Séance commune

Académie des sciences / Académie d'agriculture de France

mardi 25 mars 2008
à l'Académie des sciences
Institut de France

« GRAINES »

Coordinateurs

Michel CABOCHE de l'Académie des Sciences
et
Dominique JOB de l'Académie d'Agriculture de France

Copyright – Académie d'Agriculture de France – 2008.

Déterminisme écophysiologique de la croissance des graines

Nathalie Munier-Jolain, *Directeur de recherche INRA*
UMR LEG, INRA/ENESAD, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon cedex
Nathalie.Munier-Jolain@dijon.inra.fr

Afin de maîtriser la variabilité des rendements et de leur qualité, des méthodes sont développées qui visent à identifier les mécanismes et leurs interactions contribuant à l'accumulation finale de réserves dans les graines. A terme ces connaissances permettent de constituer des modèles ou sous/modèles écophysiologiques prédictifs de la réponse des plantes aux contraintes fluctuantes de leur environnement physique. Ils constituent aussi des outils pour l'analyse de la variabilité génétique qui à terme contribuent à la conception d'idéotypes variétaux, c'est-à-dire le génotype idéal pour un champ de contraintes environnemental donné.

La variabilité spatiale et temporelle de mise en place des organes reproducteurs chez les légumineuses désigne ces espèces comme un modèle de choix pour l'analyse des relations source/puits (interaction entre les organes fournissant les assimilats et les organes accumulateurs) qui déterminent la croissance des graines en réponse aux contraintes de l'environnement : la morphogenèse des graines est un élément clé des règles de répartition des assimilats en fin de cycle. La formulation de cette hypothèse de compétition pour les assimilats entre tous les organes végétatifs et reproducteurs présents sur la plante à un instant donné conduit à adopter une démarche fondée sur le concept « structure /fonction ». Le fonctionnement d'un organe est défini par la combinaison de la mise en place de structures et la réalisation d'une fonction, qui dans le cas des graines est l'accumulation de réserves. A l'échelle d'une graine, la mise en place des structures cellulaires destinées à accumuler des réserves et l'accumulation des réserves sont dissociées dans le temps. Ainsi les effets environnementaux susceptibles d'affecter ces deux étapes sont différents et non synchrones. Le potentiel de croissance d'une graine dépend du nombre de cellules de réserves formées entre la floraison et le début de la phase d'accumulation des réserves. La vitesse de division cellulaire varie selon l'environnement trophique et thermique de l'embryon. En revanche, la durée des divisions cellulaires serait sous contrôle du génome de l'embryon. A partir de ce potentiel permis par le nombre de cellules de réserves, la synthèse de composés de réserves est réalisée dans des conditions environnementales fluctuantes. La vitesse de croissance de la graine, proportionnelle au nombre de cellules de réserve, peu sensible aux modifications de disponibilité en assimilats, constitue un puits prioritaire pour les assimilats, conditionnant leur répartition vers les autres puits présents sur la plante. En revanche l'arrêt de la croissance des graines serait régulé par les états « puits / sources ». En effet si la vitesse de croissance des graines déterminée par le nombre de cellules établi au début de la phase d'accumulation des réserves est peu sensible aux fluctuations de la disponibilité en assimilats, les conditions trophiques et physiques au cours du remplissage vont perturber la réalisation de ce potentiel au travers des modifications de la durée de la période de remplissage. Dans les situations où les sources d'assimilats azotés et carbonés pendant le remplissage ne sont pas limitantes, l'arrêt du remplissage a lieu lorsque les graines ont atteint leur taille maximale, fonction de leur nombre de cellules cotylédonaires et de la taille maximale qu'elles peuvent atteindre. Le volume cellulaire maximal sous contrôle génétique est aussi affecté par les conditions environnementales pendant le remplissage des graines. Le rendement est alors au potentiel permis par les conditions environnementales. En revanche dans d'autres situations, les plus fréquentes, la très forte demande en azote des graines pendant la phase de remplissage pour la

Copyright – Académie d'Agriculture de France – 2008.

synthèse de protéines peut entraîner des remobilisations importantes d'azote au détriment de l'acquisition de carbone par la photosynthèse. Ce mécanisme de sénescence monocarpique a pour conséquence l'arrêt du remplissage, alors que le potentiel de taille de la graine permis par ses structures cellulaires n'est pas atteint ; le rendement est alors inférieur au potentiel.

Physiologie de la maturation des graines

Sébastien Baud, *Chargé de recherche CNRS*
UMR INRA/INA PG, Biologie des semences, INRA, Versailles
Sebastien.Baud@Versailles.inra.fr

Chez les plantes à graines, ou Spermaphytes, la formation des graines est un événement clef faisant le lien entre deux générations sporophytiques et permettant une interruption momentanée du cycle de vie, cette phase de latence étant propice à la survie et à la dispersion de l'espèce. La formation d'une graine est un processus biologique complexe reposant sur le développement coordonné de trois tissus d'origines distinctes. L'embryon et l'albumen sont des tissus zygotiques dont le développement est initié par la double fécondation du sac embryonnaire. Ils sont protégés par une série d'assises tégumentaires d'origine maternelle. Le développement d'une graine se décompose en deux phases : la morphogenèse de l'embryon et la maturation, cette dernière se caractérisant par l'accumulation de composés de réserve, l'acquisition de la tolérance à la dessiccation et, généralement, l'entrée en dormance de la graine qui ne sera interrompue qu'au moment de la germination. Les composés de réserves stockés servent notamment de combustible durant la phase de croissance post-germinative de la plantule, avant que celle-ci ne devienne photosynthétique et autotrophe. Ces composés peuvent être de natures diverses amidon, huile (triglycérides) ou protéines de réserves. Ils représentent jusqu'à 90% du poids sec de la graine et constituent également sa valeur économique. A ce titre, et vue l'importance desdits composés dans la diète humaine et animale, l'élucidation des contrôles génétiques du développement et de la maturation de la graine constitue un intérêt scientifique et économique majeur.

L'espèce modèle *Arabidospis thaliana,* une brassicacée proche du colza, constitue un matériau de choix pour étudier tant la maturation de la graine que la synthèse des triglycérides. Le développement d'outils extensifs appropriés à la dissection génétique et moléculaire de l'espèce, couplé à la mise au point de procédures analytiques adaptées à la très petite taille de ses graines ont permis des avancées majeures dans l'identification et la caractérisation des acteurs impliqués dans le processus de maturation. Nous disposons aujourd'hui d'une image relativement précise du réseau métabolique responsable de la synthèse des huiles de réserves et des divers compartiments cellulaires impliqués (cytosol, mitochondrie, chloroplaste). Par exemple, il a récemment été montré que la Rubisco participait à la fixation du $C0_2$ dégagé par des enzymes telles que la pyruvate déshydrogénase dans le chloroplaste, limitant ainsi les pertes de carbone à l'échelle de l'embryon. La découverte et l'étude de mutants *d'A. thaliana* vivipares chez lesquels l'embryon enclenche un processus *de type* germinatif immédiatement après la phase de morphogenèse de l'embryon a ensuite permis d'identifier des régulateurs maîtres de la maturation tels que *LEAFY COTYLEDON2 (LEC2), FUSCA3, ou ABSCISSIC ACID INSENSITIVE3.* Ces gènes codent des facteurs de transcription (FTs) à domaine B3, une classe de FTs spécifique du règne végétal. Les acteurs évoqués ci-dessus agissent en

Copyright – Académie d'Agriculture de France – 2008.

amont de la chaîne de contrôle de la maturation et régulent à la fois le développement et le métabolisme embryonnaires. D'autres FTs, tels que WRINKLED1 (WR11), servent de relais à ces régulateurs maîtres et agissent plus en aval de la chaîne de régulation. WR1 appartient à la famille AP2, elle aussi spécifique du règne végétal, et spécifie l'action régulatrice de LEC2 en direction des enzymes de la voie de biosynthèse des acide gras.

Survie à l'état sec et germination des graines

Loïc RAJJOU, *Maître de conférences*
AgroParisTech, UFR Physiologie Végétale
UMR 204 INRA/AgroParisTech "Laboratoire de Biologie des Semences"
16, rue Claude Bernard - 75231 Paris Cedex 05
loic.rajjou@agroparistech.fr

Les plantes supérieures produisent des graines généralement tolérantes à la dessiccation et fortement déshydratées à leur maturité. L'embryon se trouve alors dans un état de quiescence métabolique et de dormance physiologique plus ou moins profonde, ce qui permet à la graine d'être stockée et de survivre dans des conditions environnementales variées. Ces graines sont dites « orthodoxes » par opposition aux graines « récalcitrantes » intolérantes à la conservation à l'état sec. La dormance et la longévité influencent considérablement la vigueur germinative des graines, c'est-à-dire leur aptitude à germer rapidement et de manière uniforme et à générer des plantules vigoureuses. Le contrôle de ces traits physiologiques est un paramètre fondamental pour l'industrie semencière et pour la gestion et le rendement des cultures, tant pour les espèces cultivées que pour les adventices.

La dormance des graines orthodoxes se caractérise par un blocage transitoire de leur germination. Cet état physiologique est généralement considéré comme la résultante d'une interaction antagoniste entre deux types d'hormones végétales : l'acide abscissique (ABA), qui induit et maintient la dormance, et les gibbérellines (GAs) qui stimulent la germination. La levée de dormance se produit naturellement au cours du stockage à sec (after-ripening) qui suit généralement la récolte, ou en réponse au froid hivernal pour les graines maintenues dans le sol. La dormance peut être également levée artificiellement par un traitement au froid humide (stratification), qui mime les conditions hivernales, ou bien par des traitements chimiques (nitrate, nitrite, oxyde nitrique...) ou hormonaux. Au cours de l'« after-ripening » des produits de gènes (ARNm et protéines) associés à la machinerie de réparation et de protection cellulaire voient leur abondance varier de façon significative.

En cas de stockage prolongé, le vieillissement des graines conduit à une perte progressive de leur vigueur germinative par l'accumulation d'une succession de dégâts des structures biologiques et aboutissant à la mort de l'embryon. Ces phénomènes de détérioration se produisent même dans des conditions idéales de conservation. La durée de vie d'une graine est déterminée par son potentiel génétique et physiologique de conservation et par les conditions environnementales qu'elle rencontre lors de son stockage. Des études récentes montrent que la vitesse du vieillissement était en partie sous contrôle génétique et que la durée de vie des graines pouvait être modulée en modifiant l'expression de certains gènes codant notamment pour des protéines de protection et de réparation des structures cellulaires. Des conditions d'hydratation limitantes, ne permettant pas la germination, suivie d'un resséchage lent de la graine, permet une restauration totale ou partielle de cette vigueur germinative. Ces traitements des

Copyright – Académie d'Agriculture de France – 2008.

semences, plus connus sous le nom de « traitement de priming », sont largement utilisés pour optimiser la qualité des lots commerciaux de semences. L'effet bénéfique du « priming » s'explique par la mise en place de mécanismes de défense et de réparation permettant une meilleure préparation à la germination.

L'exploitation de la variabilité génétique naturelle des végétaux associés aux biotechnologies et aux outils de génomique fonctionnelle (transcriptome, protéome, métabolome...), sont aujourd'hui des outils de choix permettant l'étude des bases moléculaires et biochimiques du contrôle de la dormance, de la germination et de la longévité des graines

Amélioration des caractéristiques nutritionnelles des graines de colza

Nathalie NESI, *Chargée de recherche INRA*
UMR118 INRA-Agrocampus Rennes-Université de Rennesl, Amélioration des Plantes et Biotechnologies Végétales, BP35327, 35653 Le Rheu Cedex
Nathalie.nesi@rennes.inra.fr

Le colza (Brassica *napus L.)* est une plante oléagineuse de grande culture importante dont la graine fournit également une source de matières riches en protéines végétales, utilisable en alimentation animale sous forme de tourteau. L'objectif actuel de la filière est l'augmentation de la production d'huile pour une valorisation alimentaire et non alimentaire tout en limitant les intrants (nutrition azotée, pesticides) afin de garantir la rentabilité de la culture. En marge de ces enjeux, il convient également d'anticiper des besoins spécifiques (e.g., composition en acides gras de l'huile) et d'assurer un débouché aux coproduits (tourteau).

La présentation s'attachera à faire le point sur les travaux et les résultats majeurs ayant conduit à l'amélioration génétique de la qualité nutritionnelle des graines de colza ainsi que sur les perspectives. Les méthodes et les stratégies mises en oeuvre pour mener à bien ces travaux seront illustrées.

La qualité de l'huile, notamment sa composition en acides gras, a fait l'objet de modifications significatives dans les années 70 avec l'élimination de l'acide érucique (C22:1), jugé impropre à la consommation humaine. La conversion totale de la production de colza en variétés dites « simple zéro » (i.e., dépourvues d'acide érucique) s'est accompagnée d'une modification du profil en acides gras de l'huile, au bénéfice des acides gras à 18 atomes de carbone. Avec des teneurs relativement élevées en acides gras mono- et poly-insaturés (acide oléique, C18:1 ; acide linoléique, C18:2 ; acide linolénique, C18:3), l'huile issue des colzas « simple zéro » est jugée idéale pour une utilisation alimentaire comme huile d'assaisonnement. Actuellement, des travaux visent à développer des variétés combinant une forte teneur en C18:1 et une faible teneur en C18:3 pour des applications comme huile de cuisson. Les stratégies utilisées pour augmenter la diversité génétique des caractères de qualité chez le colza incluent l'exploitation de collections de ressources génétiques, la réalisation de croisements interspécifiques, la mutagenèse ou plus récemment la transformation génétique. Le développement des technologies de marquage moléculaire a grandement facilité le travail de sélection variétale. Par exemple, des marqueurs moléculaires ont été développés pour la modification du profil en acide gras C18 de la graine. De tels marqueurs, définis sur un polymorphisme de séquence entre les allèles sauvage et mutant correspondants aux gènes *FAD2 (Fatty Acid Desaturase)* et *FAD3,* sont utilisés pour la sélection directe des allèles favorables dans le cadre de

Copyright – Académie d'Agriculture de France – 2008.

programmes de sélection assistée par marqueurs.

Les améliorations réalisées jusqu'à présent sur la fraction « tourteau » ont porté sur la réduction de la teneur en glucosinolates dans la graine et ont conduit aux variétés de colza dites « double zéro » (i.e., dépourvues d'acide érucique et à teneur réduite en glucosinolates) qui sont cultivées aujourd'hui. La composition en protéines de la graine, et notamment en protéines de réserve qui sont majoritaires, n'a pas fait l'objet de travaux d'amélioration aboutis malgré l'existence d'une variabilité génétique pour ce trait. Actuellement, les objectifs se focalisent sur l'amélioration de la valeur énergétique du tourteau de colza par la réduction de la teneur en composés pariétaux (fibres) et en facteurs anti-nutritionnels (e.g., certains pigments de la graine t.q. les tannins condensés) dont la présence limite la disponibilité et la digestibilité des protéines. Pour cela, plusieurs équipes de recherche, dont l'INRA de Rennes, cherchent à développer des lignées à graines « jaunes », (i.e., à teneur réduite en tannins). Les mécanismes moléculaires qui contrôlent la biosynthèse et l'accumulation des tannins condensés sont bien connus et décrits chez la crucifère modèle *Arabidopsis thaliana* et des approches « gènes candidats » sont menées pour identifier les déterminants moléculaires de la pigmentation des graines de colza. L'utilisation des connaissances acquises sur la graine *d'Arabidopsis thaliana* pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle de la graine de *Brassica napus* sera présentée et discutée.

Copyright – Académie d'Agriculture de France – 2008.