

Rôle de la signalisation par les espèces réactives de l'oxygène dans la germination et la levée de dormance des semences

Christophe Bailly, Hayat El Maarouf Bouteau et Françoise Corbineau

EA 2388 Physiologie des Semences, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Le Raphaël, site d'Ivry, boîte 152, 4 place Jussieu, 75005 Paris, France

Auteur correspondant : Christophe Bailly, christophe.bailly@upmc.fr

Reçu le 20 décembre 2007

Résumé – Les progrès récents dans la compréhension des voies de signalisation chez les plantes ont conduit à considérer des espèces réactives de l'oxygène (ROS, *reactive oxygen species*) comme étant l'un des principaux acteurs de la régulation de la germination et la dormance des semences. L'accumulation des ROS au cours du stockage au sec et de l'imbibition des semences jouerait un rôle dans le contrôle des événements cellulaires impliqués dans la réalisation de la germination. Nous montrons que l'accumulation de ROS est associée à la carbonylation spécifique de protéines altérant ainsi certaines activités enzymatiques pendant la germination ou facilitant la dégradation des protéines de réserve par le protéasome. La dormance serait donc en partie contrôlée par l'oxydation de protéines. Les ROS peuvent également agir comme un signal de levée de dormance des semences grâce à d'autres mécanismes comme le contrôle de l'état d'oxydoréduction cellulaire et l'activation de facteurs de transcription. Leur interaction avec l'acide abscissique et les gibbérellines est également évoquée et un nouveau mécanisme de contrôle de la dormance par le dialogue ROS-hormones est proposé.

Mots clés : Semence / levée de dormance / signalisation / espèces réactives de l'oxygène.

Abstract – Seed dormancy alleviation and oxidative signaling.

Recent advances in plant physiology signaling pathways have led to consider reactive oxygen species (ROS) as being key actors in the regulation of germination and dormancy. ROS accumulation during seed dry storage or during their imbibition would trigger cellular events controlling the realization of germination. We show that ROS accumulation triggers specific carbonylation of proteins thus modifying the occurrence of enzyme-mediated reactions during germination or facilitating reserve protein degradation through the proteasome. This suggests that dormancy is in part controlled by protein oxidation. ROS can also act as a positive signal in seed dormancy release through their effect on other mechanisms such as the control of the cellular redox status and the activation of transcription factors. Their interaction with abscisic acid and gibberellins is also evoked and a new mechanism of dormancy regulation in which ROS crosstalk with hormonal pathways is proposed.

Key words: seeds / dormancy alleviation / signalisation / reactive oxygen species.

Introduction

Les espèces réactives de l'oxygène (*Reactive Oxygen Species*, ROS) sont des molécules dérivant de la réduction de l'oxygène; elles comprennent par exemple les anions superoxyde (O_2^-), le peroxyde

d'hydrogène (H_2O_2) ou les radicaux hydroxyles ($HO\cdot$). Leurs rôles dans les mécanismes de signalisation cellulaires chez les plantes, en réponse à des stress ou lors de processus développementaux, sont établis depuis une quinzaine d'années seulement et ont souvent été attribués au peroxyde d'hydrogène, la forme la

plus stable des ROS. Par exemple, l' H_2O_2 est impliqué dans la mort cellulaire programmée (PCD) (Pellinen *et al.*, 2002), l'embryogenèse somatique (Cui *et al.*, 1999), la réponse aux blessures (Orozco-Cardenas *et al.*, 2001), le gravitropisme racinaire (Joo *et al.*, 2001) ou la fermeture des stomates (Pei *et al.*, 2000). Les rôles des anions superoxydes et des autres ROS sont jusqu'ici moins bien décrits, mais l' O_2^- semble jouer un rôle dans la mort cellulaire et les réponses de défense des plantes vis-à-vis des pathogènes (Jabs *et al.*, 1996). Dans le cas des semences, la production de ROS a longtemps été considérée comme étant très préjudiciable car souvent associée à leur perte de viabilité. La théorie oxydante de la mortalité des semences lors de leur conservation est d'ailleurs soutenue par de nombreux travaux réalisés sur de nombreuses espèces. Cependant, des études récentes suggèrent que les ROS peuvent aussi avoir un effet favorable sur la germination. Il apparaît désormais de plus en plus clairement que les ROS peuvent aussi jouer un rôle clé dans la signalisation cellulaire associée à la réalisation de diverses étapes clés de la vie des semences, comme la germination et la levée de dormance. Ces phases se caractérisent, en particulier, par une réorientation du fonctionnement du génome et sont étroitement contrôlées par des voies de signalisation hormonale, telles que celles de l'acide abscissique (ABA) et de l'acide gibbérellique (GA).

Production et perception des ROS : le cas particulier des semences

Une des caractéristiques les plus remarquables des semences orthodoxes est que leur teneur en eau et leur métabolisme varient considérablement au cours de leur élaboration sur la plante mère et de leur germination. Leur teneur en eau est élevée aux premiers stades du développement de la graine, c'est-à-dire au cours de l'embryogenèse. Pendant l'accumulation des réserves dans la graine, une quantité d'eau suffisante est nécessaire pour permettre le transport de métabolites à travers les connexions vasculaires. Cette accumulation s'effectue lorsque la teneur en eau est supérieure à 40-50 % par rapport à la matière fraîche. Cette étape est suivie par une perte brutale d'eau au cours de la dessiccation, ce qui nécessite la mise en oeuvre de mécanismes d'adaptation cellulaire, parmi lesquels l'élimination des ROS joue un rôle essentiel, pour permettre la survie des semences (Vertucci & Farrant, 1995). A l'état quiescent, les semences orthodoxes ont une teneur en eau généralement inférieure à 0,10 g H_2O /g de matière sèche et leur activité métabolique est quasi nulle. La réhydratation des semences est nécessaire pour la reprise du métabolisme et leur germination ultérieure

si les conditions environnementales sont favorables et si les semences ne sont pas dormantes. Ces situations contrastées d'hydratation des tissus ont des conséquences marquées en terme de production de ROS. Lors de l'élaboration de la semence ou de la germination, les mitochondries sont actives et sont probablement l'une des principales sources de ROS (Moller, 2001 ; Noctor *et al.*, 2007). Les chloroplastes peuvent également générer des ROS au début du développement des semences, mais ils deviennent assez rapidement non fonctionnels. Dans les glyoxysomes, une grande quantité de peroxyde d'hydrogène résultant de l'activité d'enzymes telles que la glycolate oxydase peut être produite lors de la mobilisation des lipides de réserve (Huang *et al.*, 1983) Il a d'ailleurs été récemment suggéré que la production de ROS par ce mécanisme pouvait jouer un rôle dans la régulation de la germination (Penfield *et al.*, 2007). Enfin, la NADPH oxydase de la membrane plasmique, qui transfère les électrons du NADPH cytoplasmique à l'oxygène, est également une autre source importante de radicaux superoxydes, qui forment par la suite de l' H_2O_2 (Lamb & Dixon, 1997). Dans les graines sèches, les activités enzymatiques étant peu probables (Vertucci & Farrant, 1996), la production de ROS résulterait essentiellement de mécanismes non-enzymatiques, comme les réactions d'Amadori et Maillard (Priestley, 1986 ; Sun & Leopold, 1995) ou la peroxydation des lipides (McDonald, 1999).

Les voies de transduction et de perception des ROS dans les plantes et, par conséquent dans les semences, ne sont pas encore pleinement élucidées. Là encore, l'évolution de la teneur en eau des cellules des semences au cours de leur vie laisse à penser que la perception des ROS implique divers mécanismes. Dans les tissus hydratés, la présence d'eau libre et la faible viscosité cytoplasmique permettent aux ROS de se déplacer au sein de la cellule. Toutefois, les ROS à courte durée de vie, comme les radicaux hydroxyles, réagiraient avec des molécules proches de leurs sites de production alors que les ROS les plus stables, comme l' H_2O_2 , pourraient atteindre des cibles éloignées de leur site de production (Moller *et al.*, 2007). Dans ces conditions d'hydratation, les mécanismes de transduction du signal oxydant pourraient donc être disponibles. Ils comprennent notamment l'activation de cascades MAP kinase, l'inhibition des phosphatases ou l'activation des canaux calciques, mais aucun de ces processus n'a été bien étudié dans les semences. Inversement, dans les graines sèches, l'absence d'eau libre et la viscosité cytoplasmique élevée limitent probablement la diffusion des ROS. Deux hypothèses non exclusives peuvent être proposées pour expliquer la perception et la transduction des ROS à l'état sec. La première propose que les ROS seraient effectivement perçus au sec, ce qui suggère l'existence d'un système

de régulation du fonctionnement cellulaire en anhydrobiose, impliquant par exemple une transcription active. Cette hypothèse s'appuie sur divers travaux qui ont suggéré que les cellules en anhydrobiose pourraient contenir des zones hydratées restreintes, permettant une certaine mobilité et donc une réactivité des ROS produits à l'état sec. La seconde hypothèse propose que les ROS accumulés pendant le stockage au sec ne deviendraient des acteurs de la signalisation cellulaire qu'après la réhydratation des tissus séminaux, c'est-à-dire lorsque la présence d'eau libre autorise à nouveau les réactions enzymatiques. Il a en effet déjà été démontré que l'hydratation des semences provoque une libération de ROS piégés auparavant dans les tissus lors de la conservation au sec (Priestley *et al.*, 1985).

La dormance des semences

La dormance des semences correspond à une inaptitude à germer même si elles sont placées dans des conditions environnementales apparemment favorables (Bewley, 1997; Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006). Il s'agit d'un phénomène mal compris qui dépend du génome mais qui est fortement modulé par les conditions de l'environnement au cours du développement des semences, le stade de développement des semences et les conditions post-récolte. La dormance peut résulter de l'embryon lui-même (dormance embryonnaire) ou des structures qui l'entourent (inhibition tégumentaire). Nous ne présenterons ici que des données portant sur le rôle des ROS dans la dormance embryonnaire. En effet, les ROS comme l' H_2O_2 peuvent éliminer l'inhibition tégumentaire des semences de certaines espèces comme les céréales, mais il s'agit souvent d'un effet d'oxydation des composés phénoliques des enveloppes des semences qui ne met pas en jeu des mécanismes de signalisation cellulaire. La dormance est un phénomène transitoire qui s'élimine progressivement au cours du temps pour permettre la germination des semences d'une espèce dans une plus large gamme de conditions agroclimatiques. À ce titre les dormances sont d'ailleurs souvent considérées comme un caractère adaptatif qui permet aux semences d'éviter la germination lors de la saison défavorable ou de prolonger leur survie à long terme dans la banque de semences du sol et assurer ainsi la dissémination temporelle de l'espèce. Selon l'espèce, l'élimination de la dormance survient principalement lors de la post-maturation au sec (stockage au sec) ou pendant la stratification au froid (imbibition à basse température) des semences. Des méthodes plus artificielles d'élimination de la dormance existent également. Elles consistent souvent à traiter des

semences humides par divers composés comme par exemple l'acide gibbérellique, l'éthylène, l'éthanol ou le cyanure. Au niveau cellulaire, les mécanismes associés à la transition d'un état dormant vers un état non dormant demeurent mal compris. La théorie de la balance hormonale est un concept largement répandu, elle postule que la levée ou le maintien de la dormance résulte d'un déséquilibre entre la teneur en acide abscissique (ABA), qui inhibe la germination, et en acide gibbérellique (GA), qui la stimule. L'étude de mutants affectés dans la synthèse ou la perception de ces hormones et les progrès de la transcriptomique ont permis de montrer que cette signalisation hormonale est associée à des changements de l'expression de gènes régulés par l'ABA et le GA. Toutefois cette voie de signalisation hormonale n'est vraisemblablement qu'un des acteurs d'un réseau complexe d'enzymes et de facteurs de transcription, capables d'intégrer les facteurs du milieu, et régulés par d'autres messagers cellulaires. Notre travail s'intéresse principalement au rôle possible des ROS dans la levée de dormance au sec et dans la voie de signalisation hormonale.

Rôle des ROS dans l'élimination de la dormance lors de la conservation au sec

La post-maturation au sec se réalise à de très faibles teneurs en eau, alors que celle-ci n'est probablement pas disponible pour les réactions biochimiques. Toutefois, dans ces conditions drastiques, la dormance des semences s'élimine progressivement. Il s'agit donc là d'un phénomène biologique particulièrement intrigant et non élucidé jusqu'à présent. L'accumulation progressive de ROS au cours de la conservation prolongée des semences est cependant bien documentée. Les travaux réalisés dans ce domaine ont conduit divers auteurs à proposer l'accumulation de ROS comme étant l'une des principales causes du vieillissement, puis de la mort des semences (McDonald, 1999; Hendry 1993; Pukacka & Ratajczak, 2005). Cependant, au regard du rôle émergent joué par les ROS comme molécules signal dans la physiologie des végétaux, nous avons proposé qu'il existait probablement une fenêtre temporelle dans laquelle les ROS pouvaient jouer un rôle dans la signalisation cellulaire, et permettre le passage d'une semence dormante à une semence non dormante, avant que leur surproduction ne devienne ensuite néfaste pour la cellule (Bailly, 2004). Notre travail sur la dormance des semences a été réalisé avec des semences de tournesol (*Helianthus annuus* L.) qui présentent une dormance embryonnaire au moment de leur récolte se manifestant par une gêne à la germination à des températures inférieures

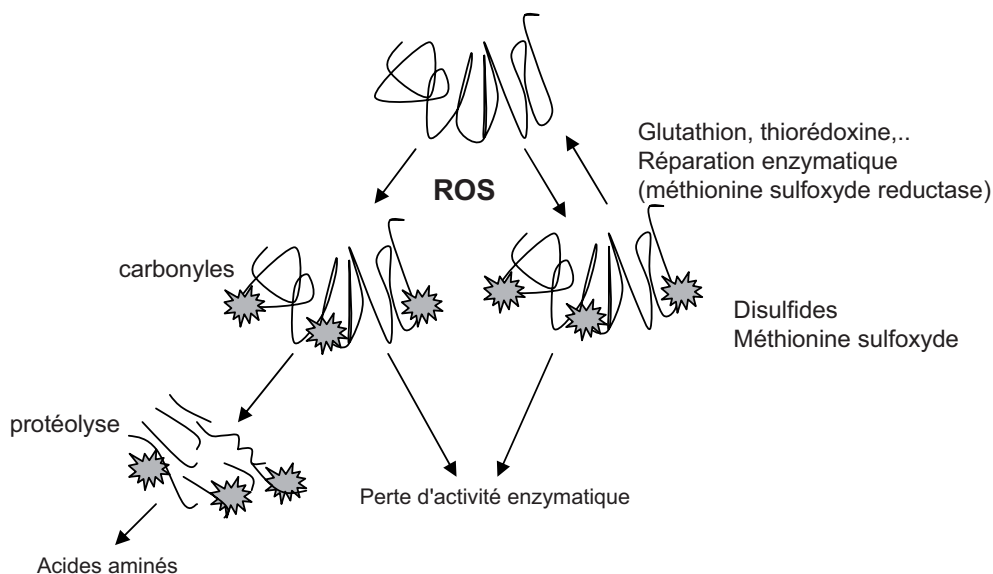


Fig. 1. Représentation schématique des mécanismes d'oxydation et de réparation des protéines. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) peuvent oxyder de manière irréversible certains acides aminés et former des groupements carbonyles. La carbonylation peut conduire à la dégradation de protéines par le protéasome. L'oxydation des protéines peut également conduire à la formation de disulfides (à partir de cystéine) ou de méthionines sulfoxydes (à partir de méthionine), mais cette oxydation est réversible grâce à des composés comme le glutathion ou par l'activité de la méthionine sulfoxyde réductase, respectivement. Les deux types d'oxydation inhibent les activités enzymatiques. D'après Nyström (2005).

à 15 °C. Ainsi, à 10 °C, généralement seulement environ 10 à 20 % des semences dormantes dépourvues de leur péricarpe sont capables de germer, mais après un stockage au sec d'un ou deux mois, 100 % des semences germent en 7 jours à cette température. Cette période de stockage au sec est associée à une accumulation d'anions superoxydes et de peroxyde d'hydrogène et à des peroxydations lipidiques. Il convient de souligner que les conditions de stockage ne permettant pas l'élimination de la dormance préviennent également ces phénomènes, ce qui suggère qu'il existe bien une relation de cause à effet entre l'accumulation des ROS et la levée de dormance. Les protéines étant l'une des principales cibles des radicaux libres et autres molécules oxydantes, nous avons recherché si l'accumulation de ROS lors de la post-maturation au sec pouvait conduire à l'oxydation de protéines spécifiques. Il existe divers types de modifications oxydatives des protéines qui sont de nature réversible, comme par exemple l'oxydation de la méthionine et sa réparation par la méthionine sulfoxyde réductase, ou irréversible, comme la formation de dérivés carbonylés après l'attaque oxydative de la proline, l'arginine, la lysine et la thréonine (Fig. 1). Les modifications oxydatives des protéines peuvent conduire à diverses conséquences fonctionnelles, comme l'inhibition des activités enzymatiques, la sensibilité accrue à la protéolyse ou l'altération des échanges intercellulaires. Ces modifications ont été mises en cause chez l'humain dans le vieillissement et dans

des pathologies comme le diabète, l'artériosclérose et les maladies neurodégénératives. Toutefois, des études récentes indiquent que l'oxydation des protéines n'est pas nécessairement un phénomène délétère chez les végétaux (Johansson *et al.*, 2004; Job *et al.*, 2005). Oracz *et al.* (2007) et El Maarouf Bouteau *et al.* (2007) ont pour la première fois démontré que l'accumulation de ROS lors de la post-maturation au sec était associée à la carbonylation spécifique d'un pool de protéines, suggérant ainsi que ce mécanisme pouvait jouer un rôle de signal dans la dormance. Parmi ces protéines carbonylées nous avons par exemple identifié des protéines de réserve, comme des globulines. L'oxydation de ces protéines pourrait faciliter leur mobilisation au cours de la germination *via* le protéasome, ce qui indique que la levée de dormance des semences de tournesol serait associée à une préparation en vue de la mobilisation des protéines de réserve. Il est très probable que ces modifications, qui se déroulent en absence quasi totale d'eau, ne sont réellement fonctionnelles que lors de la réimbibition des semences.

Les ROS, acteurs clés de la germination ?

De nombreuses études ont montré que le passage d'une semence quiescente à un organisme métaboliquement actif lors de l'imbibition est associé à la production de ROS. Par exemple, la production de peroxyde d'hydrogène a été démontré dès le début de l'imbibition des

semences de soja (Gidrol *et al.*, 1994), radis (Schopfer *et al.*, 2001), maïs (Hite *et al.*, 1999), tournesol (Bailly *et al.*, 2002), blé (Caliskan & Cuming, 1998), pois (Wojtyla *et al.*, 2006) et tomate (Morohashi, 2002). Ces données indiquent que l'accumulation de ROS ne semble pas néfaste au bon déroulement de la germination. À l'inverse nous avons proposé que ces composés joueraient un rôle clé dans le contrôle des événements métaboliques et cellulaires associés à la réalisation de ce phénomène (Bailly, 2004), et l'étude de l'expression de la dormance des semences de tournesol nous a permis de valider cette hypothèse. Ainsi, au cours de l'imbibition, la teneur en anions superoxyde et peroxyde d'hydrogène est toujours supérieure dans les semences non dormantes, qui s'engagent vers la germination, que dans les semences dormantes, incapables de germer (Oracz *et al.*, 2007). De plus, le traitement des semences dormantes par le cyanure, qui permet leur germination, est également associé à une surproduction de ces composés. Enfin, l'utilisation d'aminotriazole, inhibiteur de la catalase, ou de méthylviologène, composé générateur de ROS, permet également la germination des semences dormantes. L'ensemble de ces résultats montre clairement que les ROS sont nécessaires à la germination des semences de tournesol. À nouveau un pool de protéines devient carbonylé lors de la germination, ce qui montre que l'oxydation de certaines protéines semble jouer un rôle important dans ce phénomène. Des enzymes, comme par exemple l'alcool déshydrogénase, deviennent ainsi oxydées, ce qui est particulièrement intéressant dans ce cas puisque le rôle bénéfique de l'alcool dans la levée de dormance des semences a déjà été montré il y a presque une vingtaine d'années (Cohn *et al.*, 1989; Corbineau *et al.*, 1991). Toutefois ces données ne doivent pas être considérées indépendamment des autres réseaux de régulation de la dormance déjà identifiés chez les semences. En particulier, il apparaît nécessaire d'y intégrer dans le futur le dialogue avec les systèmes de communication hormonaux.

Vers une compréhension du dialogue ROS-hormones dans la levée de dormance

Parmi les possibles interactions entre les ROS et les hormones végétales, le dialogue entre le peroxyde d'hydrogène et l'ABA apparaît comme étant le plus probable. D'une part, il existe des données suggérant que le peroxyde d'hydrogène exogène peut éliminer la dormance des semences d'orge (Fontaine *et al.*, 1994; Wang *et al.*, 1998), de riz (Naredo *et al.*, 1998), de pommier (Bogatek *et al.*, 2003) et de *Zinnia* (Ogawa & Iwabuchi, 2001). Dans le cas des semences d'orge, le traitement par l'H₂O₂ entraîne d'ailleurs une diminution de l'ABA endogène (Wang *et al.*, 1998). D'autre

part, il est établi, grâce à divers modèles végétaux, que les voies de transduction de l'ABA et de l'H₂O₂ sont fortement interconnectées. L'H₂O₂ semble avoir un rôle dans la réponse cellulaire à l'ABA au niveau de l'expression des gènes et il régule également les mouvements des ions calcium dans les cellules de garde des stomates en réponse à l'ABA (Pei *et al.*, 2000). Des études réalisées *in vitro* ont révélé que l'H₂O₂ inactive ABI1 et ABI2, des protéines phosphatases de type 2C qui interviennent dans la signalisation de l'ABA (Meinhard & Grill, 2001; Meinhard *et al.*, 2002). Enfin, il a également été démontré que l'ABA favorisait la transcription des enzymes de détoxification cellulaire comme la catalase, la superoxyde dismutase et l'ascorbate peroxydase alors que le GA la réprimait dans la couche à aleurone des semences de céréales lors de leur germination (Fath *et al.*, 2001). Bien que le GA soit également fortement impliqué dans la dormance des semences de nombreuses espèces, son interaction avec la signalisation des ROS est moins documentée. Maya-Ampudia et Bernal-Lugo (2006) ont montré que le GA modifiait le statut d'oxydoréduction des protéines de la couche à aleurone des semences d'orge au cours de leur germination, un processus qui pourrait être lié à l'accumulation des ROS. Bethke *et al.* (2007) ont également démontré que le NO induisait les gènes *GA3ox1* et *GA3ox2* qui sont impliqués dans la synthèse de GA dans les semences d'*Arabidopsis*.

L'éthylène peut également favoriser la germination, en interférant avec l'action de l'ABA dans la germination des semences et/ou le maintien de la dormance (Ghassemian *et al.*, 2000). Chez certaines espèces, comme le tournesol, l'éthylène lève la dormance des semences (Corbineau *et al.*, 1990) mais son action stimulatrice est réduite en présence d'ABA (Corbineau et Côme, 2003). Les voies de signalisation des ROS et de l'éthylène semblent également partager certains mécanismes. Par exemple, la stimulation de la synthèse de l'éthylène par des facteurs externes, comme l'ozone, l'irradiation UV, ou les blessures, implique également la génération de ROS (Surplus *et al.*, 1998). Le récepteur à l'éthylène *ETR1* joue un rôle important dans la perception du signal ROS par les cellules de garde des stomates (Desikan *et al.*, 2005). Les ROS ont également été impliqués dans les interactions entre l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène (Wang *et al.*, 2002).

Il existe donc un faisceau convergent de données expérimentales qui semblent indiquer que les ROS joueraient un rôle clé dans la perception des messages hormonaux par les semences, en particulier lors de l'élimination de la dormance et de la germination. Des travaux supplémentaires sont nécessaires pour obtenir une vision plus intégrée et plus explicative du rôle des ROS dans la signalisation cellulaire associée à la levée

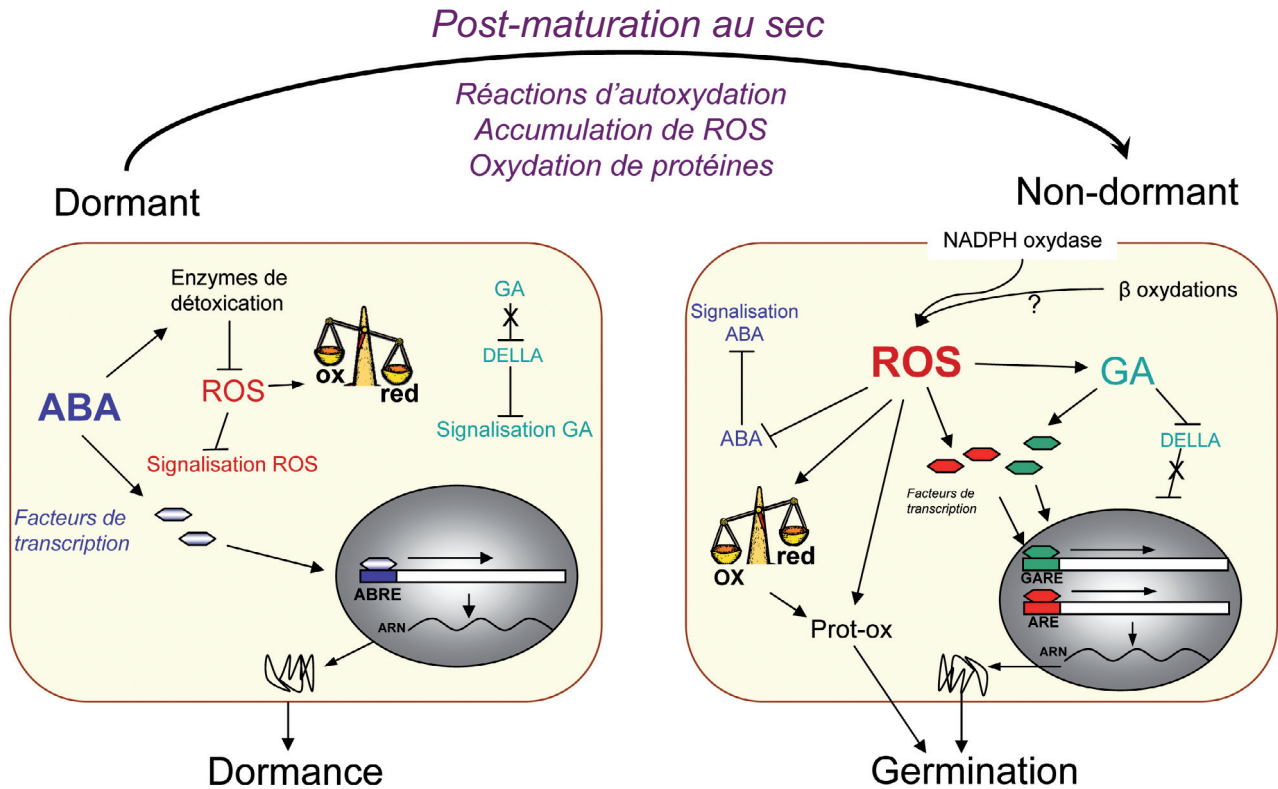


Fig. 2. Modèle illustrant les relations possibles entre les espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'acide abscissique (ABA) et l'acide gibbérellique (GA) dans la levée de dormance et la germination. Dans les semences dormantes, la teneur en ABA est élevée ce qui active sa voie de signalisation, notamment *via* les éléments ABRE (ABA Responsive Element) et qui maintient une faible teneur en ROS, grâce à la stimulation de l'activité des enzymes de détoxification par l'ABA. Dans le même temps la voie de signalisation du GA est réprimée et les protéines DELLA actives. La post maturation au sec est associée à une augmentation de la teneur en ROS, et la NADPH oxydase et les β -oxydations participent à la synthèse des ROS dans les semences non dormantes imbibées. Dans ces conditions, la voie de signalisation de l'ABA est réprimée et celle du GA activée, *via* la stimulation de sa synthèse puis la répression des DELLA. Les ROS et le GA initient également la synthèse de facteurs de transcription, peut-être communs, qui permet la transcription de gènes associés à la germination *via* des éléments ARE (Antioxidant Responsive Element) ou GARE (GA Responsive Element). Les ROS sont également responsables de l'oxydation de protéines, directement ou en contrôlant l'état redox de la cellule.

de dormance. Néanmoins, un modèle putatif, basé sur nos travaux et les références citées dans le texte, dans lequel les hormones et les ROS interagissent dans le contrôle de la dormance et de la germination des semences est proposé Figure 2. Au cours de l'imbibition des semences dormantes l'ABA stimule l'activité des enzymes de détoxification cellulaire ce qui maintient la teneur en ROS à un faible niveau. Dans le même temps, la teneur en GA reste faible ce qui permet notamment l'activation des protéines DELLA, des facteurs de transcription qui sont des régulateurs négatifs de la signalisation par le GA (Tyler *et al.*, 2004). L'élimination de la dormance au sec est associée à une augmentation importante de la teneur en ROS. Lors de l'imbibition des semences non dormantes, la teneur en ROS augmente à nouveau, vraisemblablement de par une activation de la NADPH oxydase

(Sarath *et al.*, 2007) et/ou des β oxydations des lipides (Penfield *et al.*, 2007), ce qui aurait pour conséquence de réduire la teneur en ABA et/ou de bloquer sa voie de signalisation tout en stimulant la synthèse de GA et sa voie de signalisation. Les ROS peuvent également agir directement en modifiant l'état redox de la cellule, en oxydant un pool de protéines et en activant divers facteurs de transcription.

Les futurs travaux réalisés dans le domaine de la signalisation cellulaire lors de la levée de dormance des semences devront mieux prendre en compte le rôle central des ROS dans ce phénomène. En particulier, il s'agira de déterminer comment les ROS modulent la synthèse et le catabolisme de l'ABA, quel est le rôle réel de la NADPH oxydase et comment elle est régulée par la balance hormonale, quelles parties des voies de signalisation GA-éthylène-ROS sont communes ou

quel rôle joue le statut redox de la cellule. Les apports de la protéomique et de la transcriptomique seront des outils précieux pour obtenir une vision cognitive des réseaux de communications cellulaires impliqués dans le contrôle de la germination et la dormance des semences.

Références

- Bailly C., Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Sci. Res.*, 2004, 14, 93–107.
- Bailly C., Bogatek-Leszczynska R., Côme D. & Corbineau F., Changes in activities of antioxidant enzymes and lipoxygenase during growth of sunflower seedlings from seeds of different vigour. *Seed Sci. Res.*, 2002, 12, 47–55.
- Bethke P.C., Libourel I.G., Aoyama N., Chung Y.Y., Still D.W. & Jones R.L., The Arabidopsis aleurone layer responds to nitric oxide, gibberellin, and abscisic acid and is sufficient and necessary for seed dormancy. *Plant Physiol.*, 2007, 143, 1173–1188.
- Bewley J.D., Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 1997, 9, 1055–1066.
- Bogatek R., Gawrońska H. & Oracz K., Involvement of oxidative stress and ABA in CN-mediated elimination of embryonic dormancy in apple. Dans : Nicolas G., Bradford K.J., Côme D. & Pritchard H.W., éd. The biology of seeds : Recent research advances. Wallingford : CABI Publishing, 2003, 211–216.
- Caliskan M. & Cuming A.C., Spatial specificity of H₂O₂-generating oxalate oxidase gene expression during wheat embryo germination. *Plant J.*, 1998, 15, 165–171.
- Cohn M.A., Jones K.L., Chiles L.A. & Church, D.F., Seed dormancy in red rice. 7. Structure–activity studies of germination stimulants. *Plant Physiol.*, 1989, 89, 879–882.
- Corbineau F., Bagniol S. & Côme D., Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed dormancy and its regulation by ethylene. *Israel J. Bot.*, 1990, 39, 313–325.
- Corbineau F., Gouble B., Lecat S. & Côme D., Stimulation of germination of dormant oat (*Avena sativa* L.) seeds by ethanol and other alcohols. *Seed Sci. Res.*, 1991, 1, 21–28.
- Corbineau F. & Côme D., Germination of sunflower seeds as related to ethylene synthesis and sensitivity – an overview. Dans : Vendrell M., Klee H., Pech J. C. & Romojaro F., éd. Biology and biotechnology of the plant hormone ethylene III. Amsterdam : IOS Press, 2003, 216–221.
- Cui K., Xing G., Liu X., Xing G. & Wang Y., Effect of hydrogen peroxide on somatic embryogenesis of *Lycium barbarum* L. *Plant Sci.*, 1999, 146, 9–16.
- Desikan R., Hancock J.T., Bright J., Harrison J., Weir I., Hooley R. & Neill S.J., A role for ETR1 in hydrogen peroxide signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiol.*, 2005, 137, 831–834.
- El-Maarouf Bouteau H., Job C., Job D., Corbineau F. & Bailly C., ROS signaling in seed dormancy alleviation. *Plant Signal. Behav.*, 2007, 2, 362–364.
- Fath A., Bethke P.C. & Jones R.L., Enzymes that scavenge reactive oxygen species are down-regulated prior to gibberellic acid-induced programmed cell death in barley aleurone. *Plant Physiol.*, 2001, 126, 156–166.
- Finch-Savage W.E. & Leubner-Metzger G., Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.*, 2006, 171, 501–523.
- Fontaine O., Huault C., Pavis N. & Billard J.P., Dormancy breakage of *Hordeum vulgare* seeds : effects of hydrogen peroxide and scarification on glutathione level and glutathione reductase activity. *Plant Physiol. Biochem.*, 1994, 32, 677–683.
- Ghassemian M., Nambara E., Cutler S., Kawaide H., Kamiya Y. & McCourt P., Regulation of abscisic acid signaling by the ethylene response pathway in Arabidopsis. *Plant Cell*, 2000, 12, 1117–1126.
- Gidrol X., Lin W.S., Degousee N., Yip S.F. & Kush A., Accumulation of reactive oxygen species and oxidation of cytokinin in germinating soybean seeds. *Eur. J. Biochem.*, 1994, 224, 21–28.
- Hendry G.A.F., Oxygen, free radical processes and seed longevity. *Seed Sci. Res.*, 1993, 3, 141–153.
- Hite D.R.C., Auh C. & Scandalios J.G., Catalase activity and hydrogen peroxide levels are inversely correlated in maize scutella during seed germination. *Redox Rep.*, 1999, 4, 29–34.
- Huang A.H.C., Trelease R.N. & Moore T.S., Plant peroxisomes. London : Academic Press, 1983.
- Jabs T., Dietrich R.A. & Dangl J.L., Initiation of runaway cell death in an Arabidopsis mutant by extracellular superoxide. *Science*, 1996, 27, 1853–1856.
- 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.
- Johansson E., Olsson O. & Nyström T., Progression and specificity of protein oxidation in the life cycle of *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 22204–22208.
- Joo J.H., Bae Y.S. & Lee J.S., Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. *Plant Physiol.*, 2001, 126, 1055–1060.
- Lamb C. & Dixon R.A., The oxidative burst in plant disease resistance. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1997, 48, 251–275.
- Maya-Ampudia V. & Bernal-Lugo I., Redox-sensitive target detection in gibberellic acid-induced barley aleurone layer. *Free Radic. Biol. Med.*, 2006, 40, 1362–1368.
- McDonald M.B., Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Sci. Tech.*, 1999, 27, 177–237.
- Meinhard M. & Grill E., Hydrogen peroxide is a regulator of ABI1, a protein phosphatase 2C from Arabidopsis. *FEBS Lett.*, 2001, 508, 443–446.
- Meinhard M., Rodriguez P.L. & Grill E., The sensitivity of ABI2 to hydrogen peroxide links the abscisic acid-response regulator to redox signalling. *Planta*, 2002, 214, 775–782.

- Moller I.M., Plant mitochondria and oxidative stress : electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 2001, 52, 561–591.
- Moller I.M., Jensen P.E. & Hansson A., Oxidative modifications to cellular components in plants. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2007, 58, 459–481.
- Morohashi Y., Peroxidase activity develops in the micropylar endosperm of tomato seeds prior to radicle protrusion. *J. Exp. Bot.*, 2002, 53, 1643–1650.
- Naredo M.E.B., Juliano A.B., Lu B.R., De Guzman F. & Jackson M.T., Responses to seed dormancy-breaking treatments in rice species (*Oryza L.*). *Seed Sci. Tech.*, 1998, 26, 675–689.
- Noctor G., De Paepe R. & Foyer C.H., Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants. *Trends Plant Sci.*, 2007, 12, 125–34.
- Nyström T., Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. *EMBO J.*, 2005, 24, 1311–1317.
- Ogawa K. & Iwabuchi M., A mechanism for promoting the germination of *Zinnia elegans* seeds by hydrogen peroxide. *Plant Cell Physiol.*, 2001, 42, 286–291.
- 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.
- Orozco-Cardenas M.L., Narvaez-Vasquez J. & Ryan C.A., Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *Plant Cell*, 2001, 13, 179–191.
- Pei Z.M., Murata Y., Benning G., Thomine S., Klüsener B., Allen G.J., Grill E. & Schroeder J.I., Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature*, 2000, 406, 731–734.
- Pellinen R.I., Korhonen M.S., Tauriainen A.A., Palva E.T. & Kangasjärvi J., Hydrogen peroxide activates cell death and defense gene expression in birch. *Plant Physiol.*, 2002, 130, 549–560.
- Penfield S., Pinfield-Wells H & Graham I.A., Lipid metabolism in seed dormancy. Dans : Bradford K. & Nonogaki H., éd. Seed development, dormancy and germination. Oxford : Blackwell Publishing, 2007, 133–152.
- Priestley D.A., Seed aging. Implications for seed storage and persistence in the soil. Ithaca : Cornell University Press, 1986.
- Priestley D.A., Werner B.G., Leopold A.C. & McBride M.B., Organic free radical levels in seeds and pollen: The effects of hydration and aging. *Physiol. Plant.*, 1985, 64, 88–94.
- Pukacka S. & Ratajczak E., Production and scavenging of reactive oxygen species in *Fagus sylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. *J. Plant Physiol.*, 2005, 162, 873–885.
- Sarath G., Hou G., Baird L.M., Mitchell R.B., Reactive oxygen species, ABA and nitric oxide interactions on the germination of warm-season C4-grasses. *Planta*, 2007, 226, 697–708.
- Schopfer P., Plachy C. & Frahy G., Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. *Plant Physiol.*, 2001, 125, 1591–1602.
- Sun W.Q. & Leopold A.C. The Maillard reaction and oxidative stress during aging of soybean seeds. *Physiol. Plant.*, 1995, 94, 94–104.
- Surplus S.L., Jordan B.R., Murphy A.M., Carr J.P., Thomas B. & Mackerness S., Ultraviolet-B-induced responses in *Arabidopsis thaliana* : Role of salicylic acid and reactive oxygen species in the regulation of transcripts encoding photosynthetic and acidic pathogenesis-related proteins. *Plant Cell Environ.*, 1998, 21, 685–694.
- Tyler L., Thomas S.G., Hu J., Dill A., Alonso J.M., Ecker J.R. & Sun T.P., DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2004, 135, 1008–1019.
- Vertucci C.W. & Farrant J.M., Acquisition and loss of desiccation tolerance. Dans : Kigel J. & Galili G., éd. Seed development and germination. New York : Marcel Dekker, 1995, 237–271.
- Wang K.L.C., Li H. & Ecker J.R., Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell*, 2002, 14, S131–S151.
- Wang M., van der Meulen R.M., Visser K., Van Schaik H.P., Van Duijn B. & de Boer A.H., Effects of dormancy-breaking chemicals on ABA levels in barley grain embryos. *Seed Sci. Res.*, 1998, 8, 129–137.
- Wojtyła L., Garnczarska M., Zalewski T., Bednarski W., Ratajczak L. & Jurga S., A comparative study of water distribution, free radical production and activation of antioxidative metabolism in germinating pea seeds. *J. Plant Physiol.*, 2006, 163, 1207–1220.