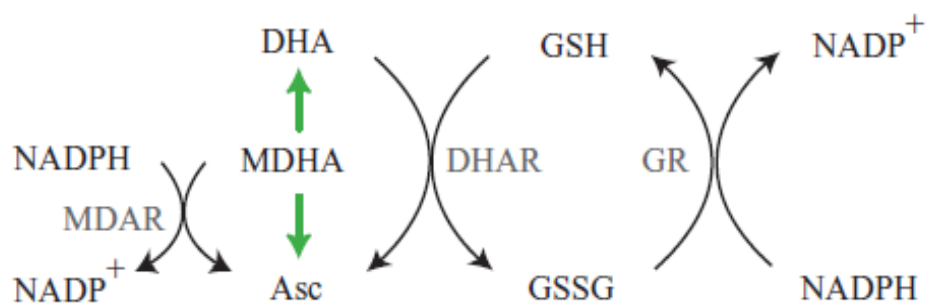


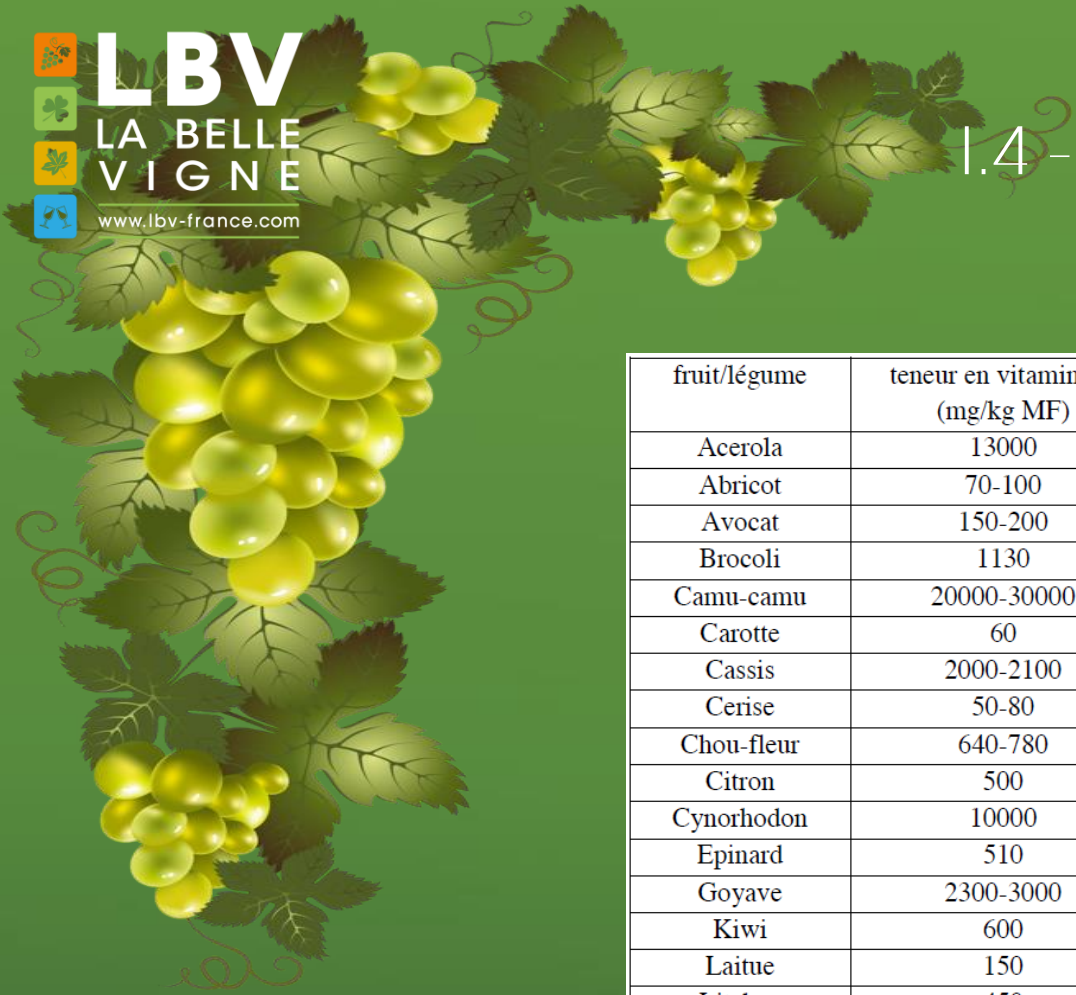
Figure 2: rôle du DHAR et MDAR dans le recyclage de l'ascorbate

L'oxydation de l'Ascorbate produit du MDHA qui peut être réduit de nouveau en Ascorbate grâce à la monodéhydroascorbate réductase (MDAR) qui utilise le NADPH comme réducteur. L'oxydation du MDHA produit le DHA. Le DHA s'hydrolyse spontanément en acide 2,3-dicétogulonique, sauf si il est récupéré par la déhydroascorbate réductase (DHAR) qui va réduire le DHA en Ascorbate en utilisant le glutathion (GSH) en tant que réducteur. Le glutathion ainsi oxydé (GSSG) est réduite par la glutathion réductase (GR) en utilisant le NADPH comme réducteur.

I - L'acide ascorbique

1.3 - Recyclage de l'ascorbate et statut redox

- ✓ Ce recyclage de l'ascorbate par les réductases est au fondement même de son rôle d'antioxydant puisqu'il permet de régénérer la forme active (forme réduite) de la vitamine C après son utilisation pour réduire les Espèces Réactives de l'Oxygène (Chen et *al.*, 2003, Ishikawa et *al.*, 2006) et de maintenir un état redox de la vitamine C dans la plante (rapport entre la forme réduite et la forme totale).
- ✓ Comme la vitamine C est présente en grande quantité dans la plante, elle représente une contribution importante dans l'équilibre redox total de la plante avec les couples $NAD^+/NADH$, $NADP^+/NADPH$ et le glutathion réduit/oxydé (Chen and Gallie, 2004).



I - L'acide ascorbique

1.4 - Variabilité des teneurs en vitamine C dans la plante

fruit/légume	teneur en vitamine C (mg/kg MF)
Acerola	13000
Abricot	70-100
Avocat	150-200
Brocoli	1130
Camu-camu	20000-30000
Carotte	60
Cassis	2000-2100
Cerise	50-80
Chou-fleur	640-780
Citron	500
Cynorhodon	10000
Epinard	510
Goyave	2300-3000
Kiwi	600
Laitue	150
Litchee	450
Melon	100-350
Orange	500
Pêche	70-310
Poire	30-40
Pomme	20-100
Pomme de terre	100-300
Tomate moyenne	200-250

La teneur en vitamine C des fruits et des légumes est très variable selon les genres ou les espèces (Cf Tableau 1).

Tableau 1 :

Teneurs en vitamine C de certains fruits et légumes en mg/kg de matière fraîche (MF) d'après Davey et al. (2000) et Alves et al. (2002)

I - L'acide ascorbique

1.3 - Variabilité des teneurs en vitamine C dans la plante

Cette teneur en vitamine C est aussi variable dans les différents organes de la plante, au sein des différents compartiments de la cellule végétal (Foyer et *al.*, 1983, Rautenkranz et *al.*, 1994) et au cours du cycle de développement de la plante.

Au sein des organes de la plante :

- Le statut redox de la vitamine C dans la plante est différents en fonction de l'organe étudié (Noctor, 2006),
- Dans les parties aériennes la vitamine C est principalement sous forme réduite avec moins de 10% de DHA alors qu'elle est plus sous forme oxydée dans les racines avec jusqu'à 30% de DHA (Córdoba-Pedregosa et *al.*, 2003).
- Dans les fruits, la vitamine C est principalement sous forme réduite pendant la maturation car celle-ci implique de nombreux processus oxydatifs comme la dégradation des parois cellulaires (Foyer and Noctor, 2009).

I - L'acide ascorbique

1.3 - Variabilité des teneurs en vitamine C dans la plante

Dans la cellule végétale:

- La vitamine C est présente dans tous les compartiments cellulaires mais à différentes concentrations (Cf Fig. 3),
- La vitamine C s'accumule de manière importante dans les chloroplastes où elle peut atteindre 30-40% de la quantité totale de vitamine C de la feuille (Foyer et *al.*, 1983).

Ces fortes accumulations sont en relation avec le rôle de l'ascorbate dans la détoxification des Espèces Réactives de l'Oxygène produites par le métabolisme cellulaire (Potters et *al.*, 2002).

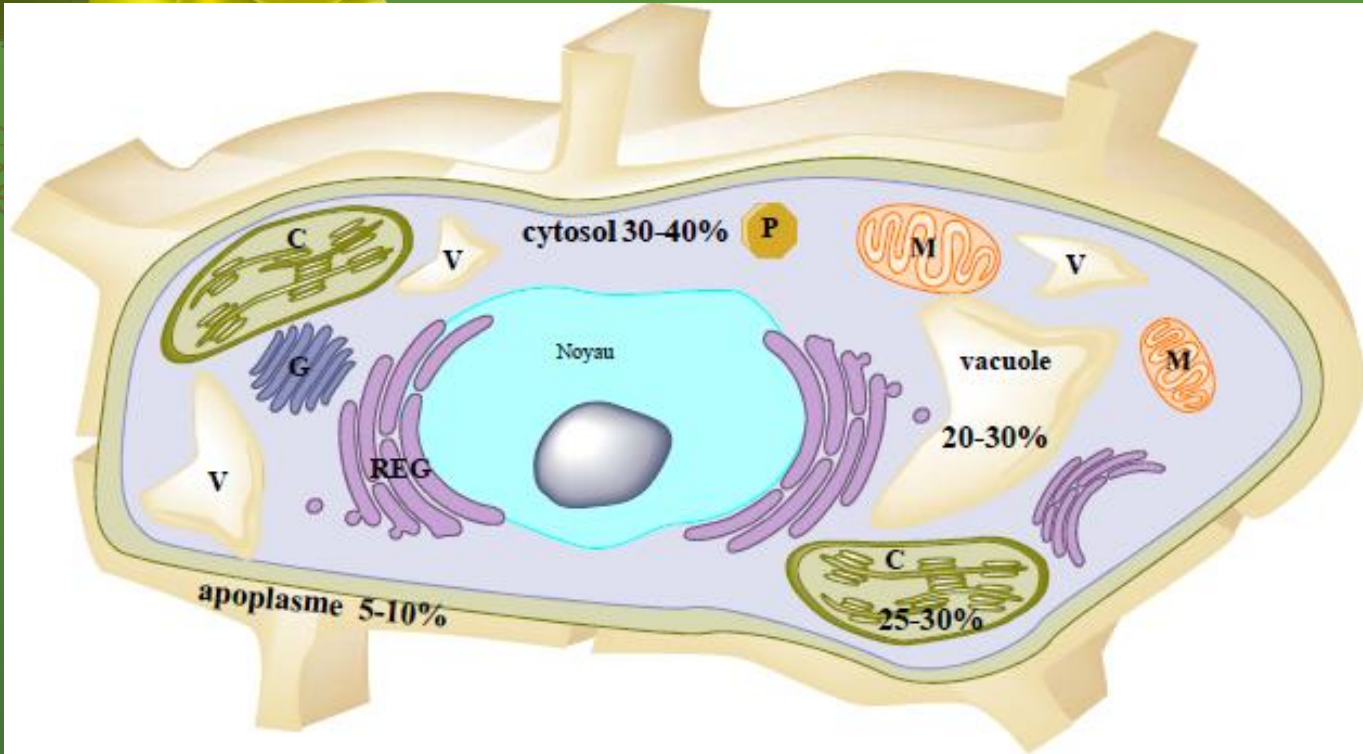


Figure 3 : Cellule végétale avec ces différents compartiments et organites (V, vacuole; M, mitochondrie; C, chloroplaste; P, peroxysome; REG, réticulum endoplasmique granuleux; G, appareil de Golgi). Les teneurs en ascorbate dans les différents compartiments sont exprimés en pourcentage. (d'après Horemans et *al.*, 2000^b).

I - L'acide ascorbique

1.3 - Variabilité des teneurs en vitamine C dans la plante

Au cours du développement de la plante:

- Le statut redox de la vitamine C est différent au cours du développement de la plante.
- Dans les feuilles, la teneur en vitamine C est élevée chez les feuilles jeunes encore en croissance et elle est majoritairement sous forme réduite. Cette teneur diminue dans les feuilles matures et pré-senescentes où elle est majoritairement sous forme oxydée (Chen et al., 2003, Li et al., 2010).
- L'activité photosynthétique des jeunes plantes est faible car la chlorophylle des jeunes feuilles n'est pas totalement fonctionnelle. Elles le deviennent au bout de 3 semaines à 1 mois: durant cette phase la jeune feuille est sensible au stress oxydatif ce qui explique leur forte teneur en vitamine C. Une pulvérisation de vitamine C durant cette période renforce donc l'activité réductrice de la vitamine C déjà présente par une augmentation de transfert d'électrons (Schreiber, 2020; Cf les fiches d'expérimentation Assimil. K Santé et Vitamine C présentées sur le site de La Belle Vigne).

II – Les rôles de la vitamine C dans la plante

II.1 – Croissance et développement

- ✓ La vitamine C est essentielle à la croissance et au développement des plantes,
- ✓ Il semblerait que la vitamine C joue un rôle dans la division et l'expansion cellulaire qui permettent à la plante de croître (Davey et *al.*, 2000).

II.2 – Cofacteur

- ✓ L'ascorbate est également un cofacteur pour de nombreuses enzymes impliquées dans la photosynthèse, la biosynthèse d'hormones et la régénération d'antioxydants tels que α -tocophérol (Gallie D. R., 2012, De Tullio et *al.*, 1999, Arrigoni and De Tullio, 2000, Davey et *al.*, 2000),
- ✓ La plupart de ces enzymes contiennent du fer ou du cuivre dans leur site actif. Le rôle de l'ascorbate est alors de conserver l'ion métallique de ce site actif sous sa forme réduite et d'augmenter ainsi l'activité de ces enzymes (Davey et *al.*, 2000).

II – Les rôles de la vitamine C dans la plante

II.3 – Antioxydants

La vitamine C est un antioxydant majeur pour la plante capable de neutraliser les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO).

- ✓ L'utilisation de l'oxygène indispensable à la plante pour synthétiser des substrats carbonés s'accompagne de la formation d'Espèces Réactives de l'Oxygène ou ERO.
- ✓ Ces ERO comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), l'oxygène singulet (1O_2) et le radical hydroxyle (HO^{\cdot}) sont nocifs pour la plante.
- ✓ Ces ERO sont générés par le métabolisme aérobie dans:
 - les chloroplastes (Asada, 1999)
 - les mitochondries,
 - les peroxysomes,
 - pendant l'exposition à des stress (sécheresse, blessure, carence nutritive, forte salinité, forte luminosité, polluants, excès de nitrate, etc...)
- ✓ Des quantités excessives de ERO conduisent à un état toxique appelé stress oxydatif et peuvent infliger de sérieux dommages à la cellule car ils sont capables de détruire les protéines, dénaturer l'ADN, peroxyder les lipides et entraîner la mort cellulaire (Noctor and Foyer, 1998, Davey et al., 2000, Potters et al., 2002).

II – Les rôles de la vitamine C dans la plante

II.3 – Antioxydants

Parmi l'ensemble des molécules antioxydantes présentes chez les plantes, l'ascorbate joue un rôle prédominant dans la régulation de la concentration intracellulaire en ERO (Cf fig. 4) car c'est le plus abondant dans la cellule végétale (Smirnoff, 2000^b, Conklin, 2001) : il réagit directement avec plusieurs ERO tels que $\text{OH}\cdot$, H_2O_2 et O_2^- (Padh, 1990, Shao et al., 2008).

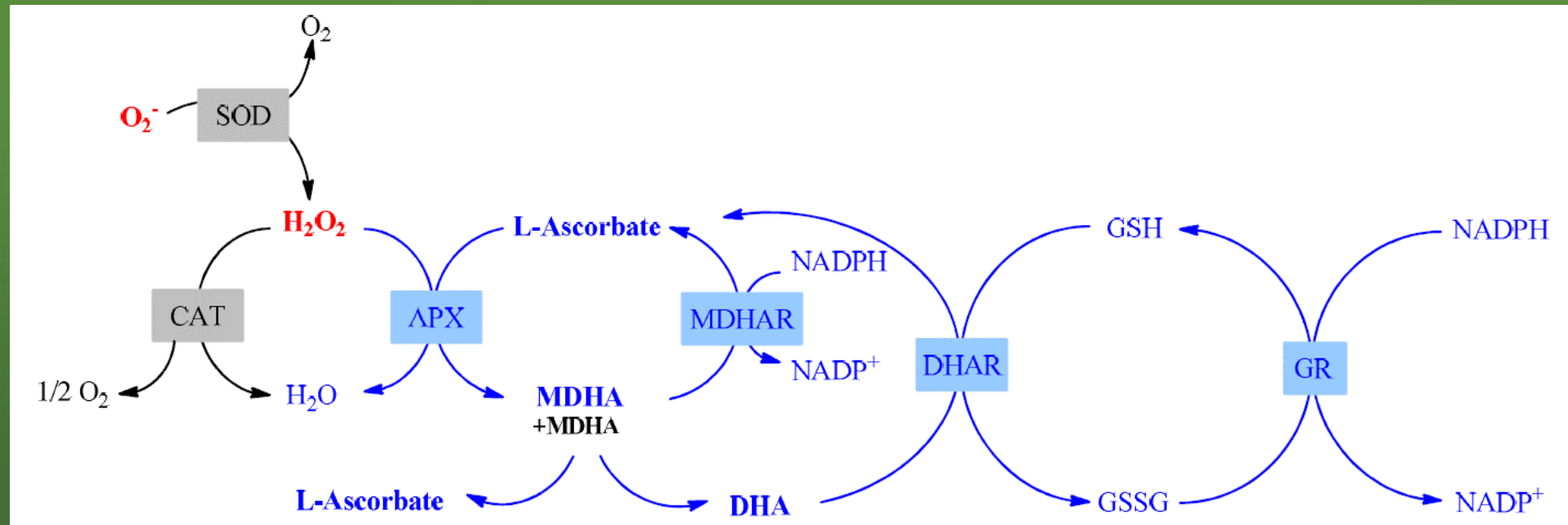


Figure 4 : Détoxification des Espèces Réactives de l'Oxygène par le cycle ascorbate/glutathion (en bleu) et l'action des enzymes SOD et CAT (en noir). Les enzymes impliquées sont : SOD, superoxyde dismutase ; CAT, catalase ; APX, ascorbate peroxydase ; MDHAR, monodéhydroascorbate réductase ; DHAR, déhydroascorbate réductase ; GR glutathion réductase (Foyer and Noctor, 2009).

II – Les rôles de la vitamine C dans la plante

II.4 – Défense contre les pathogènes

- ✓ Lorsque la plante est attaquée par un pathogène qu'elle reconnaît, elle met en place une réponse hypersensible.
- ✓ Cette réponse se traduit par la synthèse massive et rapide de:
 - phytoalexines (composés antibiotiques),
 - de ERO,
 - de protéines de défense (appelées PRP pour Pathogenesis Related Proteins),
 - par la mort cellulaire programmée (Lamb and Dixon, 1997).
- ✓ La mort cellulaire programmée résulte de l'épaississement des parois déclenché par la synthèse des ERO et en particulier d' H_2O_2 .
- ✓ Il en résulte des nécroses cellulaires qui doivent permettre de stopper le pathogène.

II – Les rôles de la vitamine C dans la plante

II.4 – Défense contre les pathogènes

Rôle supposé de la vitamine C dans la défense contre les pathogènes :

- ✓ L'étude de plantes mutées déficientes en vitamine C (*Arabidopsis thaliana*) a permis de mettre en évidence le rôle de la vitamine C comme régulateur de la réponse aux pathogènes car elles sont plus résistantes aux bioagresseurs.
- ✓ En effet, la diminution des teneurs en vitamine C entraîne:
 - une forte induction des gènes codant pour des protéines PR,
 - une accumulation importante de phytoalexines et de certaines enzymes lytiques (Pastori et al., 2003, Barth et al., 2004, Colville and Smirnov, 2008).
- ✓ Néanmoins, ces mécanismes de régulation de défense contre les pathogènes par la vitamine C restent inconnus.

II – Les rôles de la vitamine C dans la plante

II.5 – Photosynthèse

- ✓ Les plantes peuvent être soumises, particulièrement en été, à des excès de lumière qui sont supérieurs à l'éclairement nécessaire pour la photosynthèse maximale.
- ✓ L'activité photosynthétique étant limitée par la vitesse des réactions d'assimilation du CO_2 , il en résulte une saturation de la chaîne de transfert d'électrons.
- ✓ Les photosystèmes ne peuvent alors plus évacuer les charges électroniques provenant de l'excès de photons absorbés, entraînant la formation de ERO par transfert de ces électrons vers les molécules d'oxygènes.
- ✓ L'ascorbate joue un rôle important de protection en piégeant ces ERO formées en conditions d'excès de lumière et participe ainsi au maintien de l'intégrité fonctionnelle et structurale de la cellule photosynthétique.

II – Les rôles de la vitamine C dans la plante

II.6 – Florescence et Senescence

Florescence

- ✓ L'ascorbate agit comme un cofacteur dans les voies de biosynthèse de l'acide gibbérellique et de l'acide abscissique (Pastori et *al.*, 2003) qui sont deux phytohormones liées aux processus de floraison.

Senescence

- ✓ La teneur en ascorbate dans la plante est également corrélée avec la programmation de la sénescence des cellules. Une forte concentration en ascorbate retarderait le déclenchement des processus de sénescence (Barth et *al.*, 2006).
- ✓ La concentration en ascorbate (ainsi que les mécanismes de compensation) dans les cellules serait reliée avec la programmation de la sénescence des cellules (Pavet et *al.*, 2005).

Alves RE, Filgueiras HAC, Moura CFH, Araujo NCC, Almeida AS. (2002). Camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh): a rich natural source of vitamin C. *48th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, Tegucigalpa, Honduras, 7-11 October, 2002.*, Interamerican Society for Tropical Horticulture.

Arrigoni O, De Tullio MC. (2000). The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. *Journal of Plant Physiology*, **157**: 481-488.

Asada K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **50**: 601-639.

Barth C, Moeder W, Klessig DF, Conklin PL. (2004). The timing of senescence and response to pathogens is altered in the ascorbate-deficient *Arabidopsis* mutant vitamin c-1. *Plant Physiology*, **134**: 1784-1792.

Barth C., Tullio M.D., Conklin P.L. (2006). The role of ascorbic acid in the control of flowering time and the onset of senescence. *Journal of Experimental Botany* **57**:1657–1665.

Chen Z, Gallie DR. (2004). The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement. *Plant Cell*, **16**: 1143-1162.

Chen Z, Young TE, Ling J, Chang SC, Gallie DR. (2003). Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**: 3525-3530.



Colville L, Smirnov N. (2008). Antioxidant status, peroxidase activity, and PR protein transcript levels in ascorbate-deficient *Arabidopsis thaliana vtc* mutants. *Journal of Experimental Botany*, **59**: 3857-3868.

Conklin PL. (2001). Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. *Plant Cell and Environment*, **24**: 383-394.

Conklin PL, Pallanca JE, Last RL, Smirnov N. (1997). L-ascorbic acid metabolism in the ascorbate-deficient *Arabidopsis* mutant *vtc1*. *Plant Physiology*, **115**: 1277-1285.

Córdoba-Pedregosa MdC, Córdoba F, Villalba JM, González-Reyes JA. (2003). Zonal changes in ascorbate and hydrogen peroxide contents, peroxidase, and ascorbate-related enzyme activities in onion roots. *Plant Physiology*, **131**: 697-706.

Davey MW, Montagu Mv, Inze D, Sanmartin M, Kanellis A, Smirnov N, Benzie IJJ, Strain JJ, Favell D, Fletcher J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**: 825-860.

De Tullio MC, Paciolla C, Dalla Vecchia F, Rascio N, D'Emérico S, De Gara L, Liso R, Arrigoni O. (1999). Changes in onion root development induced by the inhibition of peptidyl-prolyl hydroxylase and influence of the ascorbate system on cell division and elongation. *Planta*, **209**: 424-434.



Foyer CH, Noctor G. (2009). Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11: 861-905.

Foyer CH, Rowell J, Walker D. (1983). Measurement of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination. *Planta*, 157: 239-244.

Gallie, D. R. (2012). The role of L-ascorbic acid recycling in responding to environmental stress and in promoting plant growth. *J. Exp. Bot.* 64, 433-443.

Horemans N, Foyer CH, Potters G, Asard H. (2000b). Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38: 531-540.

Ishikawa T, Dowdle J, Smirnoff N. (2006). Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants. *Physiologia Plantarum*, 126: 343-355.

Lamb C, Dixon RA. (1997). The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48: 251-275.

Li M, Ma F, Guo C, Liu J. (2010). Ascorbic acid formation and profiling of genes expressed in its synthesis and recycling in apple leaves of different ages. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 216-224.



Lorence A, Chevone BI, Mendes P, Nessler CL. (2004). myo- Inositol oxygenase offers a possible entry point into plant ascorbate biosynthesis. *Plant Physiology*, 134, 1200–1205.

Nuss RF, Loewus FA. (1978). Further studies on oxalic acid biosynthesis in oxalateaccumulating plants. *Plant Physiology*, 61: 590-592.

Noctor G. (2006). Metabolic signalling in defence and stress: the central roles of soluble redox couples. *Plant, Cell and Environment*, 29: 409-425.

Noctor G, Foyer CH. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249-279.

Padh H. (1990). Cellular functions of ascorbic acid. *Biochemistry and Cell Biology*, 68:1166-1173.

Pallanca JE, Smirnoff N. (2000). The control of ascorbic acid synthesis and turnover in pea seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 51: 669-674.

Pastori G.M., Kiddle G., Antoniw J., Bernard S., Veljovic-Jovanovic S., Verrier P.J., Noctor G., Foyer C.H. (2003). Leaf Vitamin C Contents Modulate Plant Defense Transcripts and Regulate Genes That Control Development through Hormone Signaling. *The Plant Cell Online* 15:939–951.



Pavet V., Olmos E., Kiddle G., Mowla S., Kumar S., Antoniw J., Alvarez M.E., Foyer C.H. (2005). Ascorbic acid deficiency activates cell death and disease resistance responses in Arabidopsis. *Plant Physiology* 139:1291–1303.

Potters G, Gara Ld, Asard H, Horemans N. (2002). Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime? *Plant Physiology and Biochemistry*, 40: 537-548.

Rautenkranz A, Li L, Machler F, Martinoia E, Oertli JJ. (1994). Transport of Ascorbic and Dehydroascorbic Acids across Protoplast and Vacuole Membranes Isolated from Barley (*Hordeum vulgare* L. cv Gerbel) Leaves. *Plant Physiology*, 106: 187-193.

Saito K, Kasai Z. (1969). Tartaric acid synthesis from L-ascorbic acid-1-¹⁴C in grape berries. *Phytochemistry (Oxford)*, 8: 2177-2182.

Smirnoff N. (2000b). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology*, 3: 229-235.

Smirnoff N, Conklin PL, Loewus FA. (2001). Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. Annual. *Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 437–467.

Shao H-b, Chu L-y, Shao M-a, Jaleel CA, Hong-mei M. (2008). Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 433-441.



Valpuesta V, Botella MA. (2004). Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants: new pathways for an old antioxidant. *Trends in Plant Science* 9, 573–577.

Wheeler GL, Jones MA, Smirnoff N. (1998). The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature* 393, 365–369.

Williams M, Loewus FA. (1978). Biosynthesis of (+)-tartaric acid from L-[4-14C]ascorbic acid in grape and geranium. *Plant Physiology*, 61: 672-674.

Wolucka BA, Van Montagu M. (2003). GDP-mannose 3',5'-epimerase forms GDP-L-gulose, a putative intermediate for the novo biosynthesis of vitamin C in plants. *Journal of Biological Chemistry* 278, 47483–47490.

Yang JC, Loewus FA. (1975). Metabolic conversion of L-ascorbic acid to oxalic acid in oxalate-accumulating plants. *Plant Physiology*, 56: 283-285.