

## **Analyse du fascicule d'octobre 2008 (Vol 331 - N°10) des Comptes Rendus “Biologies” de l’Académie des Sciences consacré à la biologie des semences**

par Jean-Claude **Pernollet**<sup>1</sup> et Christian **Férault**<sup>2</sup>

La séance commune sur les graines organisée le 25 mars 2008 par Dominique Job (Académie d'Agriculture, section 6) et Michel Caboche (Académie des Sciences) a eu pour objectif de mettre en évidence des aspects particuliers et spécifiques de la biologie des semences sur la base des nouvelles données acquises par la génomique et les approches biotechnologiques. Cette séance a abouti à la publication d'un numéro spécial des Comptes Rendus de l'Académie des Sciences entièrement consacré au sujet (Comptes Rendus “Biologies”, Vol 331 - N°10 - octobre 2008 - P. 711-822) qui regroupe aussi des articles fondamentaux complémentaires aux présentations faites en séance, illustrant ainsi le dynamisme de la recherche française en matière de biologie de la graine. Avec une introduction sur l'importance biologique et agronomique des graines, ce volume rassemble une douzaine d'articles de synthèse, directement liés aux présentations orales faites à la réunion, rédigés par les meilleurs scientifiques français du domaine. Ils balayent l'ensemble des thèmes d'actualité portant sur la biologie des semences, allant du développement précoce des graines, à leur maturation et à l'accumulation des réserves dont le rôle dans l'alimentation humaine et animale est crucial, ainsi qu'à la germination des semences.

L'introduction de Dominique Job et Michel Caboche rappelle d'abord que la France est un producteur de semences majeur, leader en Europe et troisième pays exportateur de semences alors que l'agroalimentaire représente plus du dixième des exportations françaises. C'est pourquoi les graines sont l'objet d'études génétiques et génomiques intenses pour accroître les rendements. Les auteurs rappellent d'abord la biologie de la graine, depuis sa formation (double fécondation, accumulation de réserves, quiescence, dormance qui prévient toute germination prématurée) jusqu'à la germination. L'état de déshydratation permet à la graine de subir un environnement très rude pendant très longtemps (cas avérés de graines viables de *Phoenix dactylifera* L. après 2 000 ans).

Avec l'achèvement du séquençage de génomes de plantes cultivées, le développement de méthodes à haut débit pour suivre l'expression des gènes (transcriptomique et protéomique), alliées à la génétique, a permis l'éclosion de la génomique fonctionnelle dont l'objectif est de comprendre la complexité biochimique et moléculaire des processus qui sous-tendent la qualité des semences. Plusieurs de ces études ont notamment tenté de caractériser les voies de biosynthèse responsables de l'accumulation de composés de réserve des semences, ainsi que leur contrôle par les hormones végétales. Ces réserves sont d'une grande importance pour deux raisons : elles soutiennent la croissance des semis précoces, et sont indispensables à l'alimentation humaine et animale. En effet, de nombreuses applications biotechnologiques sont attendues pour l'amélioration de la valeur nutritionnelle des graines, en augmentant la teneur en composés essentiels tels que vitamines, lipides, acides aminés indispensables, tout en réduisant le niveau de composés antinutritionnels, et

---

<sup>1</sup> Membre de l'Académie d'Agriculture de France, directeur de recherche honoraire à l'Institut national de la recherche agronomique, unité de Biochimie et structure des protéines, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy en Josas cedex.

<sup>2</sup> Membre de l'Académie d'Agriculture de France, Chargé de mission auprès du Secrétaire perpétuel, ancien directeur scientifique de l'INA.PG, ancien directeur de recherche à l'Institut national de la recherche agronomique, professeur agrégé honoraire d'économie.

pour diverses utilisations non alimentaires (biocarburants ou production de protéines recombinantes et de molécules d'intérêt pharmacologique...).

La germination des graines est un processus complexe et multiple, qui a également été la cible de plusieurs études post-génomiques. Morphologiquement, la croissance commence avec l'émergence radiculaire qui se poursuit par la croissance de la plantule, alors que, par définition, la germination *stricto sensu* implique les événements qui commencent par l'absorption de l'eau par la graine sèche quiescente, mais non dormante, et se terminent par la sortie de la radicule et l'allongement de l'axe embryonnaire. Dès l'imbibition, la graine quiescente recouvre rapidement son activité métabolique. Des études récentes ont abordé la question des exigences précises de la germination, notamment en termes de synthèse *de novo* des ARN et des protéines, et du rôle joué par les hormones végétales, agissant comme activateurs de la germination.

### **Approches nouvelles des mécanismes originaux de la biologie des graines**

Les phases spécifiques de biologie de la graine sont abordées, tant sur des plantes modèles que sur des espèces de grande culture. Il s'agit de la fécondation et du développement précoce de la graine, avec un éclairage particulier d'une part sur les gènes embryonnaires létaux et la longévité des graines, et, de l'autre, sur le rôle des espèces réactives d'oxygène dans la physiologie des semences. Enfin sont relatés, pour clore cette partie, les apports récents apportés par les analyses transcriptomiques et protéomiques à la connaissance de la germination.

**Fécondation et développement précoce de la graine, par C. Dumas et P. Rogowsky.** La double fécondation des plantes à fleurs est un phénomène unique des organismes vivants découvert il y a plus d'un siècle. L'étude de mutants affectés dans la fécondation donne un jour nouveau à ce phénomène multiphasique et a permis la découverte de gènes impliqués dans l'attraction du tube pollinique ou la décharge du pollen dans les synergides, ainsi que la caractérisation de gènes exprimés de manière différentielle entre le gamète mâle, l'oosphère et la cellule centrale avant ou après fécondation.

**Les gènes embryonnaires létaux d'Arabidopsis, par M. Devic.** Dans le règne végétal, le séquençage du génome d'Arabidopsis et la mise en place de programmes de génomique fonctionnelle à haut débit permettent aujourd'hui d'aborder la question de l'essentialité des gènes chez cette plante modèle, c'est à dire de déterminer combien de gènes sont nécessaires pour conditionner la viabilité cellulaire. À ce jour 219 gènes (dits EMB) se sont avérés essentiels au développement de la graine, gènes dont la fonction est discutée au sein de cette mise au point dans le contexte particulier de l'évolution des génomes eucaryotes gouvernée par les duplications génomiques et la perte sélective de gènes.

**États vitreux intracellulaires et survie des graines à l'état sec, par J. Buitink et O. Leprince.** En phase finale de dessiccation de la graine, la viscosité cellulaire augmente de façon spectaculaire et, à l'état sec, le cytoplasme se transforme en un état vitreux. L'aptitude à la conservation des graines est liée à la densité et la mobilité moléculaire intracellulaire d'un tel état intracellulaire indispensable à la survie des graines à l'état sec. Des techniques spectroscopiques telles que RPE et FTIR ont révélé que ces états vitreux intracellulaires ont, chez les graines, des propriétés tout à fait différentes de celles d'états vitreux formés *in vitro* à partir de sucres simples. Ils se caractérisent par une très faible mobilité moléculaire et une concentration moléculaire élevée, suggérant la formation de complexes entre sucres et protéines, qui pourraient interagir avec d'autres composants cytoplasmiques tels les sels, les acides organiques et les acides aminés.

**Longévité des graines : survie et maintien d'un haut potentiel germinatif des graines sèches, par L. Rajjou et I. Debeaujon.** La graine est un stade de développement critique qui présente de nombreuses spécificités. La longévité des graines, qui peut exceptionnellement chez

certaines espèces dépasser le millier d'années, est une problématique centrale aussi bien pour la conservation de la biodiversité que pour le succès des cultures végétales. Cette mise au point relate en détail la grande diversité de systèmes (protection, détoxification, réparation) reposant sur des fondements structuraux et moléculaires, qui permettent à la graine de se conserver à l'état sec et de maintenir sa capacité germinative.

**Le double rôle des espèces réactives de l'oxygène dans la physiologie des semences, par C. Bailly, H. El-Maarouf-Bouteau et F. Corbineau.** Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont produites continuellement au cours du développement des semences, de l'embryogenèse à la germination, mais aussi au cours de leur stockage, jouent un double rôle dans la physiologie des semences se comportant, d'une part, comme des acteurs des voies de signalisation cellulaire et, d'autre part, comme des produits toxiques s'accumulant sous conditions de stress. Les ROS apparaissent aujourd'hui être bénéfiques pour la germination, en agissant notamment comme signal de levée de dormance. Les ROS joueraient aussi un rôle, pendant la germination, dans la perception par les semences des facteurs environnementaux. Toutefois, l'accumulation incontrôlée de ROS est susceptible de se produire au cours du vieillissement des semences ou de leur dessiccation, ce qui conduit à des dommages oxydatifs aboutissant à des nécroses et à la mort cellulaire. Les auteurs introduisent le nouveau concept d'une « fenêtre oxydative pour la germination » la liant à des niveaux critiques de ROS compris entre deux limites basse et haute.

**Analyses transcriptomiques et protéomiques de la germination des graines, par J. Catusse, C. Job et D. Job.** Grâce à l'utilisation de technologies post-génomiques à haut débit (transcriptomique et protéomique), des études récentes ont conduit à éclairer d'un jour nouveau les mécanismes responsables de l'édification du potentiel de germination des graines au cours de leur maturation sur la plante mère. Ces technologies permettent de révéler de nouvelles caractéristiques des graines, fondées sur des bases moléculaires insoupçonnées, pouvant conduire à des applications potentielles. Elles ont permis l'étude du caractère réversible des premières phases du processus de germination, d'identifier les gènes jouant un rôle dans le contrôle de l'émergence de la radicule, de comprendre le rôle des hormones végétales durant la germination, et enfin de révéler les changements du protéome induits par la régulation redox au cours du développement et de la germination.

## **Maturation des graines et accumulation des réserves**

Un second thème majeur est dédié au développement des graines et aux mécanismes d'accumulation des réserves. Il se focalise sur les déterminismes cellulaires, moléculaires et génétiques, avec un intérêt appuyé pour les légumineuses et la lipogenèse des crucifères (colza et arabette) incluant un article sur le développement de l'albumen de maïs. Ces six articles constituent des apports fondamentaux sur la compréhension de la mise en place des réserves non seulement destinées à la jeune plantule, mais aussi et surtout à l'alimentation humaine et animale.

**Accumulation des réserves chez les graines de légumineuses, par K. Gallardo, R. Thompso et J. Burstin.** L'accumulation des réserves, notamment azotées, est le résultat de processus distincts se produisant en parallèle dans les principaux tissus de la graine d'origine maternelle (téguments) ou zygotique (embryon, albumen). La connaissance d'éléments de génomes de légumineuses a récemment permis de mieux comprendre le remplissage des graines et son réseau de régulation, de mieux décrire la composition protéique des graines sous l'influence de la variabilité génétique et de l'environnement (disponibilité en nutriments, QTL contrôlant la teneur en protéines et en acides aminés soufrés...).

**Déterminisme de l'accumulation des réserves carbonées et azotées chez les graines de légumineuses, par N. Munier-Jolain, A. Larmure et C. Salon.** Chez les légumineuses, la masse de chaque graine obéit à un déterminisme complexe qui dépend de deux facteurs principaux : le

nombre de cellules cotylédonaire, relié à la vitesse de croissance des graines au cours de la phase de remplissage, et l'alimentation en carbone et en azote afin de soutenir l'accumulation des réserves, notamment de protéines, abondantes chez les légumineuses. Ainsi tout stress survenant avant le démarrage de la phase de remplissage pourra limiter le nombre de divisions cellulaires, et partant la vitesse de croissance et la masse de la graine. Un apport conséquent d'azote est indispensable aux légumineuses, apport qui peut nécessiter la re-mobilisation de l'azote des feuilles, réduisant ainsi la photosynthèse et aboutissant à une limitation de la masse de la graine par défaut de photoassimilats. En conséquence, tout stress biotique ou abiotique survenant pendant le remplissage des graines et provoquant une diminution de l'activité photosynthétique peut conduire à une réduction du remplissage des graines.

**Analyse comparée des systèmes régulateurs contrôlant la lipogenèse dans les hépatocytes de la souris et dans les graines oléagineuses d'Arabidopsis, par S. Baud et L. Lepiniec.** L'oxydation des triglycérides (TAGs) libère une quantité d'énergie supérieure à celle des autres composés de réserves (amidon, glycogène, protéines). Cette mise au point s'attache à décrire tant les réseaux métaboliques assurant la synthèse des TAGs que les systèmes régulateurs contrôlant ces réseaux dans deux systèmes modèles, le foie de la souris et la graine oléagineuse d'Arabidopsis. La comparaison des deux systèmes illustre comment deux réseaux de régulation de la transcription déclenchent la lipogenèse en réponse à des stimulus spécifiques (alimentation riche dans le foie, début de maturation de l'embryon d'arabette).

**Structure et fonction des protéines associées aux corps lipidiques des graines, par Z. Purkrtova, P. Jolivet, M. Miquel et T. Chardot.** Chez les plantes, les corps lipidiques (organites subcellulaires dévolus au stockage des lipides) se retrouvent dans les graines, mais également dans les fruits (olive...) et les feuilles (plastoglobules). Ces organites qui protègent les réserves lipidiques des plantes de l'oxydation et de l'hydrolyse jusqu'à la germination, peuvent être stabilisés par des protéines structurelles (oléosines et caléosines) qui agissent comme des agents émulsifiants naturels. Ces protéines constituent des cibles importantes pour l'amélioration du rendement en huile et des procédés technologiques d'extraction de l'huile et des protéines de réserve. Leur rôle putatif dans le contrôle de la taille des corps lipidiques est présenté dans le cadre des avancées récentes acquises sur la structure ces protéines.

**Approches génétiques et moléculaires pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle des graines de colza (*Brassica napus* L.), par N. Nesi, R. Delourme, M. Brégeon, C. Falentin et M. Renard.** Le colza est un oléagineux de grande culture dont la graine fournit également des tourteaux riches en protéines. L'objectif actuel de la filière est l'augmentation de la production d'huile pour une valorisation alimentaire et non alimentaire (biocarburants) tout en limitant les intrants (nutrition azotée, pesticides). Dans le passé, l'amélioration de la qualité de la graine de colza a porté sur la composition en acides gras et la réduction de la teneur en glucosinolates. L'utilisation d'outils moléculaires et l'exploitation des connaissances acquises chez Arabidopsis, espèce proche du colza, contribuent à la focalisation actuelle sur la sélection de génotypes à graines jaunes à forte teneur en huile.

**Mécanismes moléculaires et biochimiques impliqués dans le développement de l'albumen de maïs : rôle de la pyruvate-Pi-dikinase et du régulateur Opaque-2 dans le contrôle du rapport carbone/azote, par J.-L. Prioul, V. Méchin et C. Damerval.** Chez le maïs, une analyse combinée des transcriptome, protéome et métabolome a permis de dresser un aperçu des principaux changements survenant dans l'expression génique au cours de développement du grain (identification de gènes spécifiques de chaque stade de développement). Un changement majeur a ainsi été observé au début de la phase de remplissage de l'albumen. Des analyses protéomiques détaillées (observation de l'expression d'enzymes, telles que la pyruvate-Pi-dikinase ou PPDK) montrent un changement dans l'équilibre entre amidon et protéines dans la période tardive du remplissage. Cette observation a été étayée par des données concernant le gène Opaque-2

qui affecte le contenu en lysine et le métabolisme des glucides, agissant ainsi indirectement sur le rapport entre amidon et acides aminés. L'effet direct d'O<sub>2</sub> sur l'expression du gène PPDK fournit un indice décisif pour rendre compte de la compétition entre métabolisme du carbone et de l'azote.

### **Recherches futures et objectifs agronomiques par D. Job et M. Caboche**

La génomique fonctionnelle a récemment permis un progrès très significatif dans notre compréhension de plusieurs aspects du développement des graines et de la germination. La grande quantité de données originales démontre la puissance de la biologie descriptive à générer des avancées physiologiques : contrôle métabolique et régulation oxydoréductrice du développement des semences, mécanismes responsables de la tolérance à la dessiccation ou du contrôle de dormance.

On s'attend à ce que les futures recherches apportent une abondance de données post-génomiques qui, en association avec des études physiologiques et génétiques, permettra une meilleure compréhension des mécanismes contrôlant les processus de développement des semences. Les questions ne manquent pas. Par exemple, l'étude de la spécificité tissulaire de l'expression des protéines de réserve devrait permettre de mieux cerner le fonctionnement de la graine entière à partir des rôles respectifs de ses constituants. Pourquoi certaines graines restent viables pendant des décennies, voire des siècles, tandis que d'autres peinent à survivre à l'hiver ? Question liée à la compréhension des mécanismes fondamentaux du vieillissement des êtres vivants. Enfin, une plus grande attention devrait être accordée au contrôle épigénétique du développement des semences et de la germination. Ces études fourniront de nouveaux marqueurs spécifiques de la qualité et de la vigueur qui pourront être utilisés par l'industrie des semences.

En conclusion, cet ouvrage, rédigé en anglais, est un remarquable ensemble de mises au point qui contribuent au rayonnement de la biologie végétale française tout en s'avérant être un outil précieux non seulement pour les enseignants, mais aussi pour les chercheurs et les agronomes, qui y puiseront des informations actualisées pour mettre à jour leurs connaissances. Il démontre que, grâce aux progrès considérables réalisés dans la génomique et les biotechnologies végétales, la biologie des graines, avec ses aspects très particuliers du développement embryonnaire et de la survie, s'avère fascinante, mais aussi et surtout que les semences sont désormais un modèle de biologie intégrative particulièrement pertinent, porteur d'immenses possibilités de créer des plantes nouvelles plus rapidement et plus précisément que par la domestication et les approches génétiques classiques.