

## Germination des graines et contrôle du métabolisme\*

Julie Catusse<sup>1</sup>, Jean-Marc Strub<sup>2</sup>, Claudette Job<sup>1</sup>, Alain Van Dorsselaer<sup>2</sup> et Dominique Job<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CNRS / UCBL / INSA / Bayer CropScience Joint Laboratory, Bayer CropScience (UMR CNRS 5240), 14-20 rue Pierre Baizet, 69263 Lyon Cedex 9, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique, ECPM, 25 rue Becquerel, 67087 Strasbourg, France

Auteur correspondant : Dominique Job, [dominique.job@bayercropscience.com](mailto:dominique.job@bayercropscience.com)

Reçu le 20 décembre 2007

**Résumé** – Par approche protéomique, nous avons caractérisé la germination et la vigueur germinative des graines de betterave à sucre. Notre stratégie inclut (1) la construction de cartes de référence du protéome des graines matures sèches et en cours de germination d'un lot de référence de bonne vigueur; (2) l'étude de l'accumulation spécifique des protéines dans les tissus de la graine (racine, cotylédon, périsperme); (3) la recherche de changements dans les profils d'expression des protéines détectées dans le lot de graines de référence soumis à différents traitements visant à modifier artificiellement la vigueur, par exemple par vieillissement et/ou *priming* (traitements de pré-germination).

Plus de 1 000 protéines de graines de betterave à sucre ont été identifiées par spectrométrie de masse LC/MS-MS (des albumines, des globulines et des glutélines ont été analysées séparément). En raison de la conservation de séquence des protéines végétales, et de la qualité de la MS-MS (près de 10 000 séquences de peptides ont été obtenues), le taux de succès d'identification des protéines est en moyenne de 80 %. C'est à notre connaissance l'une des analyses du protéome les plus exhaustives jamais effectuées sur les graines. Ces données nous ont permis d'établir une carte métabolique détaillée de la graine de betterave à sucre, ouvrant de nouvelles perspectives dans la compréhension des mécanismes moléculaires déterminant le passage d'un état quiescent de la graine au développement d'une nouvelle plantule vigoureuse.

**Mots clés** : Graine / germination / vigueur / métabolisme / protéome

**Abstract** – Metabolic control of seed germination.

We have used proteomics to better characterize germination and early seedling vigor in sugarbeet. Our strategy includes (1) construction of proteome reference maps for dry and germinating seeds of a high-vigor reference seed lot; (2) investigation of the specific tissue accumulation of proteins (root, cotyledon, perisperm); (3) investigation of changes in protein expression profiles detected in the reference seed lot subjected to different vigor-modifying treatments, e.g. aging and/or priming.

More than 1 000 sugarbeet seed proteins have been identified by LC/MS-MS mass spectrometry (albumins, globulins and glutelins have been analyzed separately). Due to the conservation of protein sequences and the quality of MS sequencing (more than 10 000 peptide sequences have been obtained), the success rate of protein identification was on the average of 80%. This is to our knowledge the best detailed proteome analysis ever carried out in seeds. The data allowed us to build a detailed metabolic chart of the sugarbeet seed, generating new insights into the molecular mechanisms determining the development of a new seedling. Also, the proteome of a seed-storage tissue as the perisperm is described for the first time.

**Key words**: Seed / germination / vigor / metabolism / proteomics

---

\* Cette publication est dédiée à la mémoire de Daniel Côme

## Introduction

Au sens botanique du terme, la graine est l'organe issu de la double fécondation de l'ovule par le grain de pollen. Elle abrite un embryon zygotique qui va former la nouvelle plante et un tissu de réserve, en général triploïde, l'albumen, mais qui peut dériver du nucelle maternel chez quelques espèces comme la betterave à sucre. Arrivée à maturité, elle représente le moyen de dispersion dans l'environnement du nouvel individu et c'est elle qui assure la reproduction des végétaux supérieurs. Les graines de la plupart des plantes, dites orthodoxes, présentent une propriété remarquable, étant capables, grâce à une dessiccation intense lors de la maturation, d'interrompre leur activité métabolique sur la plante mère et de la redémarrer lors de la germination à la suite d'une simple imbibition (Buitink *et al.*, 2000). La graine est ainsi l'un des rares et remarquables exemples de développement eucaryote où il y ait interruption et conservation de la vigueur d'un embryon à l'état sec sur de très longues périodes de temps. Ainsi, des graines viables du lotus sacré ont été datées de plus de 1 000 ans (Shen-Miller *et al.*, 1995 ; Shen-Miller, 2002). Ceci implique l'existence de mécanismes moléculaires et biochimiques particuliers pour maintenir l'état de quiescence métabolique des graines mures sèches tout en conservant leur viabilité (longévité), mais également pour assurer le redémarrage du métabolisme cellulaire lors de la germination (Bewley et Black, 1994 ; Bewley, 1997). Ces mécanismes conditionnent la vigueur germinative, c'est-à-dire le succès avec lequel la nouvelle plante pourra s'établir et propager l'espèce. Une meilleure connaissance de ces mécanismes permettrait le développement de marqueurs moléculaires et biochimiques rendant compte de cette vigueur, utilisables en tant que marqueurs de qualité par le secteur semencier pour la commercialisation des lots de graines. Sachant que notre alimentation dépend de la production agricole, cette notion de qualité de la graine est centrale dans un contexte socio-économique où l'agriculture est fortement industrialisée, recentrée sur quelques grandes espèces, et où l'on prévoit qu'il y aura 8 milliards d'hommes à nourrir d'ici une vingtaine d'années.

Deux phytohormones, l'acide abscissique (ABA) et les gibbérellines (GA) jouent un rôle clé dans la formation de la graine, la dormance et la germination, la première molécule étant un inhibiteur de germination impliqué dans le développement de l'embryon et la maintenance de la dormance tandis que la seconde stimule la germination (Kucera *et al.*, 2005). Les mécanismes concourant à la germination et l'établissement d'une plantule vigoureuse sont complexes et en large part méconnus. L'avènement récent des techniques globales de post-génomique

(transcriptome, protéome, métabolome), qui ne reposent sur aucun *a priori*, offre des outils puissants permettant de conduire à l'identification de gènes jouant un rôle important dans des mécanismes complexes tels que la vigueur germinative, la levée des dormances ou la germination (Nakabayashi *et al.*, 2005 ; Rajjou *et al.*, 2006a ; Holdsworth *et al.*, 2008). En particulier, avec l'achèvement du séquençage génomique d'*Arabidopsis* et du riz, la constitution de grandes collections d'EST pour plusieurs plantes de référence et plantes cultivées et l'élaboration des méthodes analytiques pour la caractérisation des protéines, la protéomique est devenue une approche incontournable de génomique fonctionnelle chez les plantes (Rajjou *et al.*, 2006a ; Holdsworth *et al.*, 2008). Ainsi, plusieurs études protéomiques portant sur le développement et la germination des graines ont été publiées ces dernières années dans le but général d'élucider les mécanismes moléculaires et biochimiques fondamentaux rendant compte de la vigueur germinative (Rajjou *et al.*, 2006a). De plus, l'étude des voies biosynthétiques responsables de l'accumulation des différents composés de stockage des graines est d'importance majeure pour au moins deux raisons : (a) ces réserves supportent la croissance précoce de la plantule issue de la germination et donc de leur quantité et de leur qualité dépendront le succès de l'implantation de la plantule et (b) ces réserves sont largement utilisées en alimentation animale et humaine, tant pour des raisons quantitatives que qualitatives (sources de vitamines par exemple). Des applications biotechnologiques nombreuses s'attachent à l'amélioration de la valeur nutritive des graines (augmentation de la quantité et de la qualité des réserves, élimination d'éléments antinutritionnels, ...) et également à promouvoir d'autres utilisations non nutritionnelles (par exemple, la production de biocarburants ou l'utilisation des graines comme usines pour la production/stockage de protéines recombinantes) (Job, 2002 ; Ragauskas *et al.*, 2006 ; Sautter *et al.*, 2006 ; Boehm, 2007).

L'étude systématique des protéines de graines date du dix-neuvième siècle et en particulier du travail d'Osborne (Osborne, 1924) qui a proposé une classification de ces protéines, toujours en vigueur, selon des propriétés de solubilité dans l'eau (albumines), les solutions diluées de sels (globulines), les mélanges alcool-eau (prolamines) ou les solutions acides ou alcalines diluées (glutélines). À côté de cet ensemble de protéines, les graines mures renferment également en abondance des ARN messagers stockés pendant la maturation (Nakabayashi *et al.*, 2005). Il ne s'agit pas simplement de reliques de la phase de maturation. Nous avons démontré en effet que la germination des graines d'*Arabidopsis* pouvait être observée même en présence d'un excès d'une toxine fongique,

l' $\alpha$ -amanitine, qui est un inhibiteur puissant et très spécifique de la transcription par l'ARN polymérase II, et que, au contraire, cette germination était totalement inhibée en présence de cycloheximide, un inhibiteur de la traduction (Rajjou *et al.*, 2004). Ainsi, le potentiel de germination est en grande partie programmé lors du processus de maturation de la graine sur la plante mère. Cette étude nous a permis de montrer de plus que l'approche protéomique constituait l'approche de choix pour l'étude de la germination et de la vigueur germinative puisque cette germination est observable en absence de transcription de *novo*, illustrant ainsi le rôle fondamental des protéines stockées et de la traduction des ARNm également stockés dans la graine.

Sur ces bases, nous avons au cours de ces dernières années utilisé l'approche protéomique pour caractériser la germination des graines d'*Arabidopsis* (Gallardo *et al.*, 2001, 2002; Job *et al.*, 2005; Chibani *et al.*, 2006; Rajjou *et al.*, 2004, 2006b; Oracz *et al.*, 2007; <http://seedproteome.com>), la plante de référence pour les études moléculaires (Somerville et Koornneef, 2002) et de celles d'une plante d'intérêt agronomique, la betterave à sucre (*Beta vulgaris* L.). La betterave à sucre est une plante dicotylédone herbacée de la famille des Chénopodiacées qui présente une forte importance au plan économique car c'est en effet l'une des deux principales sources végétales de sucre, l'autre étant la canne à sucre. En dehors des applications alimentaires, sa culture suscite un vif regain d'intérêt, notamment en Europe, dans le cadre de la production de bioéthanol ([http://www.dyadic.com/wt/dyad/pr\\_1168958752](http://www.dyadic.com/wt/dyad/pr_1168958752); <http://www.ebio.org/home.php>). Il est admis que la qualité de la germination a un impact direct sur le rendement final de la culture, conditionné d'une part par le nombre de plantes effectivement issues des germinations et d'autre part par la vigueur des plantules. Ainsi, les industriels semenciers s'accordent à dire que l'amélioration de la qualité germinative des graines de betterave à sucre représente un enjeu agronomique et économique majeur. La mise en place d'une approche protéomique chez cette plante constitue un réel défi, car en effet, en comparaison des espèces végétales de référence (*Arabidopsis*, *Medicago truncatula*, riz...), il n'existe pratiquement aucune donnée génomique sur cette espèce dont nous puissions bénéficier pour l'identification des protéines de la graine. Cependant, les techniques modernes de protéomique permettent maintenant la caractérisation des protéines par leur séquençage de *novo* en acides aminés sans avoir recours à la séquence des gènes les codant. C'est donc cette approche que nous avons privilégiée pour mener à bien une étude protéomique des graines de betterave à sucre. Par ailleurs, nous nous sommes également intéressés à la question de la spécificité

tissulaire de l'accumulation des protéines de la graine par l'étude du protéome de la racine, des cotylédons et du péricarpe isolés des graines matures. Grâce à la mise en œuvre d'une telle approche globale, non basée sur des hypothèses préconçues, nous avons pu identifier les mécanismes de préparation de la graine à la germination et les rôles respectifs des différents tissus de la graine entière dans ce processus. À ce titre, nous décrivons pour la première fois le protéome d'une graine à péricarpe. Globalement, notre étude a permis d'identifier avec succès plus de 1 000 protéines de la graine de betterave à sucre, réparties entre les différentes classes que sont les albumines, globulines et glutélines. Les principaux résultats obtenus sont rapportés ci-dessous (Catusse, 2007; Catusse *et al.*, 2008).

## 1 Étude protéomique de la graine mature sèche de betterave à sucre

### 1.1 Étude des fractions globulines et glutélines

L'étude de la fraction globulines a mis en évidence que la structure des globulines de type 11S de la graine de betterave à sucre est similaire à celle décrite chez d'autres graines (Adachi *et al.*, 2003). Celle-ci se base sur deux sous-unités, l'une acide (A) et l'autre basique (B), reliées par un pont disulfure et générées durant la maturation de la graine sur la plante mère à partir d'une forme précurseur clivée par protéolyse en un site spécifique et très conservé. Les sous-unités A sont beaucoup plus polymorphes que les sous-unités B, en accord avec l'idée que ce polymorphisme introduit au sein des sous-unités A des domaines non organisés structurellement (Adachi *et al.*, 2003). Ces sites polymorphes serviront de sites de reconnaissance pour des protéases actives durant la germination afin de mobiliser ces réserves protéiques et soutenir l'installation de la plantule.

Concernant les protéines de la fraction glutélines, nous avons observé que celles-ci présentent de fortes similitudes avec la structure des globulines 11S mais ne sont toutefois pas solubles dans les mêmes conditions. Ceci nous amène à formuler deux hypothèses. Dans l'une, les glutélines seraient codées par des gènes homologues de ceux codant les globulines 11S mais elles seraient stockées dans des compartiments différents des globulines 11S et/ou subiraient des modifications post-traductionnelles leur conférant des propriétés de solubilisation particulières. Dans l'autre, les glutélines seraient codées par des gènes différents des globulines 11S et leur structure primaire serait telle que, finalement, leurs propriétés de solubilisation différeraient de celles des globulines 11S. Il serait intéressant d'approfondir cette question car les glutélines constituent

une part non négligeable des réserves protéiques de la graine et, par conséquent, jouent très vraisemblablement un rôle clé de support du métabolisme dans l'établissement d'une plantule vigoureuse.

### 1.2 Étude de la fraction albumines

L'étude de la fraction albumines nous a permis d'établir le protéome de référence de la graine mature sèche puis une carte métabolique détaillée ouvrant de nouvelles perspectives dans les mécanismes moléculaires déterminant la germination des graines et leur vigueur germinative. Des voies biochimiques complètes ont été identifiées, des enzymes impliquées dans les voies de biosynthèse de 17 des 20 acides aminés ont été mises en évidence, deux modes de traduction des ARN messagers ont été caractérisés et l'équipement de détoxification de la graine a été mis en avant (Catusse *et al.*, 2008).

### 1.3 Expression tissulaire du protéome

L'étude de la localisation tissulaire des protéines de la graine mature sèche a illustré une compartimentation du métabolisme, indiquant une division des tâches métaboliques entre les différents tissus de la graine, racine, cotylédons et périsperme. Cette compartimentation rend compte du rôle de chaque organe/tissu dans la germination et il apparaît que cet équipement en protéines permet la mobilisation des réserves (protéines, acides gras, amidon) dans les organes de stockage au profit de l'établissement de la plantule. Il ressort clairement que la germination est prête à démarrer sur la base des nombreuses enzymes et protéines régulatrices stockées dans la graine mature sèche (Catusse *et al.*, 2008). Le protéome du périsperme a également été décrit pour la première fois. Les données accumulées dans cette étude sont uniques et permettent pour la première fois d'appréhender la spécificité tissulaire de l'accumulation des protéines dans les graines de betterave à sucre. Ainsi, en opposition avec le fait que le périsperme est un tissu mort, nos résultats indiquent que ce tissu présente à la germination une activité métabolique intense et qu'il joue probablement un rôle prépondérant dans l'installation de la plantule et la vigueur (Catusse *et al.*, 2008).

## 2 Protéome de la graine de betterave à sucre en germination

Après la description du potentiel de la graine mature sèche de betterave sucrière, l'étude a porté sur

l'évolution du protéome de la graine lors de la germination. Au cours de la germination *sensu stricto* de la betterave à sucre, le programme de traduction des pools d'ARNm stockés ou néosynthétisés est induit. C'est un véritable « *burst* » de traduction qui opère dès les étapes précoces de la germination. La mobilisation des protéines de réserve, des acides gras et des sucres solubles va alimenter le métabolisme azoté et carboné. Les voies des  $\beta$ -oxydations des lipides et du cycle du glyoxylate sont induites précocement dans cette graine pourtant à réserves amylopectines. L'activité du système ubiquitine/protéasome 26S intervient après la germination *sensu stricto* pour l'élimination graduelle des protéines de l'embryon dès lors qu'elles ne jouent plus de rôle dans l'avancement du processus de germination ou pour permettre des réorientations métaboliques, par exemple passer d'un mode d'accumulation à un mode de mobilisation de l'amidon sous contrôle du facteur SNF4 que nous avons identifié pour la première fois au niveau protéique. Le métabolisme C1 est alors induit pour la production de précurseurs de nombreuses voies de biosynthèse, telles que la synthèse des phospholipides à partir de sérine, la formation des purines à partir de glycine et surtout la fourniture d'unités monocarbonées qui vont alimenter en particulier le cycle des méthyles. Ce dernier constitue une véritable plaque tournante du métabolisme, distribuant l'homocystéine, la méthionine et la S-Adénosylméthionine dans diverses voies métaboliques (synthèse des protéines, des acides aminés branchés, méthylations), hormonales (éthylène, polyamines) et de réponse aux stress environnementaux (glycine bêtaïne). Grâce à notre étude, la biosynthèse de glycine bêtaïne, très étudiée dans les tissus végétatifs des plantes qui accumulent cet agent osmoprotecteur, est décrite pour la première fois au niveau des graines. Cette propriété biosynthétique confère à la germination des graines de betterave à sucre une excellente tolérance à divers stress abiotiques qui sont fréquemment rencontrés en agriculture, tels les stress salin et hydrique. Aucun travail n'avait été effectué auparavant sur cette question et nos résultats procurent ainsi une piste intéressante pour les sélectionneurs désirant améliorer la qualité germinative des graines dans des conditions pénalisantes rencontrées de manière récurrente aujourd'hui à cause des problèmes de salinisation des sols et de sécheresse (Catusse, 2007).

La germination est un processus qui s'accompagne de fortes productions de dérivés réactifs de l'oxygène (Job *et al.*, 2005). Dans la graine de betterave à sucre, la proportion d'enzymes de détoxification de ces molécules est non négligeable, et surtout le cycle de détoxification *via* l'ascorbate est omniprésent et induit tout au long de la germination. La détoxification d'un autre composé hautement cytotoxique se met

en place : le méthylglyoxal, coproduit de la glycolyse et de la dégradation des triglycérides. Enfin, la capacité originale à contrôler des modifications post-traductionnelles de nitrosylation est induite. Grâce à ces réseaux métaboliques qui se dessinent, nos travaux permettent de mieux comprendre les processus complexes qui démarrent lorsque la graine quiescente rencontre des conditions favorables et s'achèvent par l'émergence de la pointe racinaire à travers le péricarpe. Notre étude a conduit à la description la plus exhaustive jamais réalisée d'un protéome de graine et, de fait, peut servir de modèle conceptuel pour expliquer la germination et la vigueur chez d'autres espèces, en termes généraux (Catusse, 2007; Catusse *et al.*, 2008).

### 3 Analyse protéomique de la vigueur germinative des graines de betterave à sucre

Afin de déterminer les mécanismes qui gouvernent la vigueur germinative des graines de betterave à sucre, nous avons étudié le protéome de lots dont nous avons fait expérimentalement varier la vigueur, par traitements de pré-germination (*priming*) et de détérioration contrôlée, traitements qui respectivement augmentent ou diminuent la vigueur germinative des graines (Capron *et al.*, 2000). Malgré l'état sec des graines, nos résultats montrent de véritables modifications du protéome, supportant la possibilité d'une activité biosynthétique même en conditions de faible hydratation. Dans les lots de graines dégradées, l'activité de la graine semble se concentrer sur la protection et la stabilité des structures cellulaires. Des protéines chaperons, des protéines habituellement induites en fin de maturation pour lutter contre le stress de dessiccation (protéines LEAs), et des protéines impliquées dans la protection contre les phénomènes d'apoptose sont induites. La traduction des protéines, le métabolisme primaire et la capacité à détoxifier les espèces réactives de l'oxygène semblent réduits. Un résultat marquant de notre étude concerne le cycle du glyoxylate, notamment le patron d'expression observé pour l'isocitrate lyase. En miroir de la situation observée avec les graines dégradées, le niveau d'accumulation de cette enzyme augmente très fortement chez les graines primées. Ainsi, nous proposons que l'isocitrate lyase constitue un excellent marqueur de la qualité germinative des graines de betterave à sucre, rejoignant les observations de de los Reyes *et al.* (2003) démontrant l'existence d'une corrélation positive entre le niveau d'expression de l'isocitrate lyase et la vigueur

germinative des graines de betterave à sucre.

Par ailleurs, dans les lots de graines plus vigoureux obtenus par traitement de *priming*, la préparation à la traduction des protéines se met en place de façon concomitante à l'installation de verrous empêchant l'entrée irréversible en germination. Par exemple, le niveau d'accumulation de facteurs d'élongation indispensables diminue et la synthèse protéique, globalement réduite, se concentre sur une classe d'ARN sélectionnés vraisemblablement au travers d'un mécanisme coiffe-indépendant. Nous faisons l'hypothèse que cela permette le recrutement des ARN messagers stockés. Notre hypothèse et nos résultats sont en accord avec la proposition de Lopez-Molina *et al.* (2002) et Rajjou *et al.* (2004) que la germination en conditions hydriques limitantes (comme c'est le cas pour le *priming*) est réversible, permettant le réenclenchement du programme de maturation, soit par la synthèse de novo de nouveaux transcrits (Lopez-Molina *et al.*, 2002) ou l'utilisation des ARNm stockés dans la graine mature sèche (Rajjou *et al.*, 2004). En effet, il convient de rappeler que le traitement de *priming* est réalisé dans des conditions d'hydratation limitantes ne permettant pas la germination. Ceci va permettre à la graine de mettre en place des mécanismes de défense pour mieux se préparer à la germination, expliquant ainsi l'effet bénéfique du *priming* sur la vigueur germinative.

Nous avons également mis en évidence l'effet bénéfique du *priming* sur des lots de graines dégradées. En effet, une partie des protéines dont le niveau d'accumulation avait été altéré au cours de la dégradation récupèrent leur niveau observé dans la graine mature. Cet effet bénéfique restaure en grande partie la vigueur des graines. Nous avons mis en évidence que dans le protéome néosynthétisé par les embryons dégradés puis primés, le profil ressemble beaucoup à celui des embryons primés. Par ailleurs, nous avons observé que le protéome de la graine subissait des dommages oxydatifs (carbonylations) au cours du traitement de vieillissement et que ces dommages étaient réparés à la suite d'un traitement de *priming* effectué sur les graines vieilles. De ces éléments, nous pouvons conclure que le *priming* permet la mise en place de systèmes de protection et de défense qui vont améliorer la vigueur et préparer la plantule à une installation dans des conditions non favorables, comme par exemple le stress oxydant généré par la reprise effrénée du métabolisme. Nos résultats illustrent ainsi l'intérêt du modèle graines pour l'étude du vieillissement cellulaire chez les eucaryotes, car en effet, s'il est possible d'induire un vieillissement chez des animaux de laboratoire, il n'est pas en revanche possible de réinduire chez ceux-ci une rejuvénalisation, ce qui limite l'étude des mécanismes de réparation des dégâts cellulaires engendrés par le vieillissement.

## Conclusion

Les résultats acquis au cours de ce travail contribuent à l'obtention d'informations massives sur le protéome d'une espèce cultivée importante. Cette question est d'actualité puisqu'il est prévu à court terme une augmentation significative des énergies renouvelables en France et en Europe. La betterave à sucre, compte tenu de son rendement en sucre, présente un fort potentiel pour le développement des biocarburants (bioéthanol). L'intégration de l'ensemble de ces données d'expression permettra à terme de modéliser l'ensemble des processus germinatifs selon les nouvelles approches de biologie des systèmes. D'autre part, notre étude est particulièrement intéressante pour le projet de séquençage de la betterave en cours en Allemagne, puisqu'elle renseigne sur l'expression de gènes jamais décrits dans cette espèce et fournit également des éléments permettant l'annotation précise de ce génome.

## Remerciements

Ce travail a été en partie supporté par le ministère de la Recherche et le Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) dans le cadre d'un projet conjoint Génoplante-Gabi en génomique végétale. Nous remercions nos collègues allemands impliqués dans ce projet, notamment, Juliane Meinhard, Andreas Menze et Uwe Fischer de la société KWS (Einbeck), ainsi qu'Elena Pestsova et Peter Westhoff de l'Université de Düsseldorf, pour de cordiales discussions tout au long de ce projet.

## Références

- Adachi M., Kanamori J., Masuda T., Yagasaki K., Kitamura K., Mikami B., Utsumi S. Crystal structure of soybean 11S globulin: Glycinin A3B4 homohexamer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 7395–7400.
- Bewley J.D. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 1997, 9, 1055–1066.
- Bewley J., Black M. (1994) *Seeds: Physiology of development and germination*. New York: Plenum Press.
- Boehm R. Bioproduction of therapeutic proteins in the 21st century and the role of plants and plant cells as production platforms. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1102, 121–134.
- Buitink J., Hemminga M.A., Hoekstra F.A. Is there a role for oligosaccharides in seed longevity? An assessment of intracellular glass stability. *Plant Physiol*, 2000, 122, 1217–1224.
- Capron I., Corbineau F., Dacher F., Job C., Côme D., Job D. Sugarbeet seed priming : effects of priming conditions on germination, solubilization of 11-S globulin and accumulation of LEA proteins. *Seed Sci Res*, 2000, 10, 243–254.
- Catusse J. Utilisation de la protéomique pour la dissection des processus de germination et de vigueur germinative des graines de betterave à sucre. Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour soutenue le 14 décembre 2007.
- Catusse J., Strub J.M., Job C., Meinhard J., Fischer U., Van Dorsselaer A., Job D. (2008a) Using proteomics to dissect germination and seed vigor in sugarbeet. I. The proteome of the dry mature seed and its tissue specific expression. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, sous presse.
- Chibani K., Ali-Rachedi S., Job C., Job D., Jullien M., Grappin P. Proteomic analysis of seed dormancy in Arabidopsis. *Plant Physiol*, 2006, 142, 1493–1510.
- Côme D., Corbineau F. (2006) *Dictionnaire de la biologie des semences et des plantules*. Paris : Édition Tec et Doc, LAVOISIER.
- Côme D., Durand R. & B., Jacques R., Penon P., Roland J.C. (1982) Croissance et développement. In *Physiologie végétale II* (Mazliak P, ed). Paris : Édition Hermann, pp. 121–169.
- de Los Reyes B.G., Myers S.J., McGrath J.M. Differential induction of glyoxylate cycle enzymes by stress as a marker for seedling vigor in sugar beet (*Beta vulgaris*). *Mol Gen Genomics*, 2003, 269, 692–698.
- Gallardo K., Job C., Groot S.P.C., Puype M., Demol H., Vandekerckhove J., Job D. Proteomic analysis of Arabidopsis seed germination and priming. *Plant Physiol*, 2001, 126, 835–848.
- Gallardo K., Job C., Groot S.P.C., Puype M., Demol H., Vandekerckhove J., Job D. Importance of methionine biosynthesis for Arabidopsis seed germination and seedling growth. *Physiol Plant*, 2002, 116, 238–247.
- Holdsworth M., Finch-Savage W.E., Grappin P., Job D. (2008) Post-genomics dissection of seed dormancy and germination. *Trends Plant Sci*, sous presse.
- Job D. (2002) Plant biotechnology in agriculture *Biochimie*, 84, 1105–1110.
- Job C., Rajjou L., Lovigny Y., Belghazi M., Job D. Patterns of protein oxidation in Arabidopsis seeds and during germination. *Plant Physiol*, 2005, 138, 790–802.
- Kucera B., Cohn M.A., Leubner-Metzger G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci Res*, 2005, 15, 281–307.
- Lopez-Molina L., Mongrand S., McLachlin D.T., Chait B.T., Chua N.H. ABI5 acts downstream of ABI3 to execute an ABA-dependent growth arrest during germination. *Plant J*, 2002, 32, 317–328.
- Nakabayashi K., Okamoto M., Koshihara T., Kamiya Y., Nambara E. Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. *Plant J*, 2005, 41, 697–709.
- Oracz K., El-Maarouf Bouteau H., Farrant J.M., Cooper K., Belghazi M., Job C., Job D., Corbineau F., Bailly C. ROS production and protein oxidation as a novel mechanism for seed dormancy alleviation. *Plant J*, 2007, 50, 452–465.

- Osborne T.B. *The vegetable proteins*, 2004, 2nd edition. London: Longmans, Green and Co.
- Ragauskas A.J., Williams C.K., Davison B.H., Britovsek G., Cairney J., Eckert C.A., Frederick W.J. Jr., Hallett J.P., Leak D.J., Liotta C.L., Mielenz J.R., Murphy R., Templer R., Tschaplinski T. The path forward for bio-fuels and biomaterials. *Science*, 2006, 311, 484–489.
- Rajjou L., Gallardo K., Debeaujon I., Vandekerckhove J., Job C., Job D. The effect of  $\alpha$ -amanitin on the Arabidopsis seed proteome highlights the distinct roles of stored and neosynthesized mRNAs during germination. *Plant. Physiol.*, 2004, 134, 1598–1613.
- Rajjou L., Gallardo K., Job C., Job D. Proteomics of seed development. In *Plant proteomics. Annual Plant Reviews*, 2006, 28 (Finnie C, ed). Oxford: Blackwell publishing, pp. 151–184.
- Rajjou L., Huguët R., Robin C., Belghazi M., Job C., Job D. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on Arabidopsis seed germination and establishment of early defense mechanisms. *Plant Physiol*, 2006b, 141, 910–923.
- Sautter C., Poletti S., Zhang P., Gruissem W. Biofortification of essential nutritional compounds and trace elements in rice and cassava. *Proc Nutr Soc*, 2006, 65, 153–139.
- Shen-Miller J. Sacred lotus, the long-living fruits of China Antique. *Seed Sci Res*, 2002, 12, 131–143.
- Shen-Miller J., Mudgett M.B., Schopf J.W., Clarke S., Berger R. Exceptional seed longevity and robust growth: ancient sacred lotus from China. *Amer J Bot*, 1995, 82, 1367–1380.
- Somerville C., Koornneef M. A fortunate choice: the history of *Arabidopsis* as a model plant. *Nat Rev Genet*, 2002, 3, 883–889.