



Séance de l'Académie d'Agriculture de France
Les secrets de la longévité des graines
Mercredi 24 juin 2020

Contrôle métabolique de la longévité des graines

Pr. Loïc RAJJOU

Enseignant-Chercheur, AgroParisTech
Département des Sciences de la Vie et de la Santé (SVS)

Institut Jean-Pierre Bourgin
(IJPB, INRAE/AgroParisTech/Université Paris-Saclay)

École Universitaire de Recherche
« Sciences des Plantes de Saclay »



université
PARIS-SACLAY

INRAE



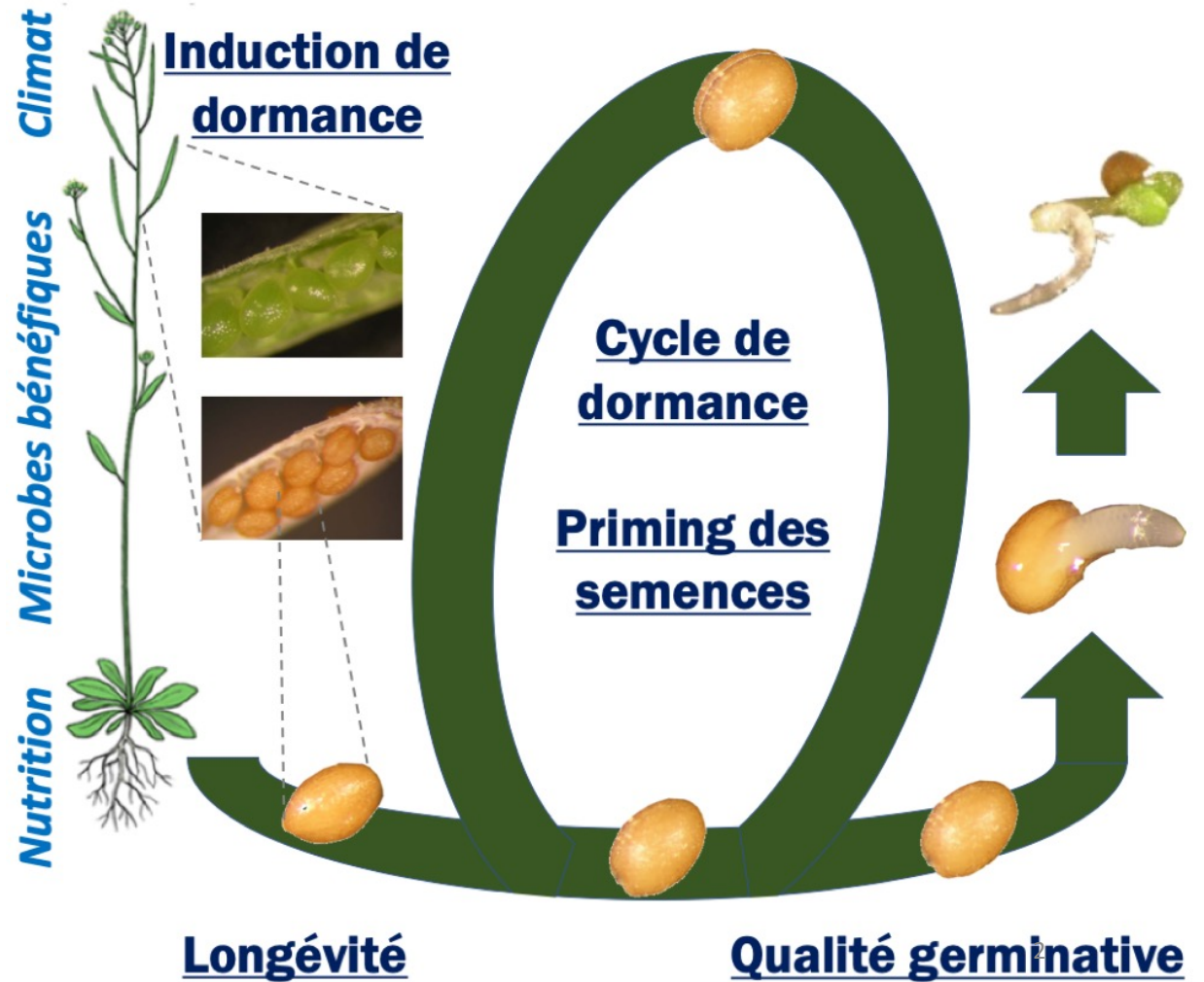
Institut Jean-Pierre Bourgin

(IJPB, INRAE/AgroParisTech/Université Paris-Saclay)
Centre INRAE de Versailles

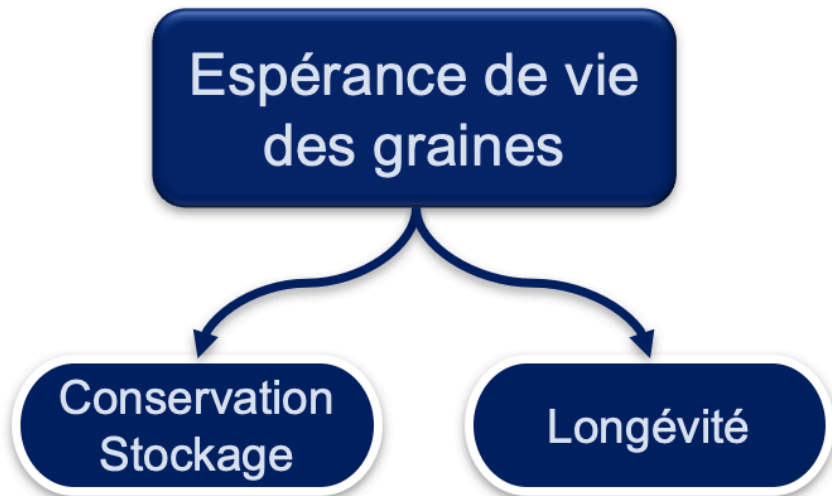
PHYGERM – Physiologie de la Germination



Biologie des semences de plantes modèles ou cultivées



La longévité des graines



❖ Conservation de la biodiversité végétale *ex-situ*
(Banque de gènes, Banque de graines)



❖ Commercialisation des lots de semences (DLC germination)



❖ Maintien de la qualité des réserves stockées dans la graine pour des usages alimentaires ou non-alimentaires

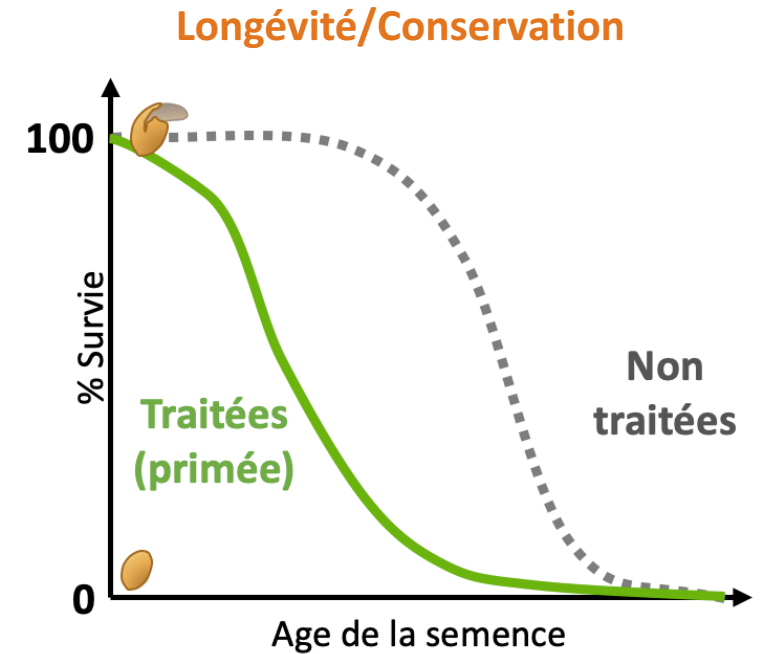
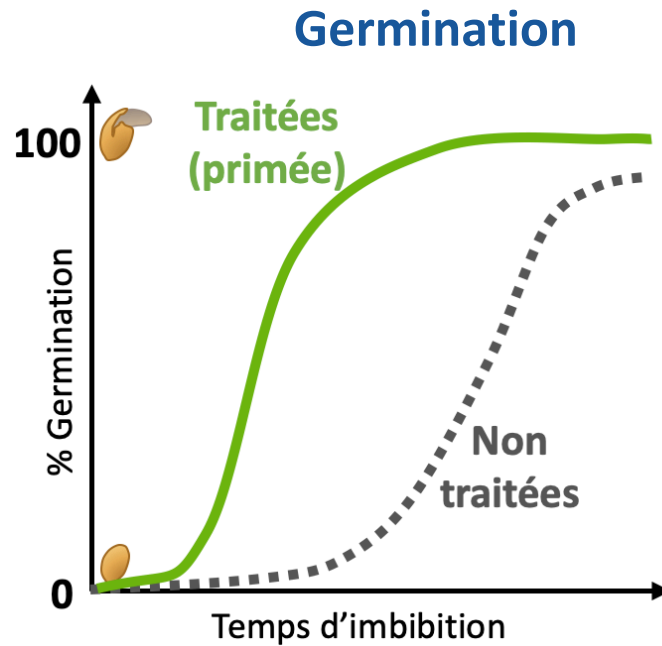
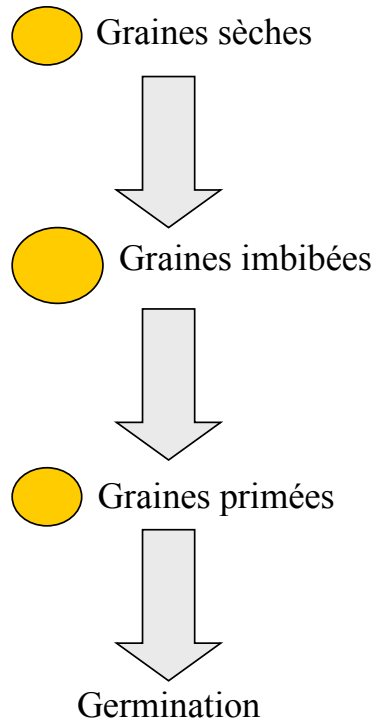


❖ La graine est un modèle d'étude des processus cellulaires et moléculaires du vieillissement



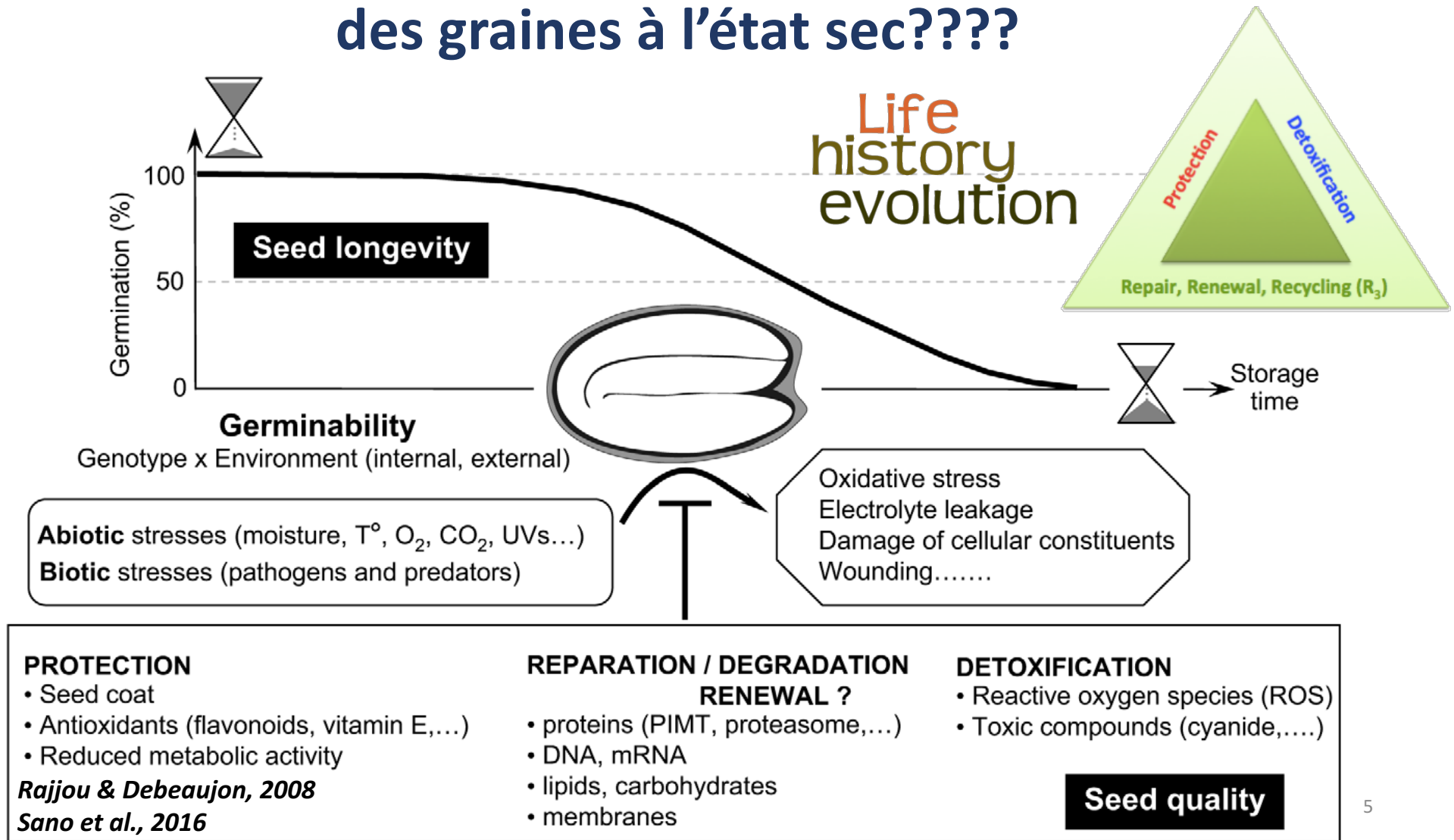
La longévité des graines

Les traitements de semences permettant d'améliorer la vitesse et l'homogénéité de germination, tel que le « priming », conduisent à une réduction significative de la longévité.



Pour l'industrie semencière, les producteurs de plants et les agriculteurs, le contrôle de la conservation des lots de semences représente un enjeu stratégique.

Existe-t-il un contrôle métabolique de l'espérance de (sur)vie des graines à l'état sec???



Métabolisme et contrôle métabolique

Si l'on considère la **graine mature sèche** comme un **système vivant** assimilable à un **milieu ouvert** qui est en échange constant avec son environnement afin d'obtenir les signaux nécessaires à sa survie et à sa germination



Ilya Prigogine (1917-2003)

Physicien et chimiste belge d'origine russe
Prix Nobel de chimie en 1977

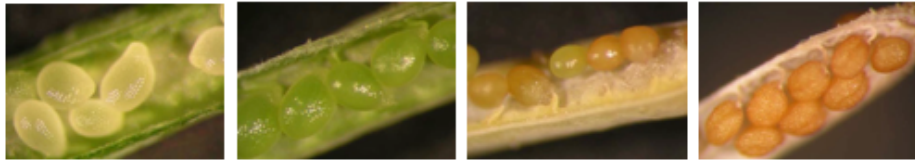
Son espérance de vie est caractérisée par **l'ordre** :

- le code génétique détermine un arrangement des molécules qui permet, par exemple, la spécialisation des enzymes, c'est **l'ordre architectural**.
- le métabolisme des cellules nécessite la coordination de milliers de réactions chimiques, c'est **l'ordre fonctionnel**.
- Dans un **système ouvert** comme un organisme vivant, le flux constant représente l'efficacité thermodynamique maximale.

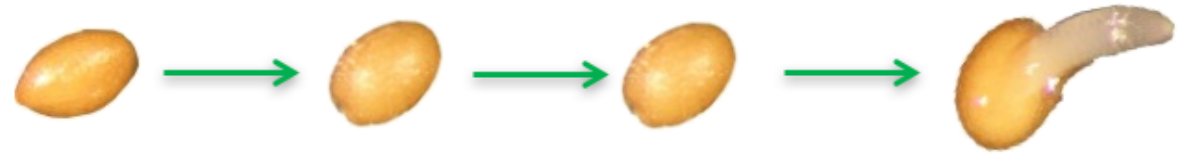
Theories: Physique ≠ Biologique

Prigogine, I., & Nicolis, G. (1971). Biological order, structure and instabilities. Quarterly reviews of biophysics, 4(2-3), 107-148.

Le métabolisme



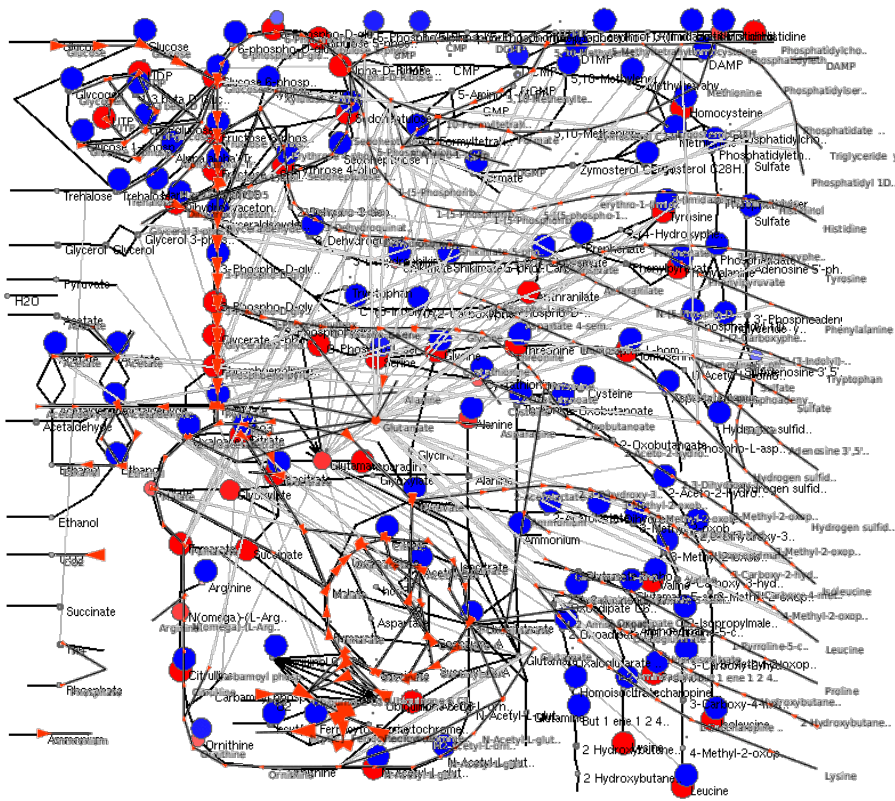
Développement **Maturation**



État sec

Imbibition

Germination

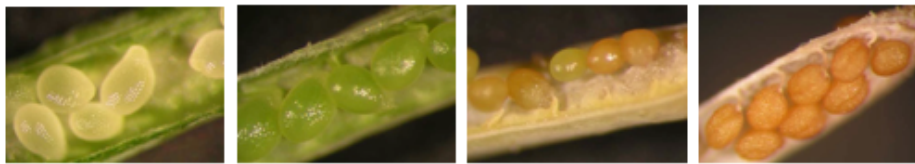


- **Système métabolique de la graine:** ensemble de constituants métaboliques (metabolites, enzymes, coenzymes, cofacteurs) d'une graine qui interagissent pour assurer l'ensemble des conversions métaboliques
- Dans un **système ouvert** comme une graine, le flux constant représenterait l'efficacité thermodynamique maximale.

Bayersdorf, R., & Schumacher, B. (2019). Recent advances in understanding the mechanisms determining longevity. F1000Research, 8.

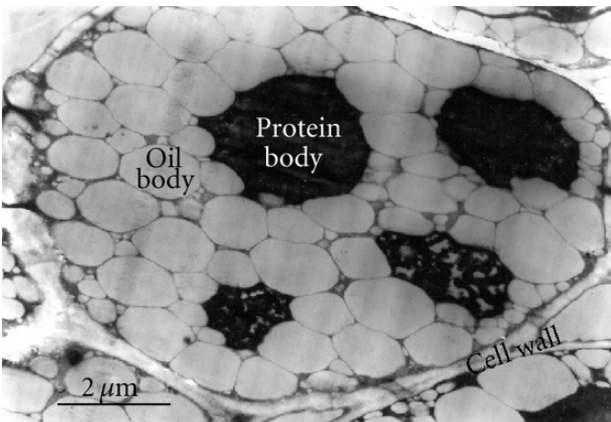
Contrôle métabolique de la longévité

Dans les **systèmes vivants « ouverts »** comme une **graine mature sèche**, nous sommes en **contradiction** avec le deuxième principe de la thermodynamique disant les transformations naturelles sont celles qui s'accompagnent de l'augmentation de l'**entropie (désordre)**



Développement **Maturation**

Flux entrant de matière (C, N, S)
Flux sortant de matière résiduel

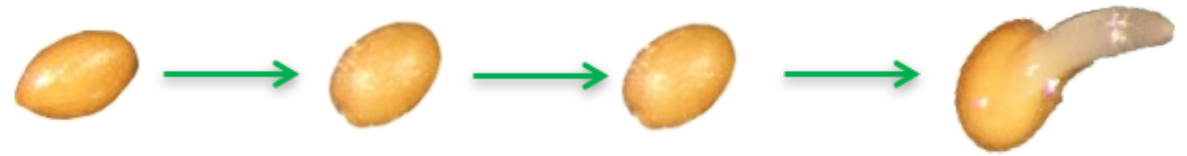


État sec



**Organe de
stockage de la
matière**

ORDRE absolu
Quiescence métabolique
Flux = 0



Imbibition

Germination

Flux entrant et sortant de matière résiduel

Il est nécessaire de **stocker la matière** dans des réservoirs pour **ralentir le métabolisme**

- Corps lipidiques
- Corps protéiques
- Grains d'amidon

Que se passe-t-il lorsque l'on perturbe la mise en réserve?

Exemple de la 'Vacuolar protein sorting 29 (VPS29, AT3G47810)'

Chez Arabidopsis, une étude pionnière a montré que la protéine VPS29 joue un rôle clé dans:

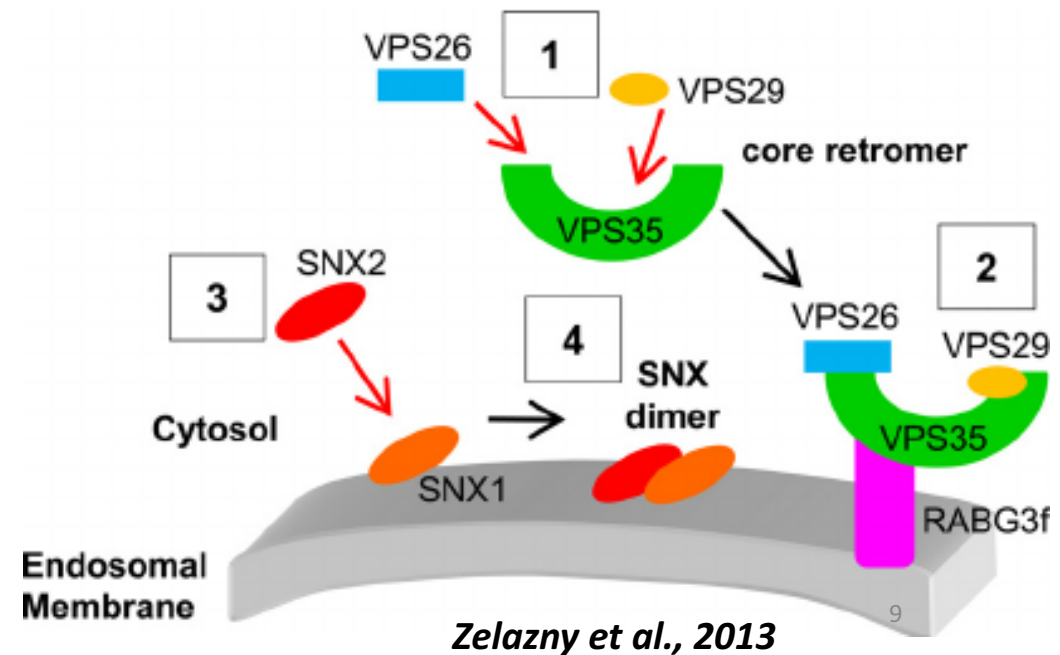
- la biogenèse et la dégradation des corps lipidiques (Thazar-Poulot et al, 2015)
- Le trafic et le stockage de protéines (Shimada et al, 2006; Pourcher et al, 2010)

Durand et al, 2019. IJMS, 20, 362.

*Coll Thierry Gaude,
Laboratoire Reproduction
et Développement des
Plantes – Lyon*

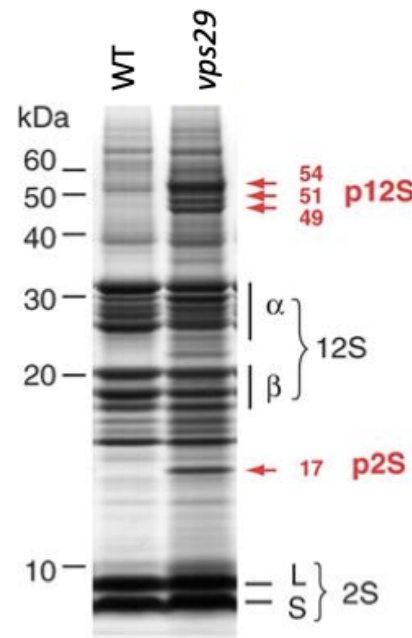
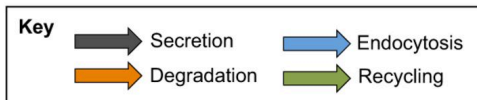
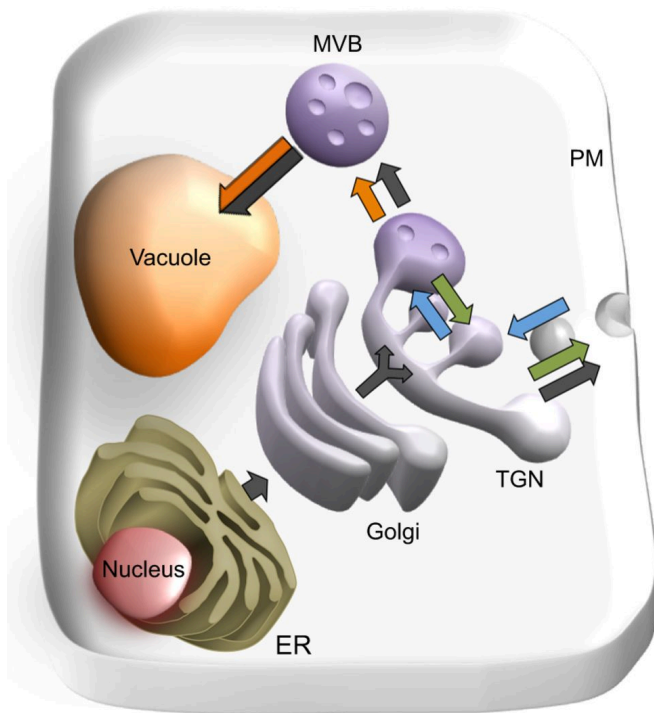
VPS29 est une petite protéine qui appartient au complexe « retromer »

- Le rétromère est un complexe pentamérique composé de deux sous-complexes.
- Le petit sous-complexe est un dimère de sorting nexins (SNX), qui se lie aux membranes endosomales contenant des lipides à inositol.
- Le deuxième sous-complexe, également connu sous le nom de « core retromer », se compose des « Vacuolar protein sorting » VPS26, VPS29 et VPS35

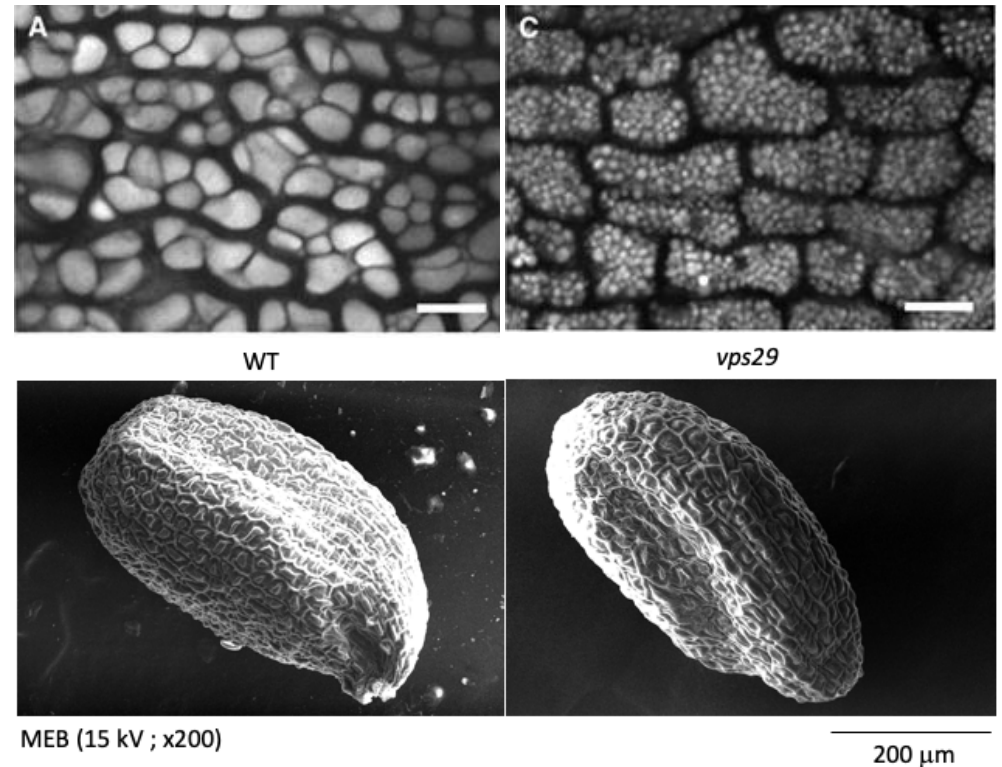


Que se passe-t-il lorsque l'on perturbe la mise en réserve?

Le rétromère est essentiel pour le transport rétrograde de nombreuses protéines transmembranaires des endosomes au réseau trans-Golgi (TGN) et est conservé entre les plantes, les champignons et les animaux.



Shimada et al, 2006
Pourcher et al, 2010
Personnic et al., 2016
Heucken & Ivanov, 2018
Durand et al., 2019

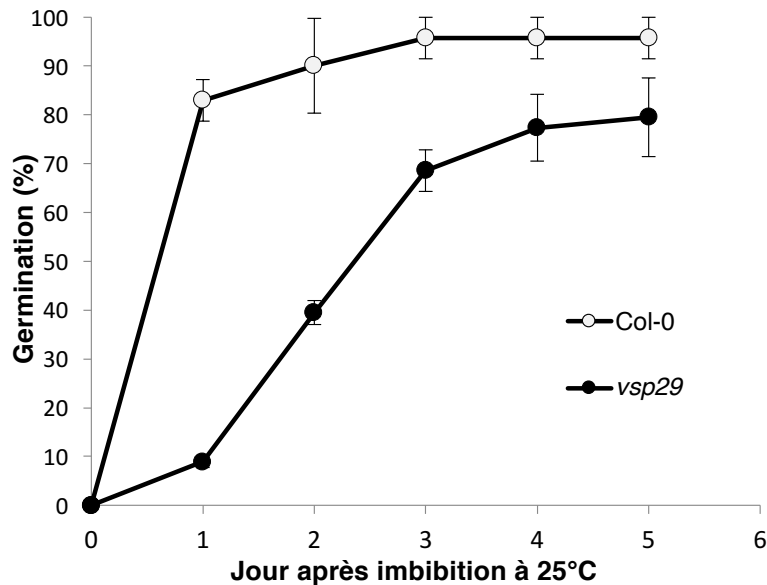


Les graines *vps29* sont sensiblement plus petites que les graines du génotype sauvage et ont des structures de réserves plus petites

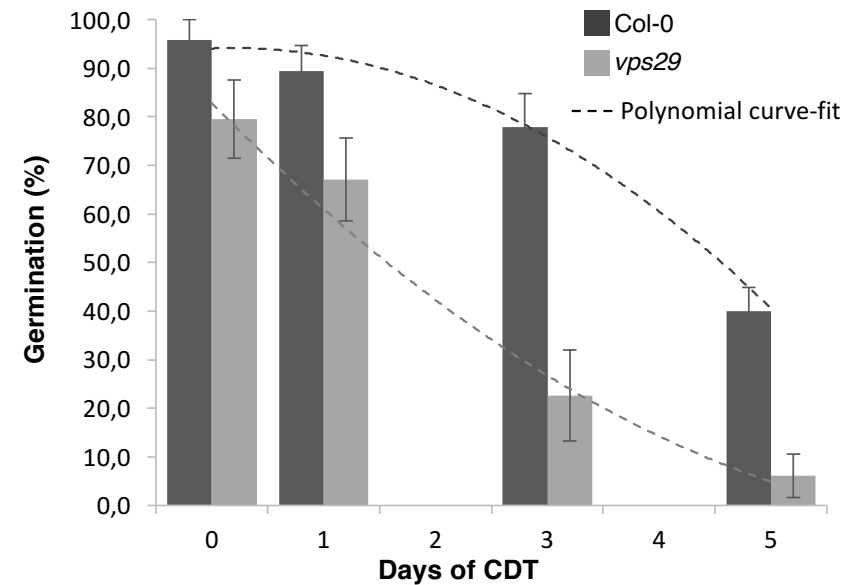
- WT_{TSW} = 24.8 $\pm$ 0.7 mg/1000 graines
- vps29*_{TSW} = 17.3 $\pm$ 0.6 mg/1000 graines

Que se passe-t-il lorsque l'on perturbe la mise en réserve?

Courbe de germination des graines d'*Arabidopsis* WT et *vps29* après traitement de stratification à froid (5 jours à 4°C à l'obscurité) puis transférées en lumière continue à 25°C.



Influence du vieillissement artificiel par traitement de détérioration contrôlée (CDT, HR=85%, 40°C) sur la germination des graines d'*Arabidopsis*.



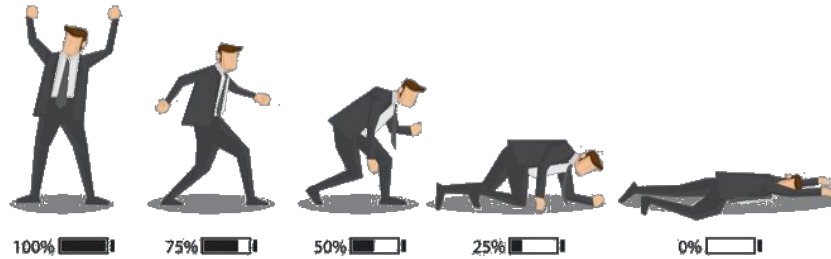
Col-0, $y = -2.3054x^2 + 5.4464x + 90.901$ with $R^2 = 0.99037$;
vps29, $y = 1.5537x^2 - 26.453x + 107.67$ with $R^2 = 0.98204$.

Les **graines *vps29*** ont montré une **vigueur germinative plus faible** et une sensibilité plus élevée au traitement de détérioration contrôlée (CDT), reflétant une **plus faible longévité**.

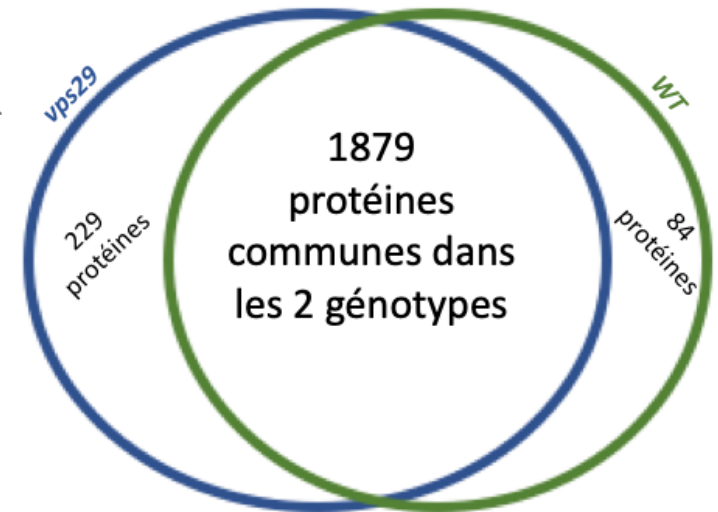
Que se passe-t-il lorsque l'on perturbe la mise en réserve?

Approches combinées

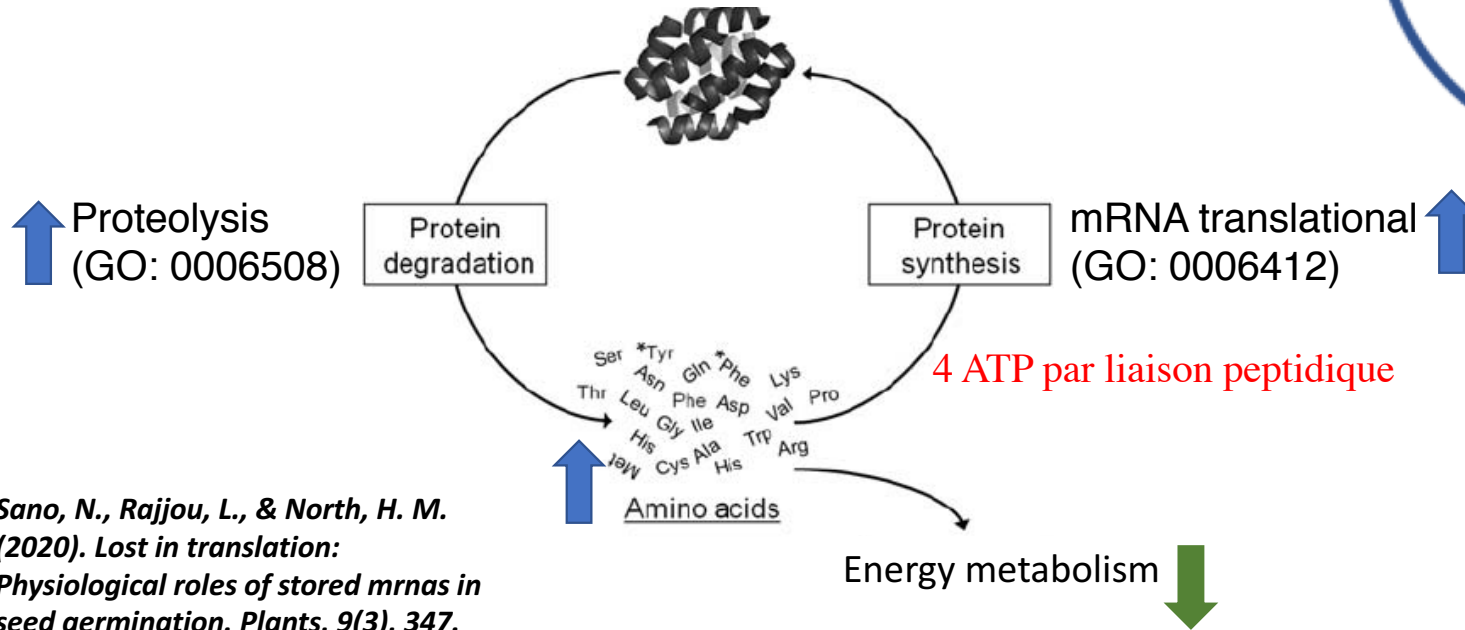
- Protéomique (LC-MS/MS)
- Métabolomique (GC-MS)



Identification de 2192 protéines



Stable protein homeostasis



Sano, N., Rajjou, L., & North, H. M. (2020). Lost in translation: Physiological roles of stored mrnas in seed germination. *Plants*, 9(3), 347.

Augmentation du désordre métabolique dans les graines matures sèches *vps29* conduit à une réduction de leur espérance de vie

Contrôle métabolique de l'ordre fonctionnel



Éléments de base

Acide alpha-cétoniques

Acétyl-CoA, Malonyl-CoA

Acétyl-CoA, Pyruvates

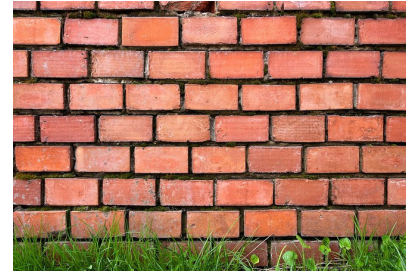


Éléments constitutifs

Acide aminés

Acides gras

Hexoses, Pentoses



Polymères

Peptides, Protéines

Triglycérides, Phospholipides

Polysaccharides



Structures complexes

Corps protéiques

Corps lipidiques

Grain d'amidon, Parois

Anabolisme

Catabolisme



Contrôle métabolique: Qui maintien l'ordre fonctionnel?

Inactivation des protéines par modifications post-traductionnelles (Asp- Pro-isomerisation, S-nitrosylation, oxidation, ...)

Ogé et al, 2008. *Plant Cell*, 20, 3022-3037.
Arc et al, 2011 *Proteomics*

Inhibiteurs de protéase (Facteurs antitrypsiques)

van der Hoorn et al, 2019. *Biochem J*, 476

Anti-oxydants (Polyphénols, Vit E, Protéines de réserves, ...)

Sano et al, 2016. *Plant and Cell Physiology*, 57, 660-674

Réduire la disponibilité des éléments de base et des éléments constitutifs

ORDRE absolu
Quiescence métabolique
Flux = 0

Inhibiteurs du cycle cellulaire

Sano, N., & Seo, M. (2019) *J. Plant Res.*, 132, 263-271.
Dante et al, 2014 *Front. Plant Sci*, 5, 493.

Acide phytique (stockage du phosphore et des minéraux)
Cominelli et al, 2020. *Plants*, 9, 69.

Protéine LEA à forte affinité pour la biotine (SBP65)
Dehaye et al, 1997). *Plant mol biol*, 35, 605-621.

Conjugaison de l'auxine (IAP1)
Walz et al, 2002. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:1718–1723



ORDER

« Arrêtez le mal avant qu'il n'existe! Calmez le désordre avant qu'il n'éclate »

Lao Tseu (571-531 av. J-C ; Père fondateur du taoïsme)



CHAOS