

## Vieillessement des semences et mécanismes de survie

Philippe Grappin, Gildas Bourdais, Boris Collet, Béatrice Godin, Dominique Job, Laurent Ogé, Marc Jullien et Loïc Rajjou

Unité Mixte de Recherche 204 INRA AgroParisTech de Biologie des Semences, UFR de Physiologie Végétale, AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05

Auteur correspondant : Philippe Grappin, [grappin@versailles.inra.fr](mailto:grappin@versailles.inra.fr)

Reçu le 27 mai 2008

**Résumé** – Le vieillissement et la perte de viabilité sont universels aux êtres vivants. Chez les plantes à fleurs, la graine mature disséminée dans le sol matérialise la phase du cycle de vie exposée au vieillissement. Dans nos climats tempérés les graines, dont le succès germinatif conditionne la propagation de la descendance, ont acquis une aptitude à la survie qui en fait un modèle d'étude de choix. Outre les propriétés physico-chimiques de la semence qui lui confèrent une résistance particulière au stress oxydatif, le métabolisme des protéines semble jouer un rôle déterminant dans le contrôle de la longévité. De récentes études génétiques ont permis de mettre en évidence le rôle important de l'enzyme de réparation, la Protéine L-isoaspartyl méthyltransférase, dans la survie des graines ainsi que dans la vigueur germinative. Ces mécanismes de détoxification cellulaire par la réparation des protéines sont universels et l'étude de leur mode d'action dans la graine va contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes de protection contre le vieillissement.

**Mots clés** : Graine / vieillissement / longévité / réparation des protéines / Protéine L-isoaspartyl méthyltransférase

**Abstract** – Seed aging and survival mechanisms.

Aging and death are universal to living systems. In temperate climate latitudes the mature seeds of higher plants are exposed to aging and have developed resistance mechanisms allowing survival and plant propagation. In addition to the physicochemical properties of the seed that confer stress resistance, the protein metabolism contributes importantly to longevity mechanisms. Recently, genetic studies have demonstrated the occurrence of the Protein L-isoaspartyl methyltransferase repair enzyme in controlling age-related protein damages and seed survival. These protective mechanisms by protein repair are widespread in all kingdoms, so that the use of seeds as models to study these controlling processes offers the prospect of understanding longevity mechanisms better.

**Key words**: Seed / aging / longevity / protein repair / Protein L-isoaspartyl methyltransferase

### Introduction

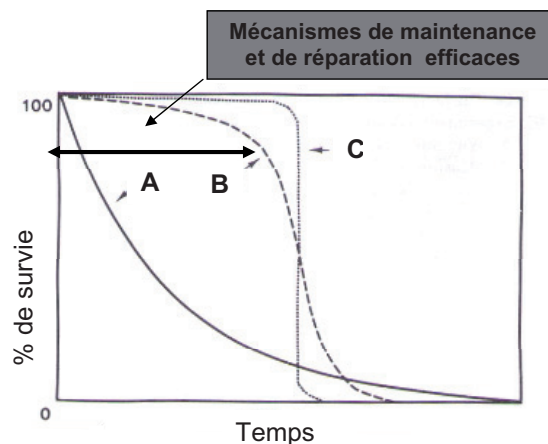
Le vieillissement est un processus inhérent au cycle de vie des organismes vivants. Il résulte des détériorations oxydatives occasionnées sur les biomolécules, entraînant une perte des fonctions cellulaires et de leurs mécanismes de protection. La longévité des organismes diffère selon les espèces car elle dépend des agressions du milieu mais également des gènes qui

contrôlent ces mécanismes de protection au cours du développement. Chez les plantes à fleurs de nos climats tempérés, les graines matures se retrouvent stockées dans le sol pendant un certain temps avant de rencontrer des conditions propices à la germination. Cette interruption du cycle de vie est propice au vieillissement. La longévité de la semence s'inscrit dans un ensemble de mécanismes qui permettent à la plante de coloniser le milieu le plus efficacement

possible avec des stratégies d'évitement vis-à-vis des conditions adverses. La spectaculaire résistance de la graine en fait « le » support de choix pour conserver les ressources génétiques chez les végétaux mais aussi un excellent modèle pour étudier les mécanismes de protection contre le vieillissement. La longévité des semences intrigue les botanistes et les physiologistes depuis des siècles. Theophrastus (372-287 av. J.C.) avait déjà décrit que certaines graines conservaient leur viabilité plus longtemps que d'autres. Dans les années 1980 des ouvrages de synthèse décrivaient ces mécanismes de résistance par les propriétés physico-chimiques et de quiescence particulières de la graine (Priestley, 1986). Récemment les développements de la génomique et de la génétique moléculaire sur l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana* (Somerville & Koornneef, 2002) ont ouvert de nouveaux horizons pour l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans la longévité. L'analyse du protéome de la graine suggère un rôle important de la réparation des protéines pour la survie des semences et leur vigueur germinative.

## Le concept de vieillissement

Le vieillissement et la mort sont universels aux organismes vivants. La notion de vieillissement a été appréhendée en premier sur le modèle animal par Xavier Bichat (1771-1802) dans son ouvrage *Recherches Physiologiques sur la Vie et la Mort*. En définissant la vie comme « l'ensemble des fonctions qui résistent à la mort » la dimension biologique du vieillissement est introduite par l'idée d'une « sensibilisation » à la mort que peut provoquer la détérioration des fonctions de la vie. En d'autres termes le vieillissement n'est pas une cause directe de la perte de viabilité mais il augmente la vulnérabilité du système biologique aux agressions extérieures qui peuvent alors avoir des conséquences fatales. Actuellement le vieillissement est universellement défini sur un critère statistique à savoir l'augmentation de la probabilité de mourir d'un individu par unité de temps et au cours du temps (Comfort, 1956). Cette définition prend comme référence l'évolution du taux de mortalité dans une population en fonction du temps de vie. Les détériorations cellulaires et la mort peuvent avoir d'autres origines que le vieillissement. La mort peut être causée par des événements extérieurs accidentels ou bien elle peut être programmée par l'organisme lui-même au cours du développement. Ce dernier mécanisme fait référence à la sénescence chez les plantes ou à l'apoptose pour les systèmes animaux. Ces différentes causes de mortalité ont été représentées par Pearl et Miner (1935) selon trois courbes de survie caractéristiques (Figure 1).



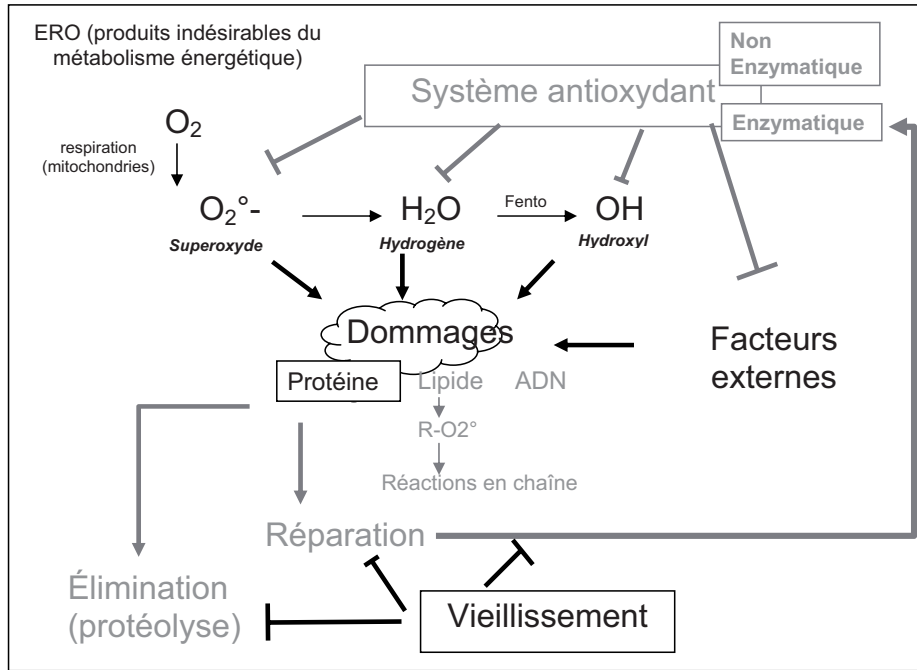
**Fig. 1.** Courbes de survie d'une population. La mort peut être causée par des événements extérieurs accidentels et stochastiques et se produit avec une probabilité constante au cours du temps (courbe A), ou par des mécanismes génétiquement programmés et coordonnés qui peuvent se traduire par une mort abrupte de la population à un stade donné (courbe C). Dans le cas du vieillissement, la mortalité est liée à par une perte progressive de la résistance du système biologique aux agressions de l'environnement et sa probabilité augmente au cours du temps (courbe B). Le plateau de la courbe B représente la durée pendant laquelle les mécanismes de protection, qui conditionnent la longévité, restent efficaces. D'après Pearl et Miner (1935).

## Une compétition entre dommages oxydatifs et métabolisme de détoxification

Dès 1956, Harman propose la théorie radicalaire du vieillissement dans laquelle l'oxydation induite par notre activité biologique et le stress environnemental est à l'origine des détériorations entraînant le vieillissement (Figure 2). En particulier au cours du métabolisme énergétique, l'accumulation indésirable de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est délétère pour la fonctionnalité des molécules et des constituants de la cellule (Sohal *et al.*, 2002). Les détériorations causées par les stress oxydants vont affecter l'efficacité des mécanismes enzymatiques de détoxification et de réparation des dommages cellulaires (Figure 2). L'accumulation des molécules endommagées pourra alors augmenter au péril des fonctionnalités de la cellule.

## Le vieillissement, une particularité chez les plantes à fleurs

Pour Kirkwood et Holliday (1979) la sélection naturelle s'exerce sur la capacité de l'organisme vivant à maximiser le succès reproductif, et sa capacité à vivre longtemps n'aurait de légitimité que



**Fig. 2.** Mécanismes chimiques des détériorations oxydatives associées au vieillissement cellulaire. Les radicaux libres et espèces réactives de l’oxygène (ERO) endommagent les biomolécules de la cellule. En particulier la détérioration des protéines conduit à une perte de l’activité des mécanismes de protection et de détoxification de la cellule.

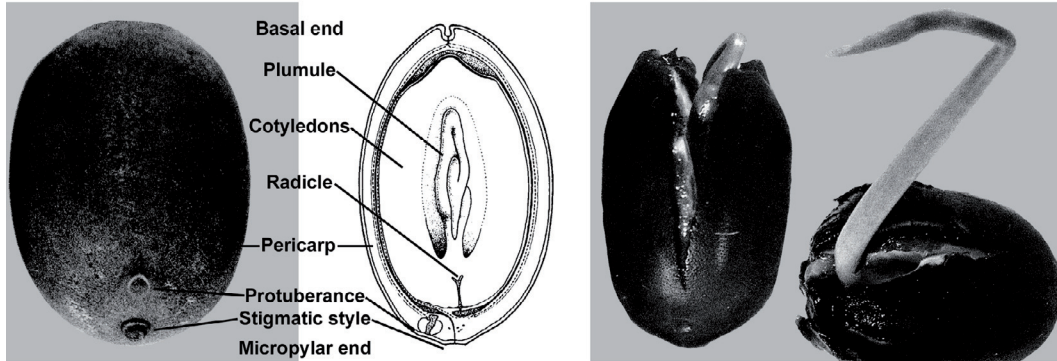
pour contribuer à cet objectif. Les plantes qui utilisent différentes stratégies pour se maintenir et assurer leur descendance illustrent bien cette théorie. Dans la plupart des cas, la phase de morphogenèse est peu sujette au vieillissement. Au contraire à l’issue de sa croissance un mécanisme de sénescence va induire prématurément la mort cellulaire des parties végétatives pour remobiliser les ressources carbonées et azotées vers les organes reproducteurs et ainsi favoriser la production des semences. C’est principalement la graine qui a pour mission d’assurer le succès reproductif par sa germination et son établissement en jeune plantule. Si les graines des plantes à fleurs acquièrent généralement les compétences pour germer immédiatement après la formation de l’embryon, dans nos climats tempérés des conditions adverses de l’environnement peuvent être délétères pendant la croissance. Cependant dans une deuxième phase de leur développement appelée maturation, les graines ont développé des mécanismes de tolérance à la dessiccation et un blocage intrinsèque de la germination appelé dormance (Leubner-Metzger & Finch-Savage, 2007). Cet état physiologique est un moyen d’échapper dans le temps à ces conditions adverses du milieu. Ces graines, que l’on qualifie d’orthodoxes car elles supportent la dessiccation, sont dispersées dans la nature dans leur état déshydraté (environ 5-15 % d’eau) et métaboliquement quiescent en attendant la levée de leur dormance et des conditions optimales pour la

germination. Souvent les conditions qui induisent la levée de dormance ne sont pas synchrones avec les conditions de germination. La graine va alors rester stockée dans le sol une longue période pendant laquelle elle sera exposée au vieillissement et aux agressions du milieu. Dans ce contexte les chances d’établissement d’une jeune plantule dépendront des propriétés de résistance et de longévité de la graine. L’exemple de graines de Lotus Sacré trouvées dans le sol, et toujours viables plus de mille ans après leur dissémination (Shen-Miller *et al.*, 1995), illustre la spectaculaire capacité de survie de la graine et l’intérêt d’étudier la semence en tant que modèle pour déchiffrer les mécanismes de longévité (Figure 3). Du fait de ces propriétés de résistance au vieillissement la semence est utilisée par l’homme comme le support de choix pour la conservation des ressources génétiques végétales.

### Les propriétés de résistance des semences mures sèches

Les détériorations liées au vieillissement d’une semence ont été décrites au niveau cellulaire et biochimique (Bailly *et al.*, 1998; Bailly, 2004). Les dommages oxydatifs affectent les lipides, protéines et ADN (Figure 2) entraînant des réactions en chaîne qui conduisent à une dégradation de la structure et des fonctions cellulaires. En particulier les protéines sont

***Nelumbo nucifera* - Sacred Lotus - Longevity and germination of ancient fruits from China**  
**Freshly harvested dormant fruit**      **ca. 1300 year old fruits germinate**



Shen-Miller et al. (1995) *American Journal of Botany* 82: 1367-1380 Drawing: Ogha (1926) *Japanese Journal of Botany* 3: 1-21

**Fig. 3.** Des graines germées de *Nelumbo nucifera* âgées de 1300 ans (d'après Shen-Miller *et al.*, 1995). Tous droits réservés.

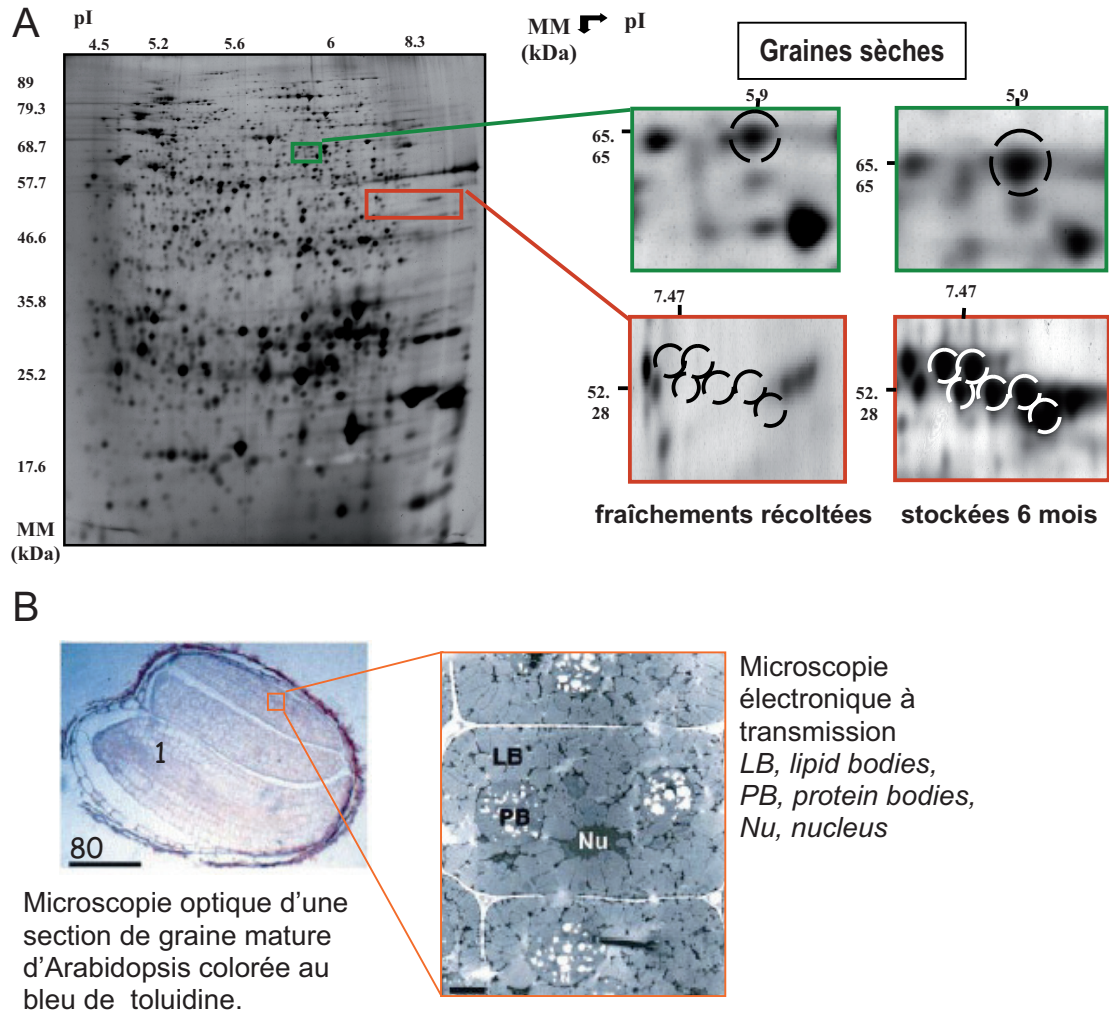
la cible majoritaire des dommages oxydatifs (Davies, 2005) et leur perte de fonction entraîne une déficience de l'activité métabolique, de synthèse des ARN et des protéines, de la capacité de réparation de l'ADN (accumulation de mutations somatiques), mais également des mécanismes de détoxification des ERO et ou d'élimination des déchets de la cellule. Cependant dans la graine orthodoxe, ces détériorations s'accumulent lentement au cours du stockage. La graine mature dans son état déshydraté présente en effet des propriétés de résistance qui sont dues certes à son état déshydraté et métaboliquement quiescent, mais également à un équipement biochimique et enzymatique particulièrement bien adapté pour neutraliser le stress oxydatif (Bailly, 2004). La faible teneur en eau, et la composition particulière en carbohydrates et en protéines dans la cellule, confèrent une organisation du cytoplasme sous la forme d'un réseau stable qui piège les ERO et limite les réactions biochimiques (Leopold, 1994; Buitink *et al.*, 2000). En plus de ces propriétés physicochimiques particulières, des systèmes de détoxification des ERO sont omniprésents dans la semence. Des métabolites antioxydants tels que l'acide ascorbique, le tocophérol, ou les flavonoïdes sont accumulés dans la graine mature et constituent un moyen de protection important dans la graine au cours du stockage (Clerkx *et al.*, 2004; Sattler *et al.*, 2004). D'autres mécanismes enzymatiques neutralisant les ERO tels que la catalase, la glutathion oxydase ou la superoxyde dismutase sont fortement induits dans la graine et peuvent jouer un rôle important au moment de l'imbibition avant l'accomplissement de la germination (pour revues McDonald, 1999; Bailly, 2004). Enfin sans que cela ait jamais été démontré chez les plantes, l'implication dans la protection contre le vieillissement de mécanismes d'élimination des molécules endommagées est fortement suspectée. En particulier les protéines

endommagées dans la cellule perdent leur conformation, s'agrègent entre elles et forment des déchets toxiques qui seraient voués à la dégradation ou à la réparation lorsque les dommages sont réversibles. De récents développements dans le domaine de la génomique fonctionnelle et de la génétique moléculaire ont permis d'explorer le métabolisme d'oxydation des protéines et leur maintenance au cours du vieillissement de la graine.

### Apports de la génomique pour l'étude des mécanismes de longévité

Au laboratoire le vieillissement de semences est mimé par des traitements de vieillissement accéléré en stockant les graines dans différentes conditions environnementales d'humidité relative et de température. Il est observé classiquement une perte de vigueur puis de viabilité des semences qui se traduit respectivement par un ralentissement des cinétiques de germination et une baisse du taux de germination. La diminution du taux de germination au cours du temps évolue selon une courbe de survie caractéristique du vieillissement (voir Figure 1, courbe B). Ces courbes ont été modélisées par Ellis & Roberts (1980) dans le but de prévoir en fonction des espèces considérées les conditions de conservation optimales des semences et leur longévité. Ces modèles intègrent des paramètres influant sur la détérioration tels que la teneur en eau ou la température de conservation qui conditionnent l'activité biochimique.

Cette question complexe des mécanismes impliqués dans la qualité de la graine a été abordée sur des espèces modèles par des approches globales et sans *a priori* de transcriptomique et de protéomique (Bove *et al.*, 2001; Holdsworth *et al.*, 2008). Chez le tabac comme chez l'espèce modèle *Arabidopsis*, l'analyse du

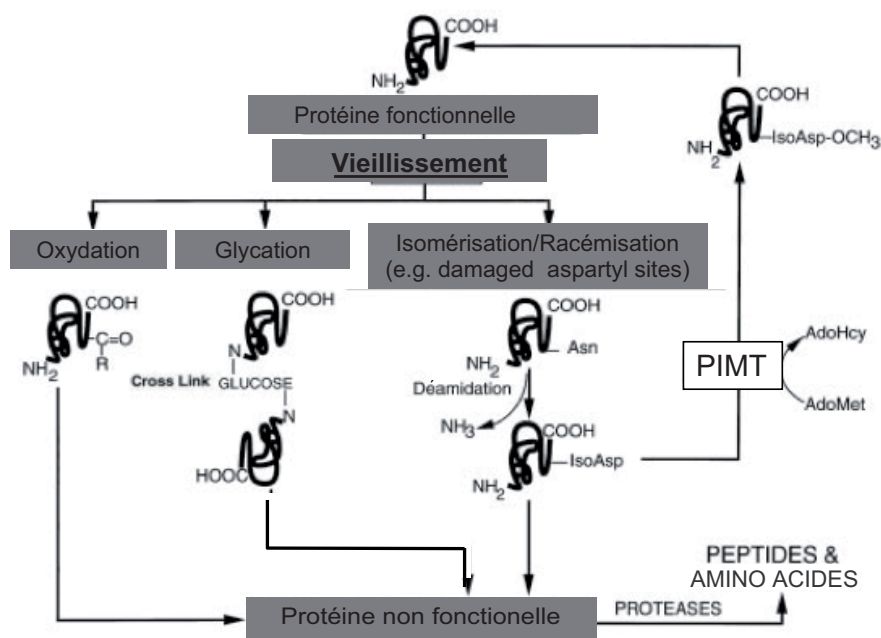


**Fig. 4.** (A) Profil des protéines séparées par électrophorèse 2D et colorées au nitrate d'argent dans la graine sèche. L'accumulation induite au cours du stockage est visualisée pour les exemples d'une  $\beta$ -glucosidase (65 KDa) et des précurseurs de cruciférines (52.28 KDa); d'après Chibani *et al.* (2006). (B) Coupe d'une graine sèche d'Arabidopsis en microscopie optique et vue en microscopie électronique à transmission d'une cellule cotylédonaire de l'embryon illustrant le volume important occupé par les corps lipidiques (35% du poids frais); d'après Boisson *et al.* (2001).

transcriptome de la graine met en évidence qu'un traitement de stockage exerce un contrôle marqué de l'accumulation d'ARN codant pour des gènes impliqués dans la synthèse et le devenir des protéines, et dans les mécanismes de protection contre le stress (Bove *et al.*, 2005; Cadman *et al.*, 2006).

Ces analyses soulignent l'importance du métabolisme des protéines dans les changements physiologiques induits par la graine au cours de sa conservation. L'analyse protéomique par électrophorèse 2D a permis de caractériser les variations de profils d'accumulation des protéines de la graine sèche d'Arabidopsis au cours du temps (Figure 4A, Chibani *et al.*, 2006). Ces résultats révèlent une accumulation d'un grand nombre de

protéines dans la fraction soluble du protéome. Cette observation est surprenante car les graines matures sèches d'Arabidopsis présentent une teneur en eau de 8 % qui rend difficilement concevable l'existence d'une activité biochimique. Cependant la présence de corps lipidiques très volumineux dans les cellules des embryons d'Arabidopsis (Figure 4B) suggère que la répartition n'est pas homogène et que la concentration de l'eau dans des zones particulières de la graine pourrait permettre des activités enzymatiques. Des activités de synthèse et d'accumulation d'ARN dans les graines sèches de Nicotianées avaient également été décrites par Leubner (2005) et Bove *et al.* (2005). Par ailleurs une représentation des cinétiques d'accumulation des protéines au cours



**Fig. 5.** Représentation schématique des modifications non enzymatiques qui affectent les protéines au cours du vieillissement. L'oxydation (la carbonylation) et la N-glycation sont irréversibles alors que l'isomérisation / la déamination des résidus aspartates (Asp) / asparagines (Asn) est réversible. Ces modifications peuvent entraîner la protéolyse des protéines, ou dans le cas de la formation d'isoaspartates (isoAsp), la conformation des protéines peut être alternativement restaurée par l'enzyme de réparation, la Protéine L-isoAspartyl méthyltransférase (PIMT) en présence du donneur de méthyle la S-adenosyl-L-Méthionine (AdoMet). D'après Kumar *et al.* (1999).

d'un an de stockage avec des outils statistiques de classification hiérarchique permet de mettre en évidence une accumulation séquentielle de groupes de protéines qui semble coordonnée temporellement. Notamment une représentativité accrue de protéines de stress parmi les protéines accumulées dans les phases tardives du stockage est concomitante avec les premiers signes physiologiques du vieillissement de la graine. Parmi ces variations de profils il est possible d'observer de nombreuses modifications post-traductionnelles, telles que la conversion des formes précurseurs de cruciférines en leur sous-unité mature. Clairement les variations de profils protéiques dans le contexte d'anhydrobiose de la graine sèche suggèrent l'existence d'un métabolisme des protéines. L'idée que ce métabolisme doit contribuer aux changements physiologiques de la graine pendant son stockage constitue une hypothèse de travail.

### La gestion des dommages protéiques et le contrôle de la vigueur des graines

Actuellement des approches de protéomique et de génétique moléculaire sont engagées pour décrire l'importance des modifications post-traductionnelles dans

la « qualité » de la graine. Parmi les modifications post-traductionnelles possibles dans la graine, figurent des altérations chimiques des protéines liées à l'oxydation telles que la carbonylation. L'analyse protéomique de l'évolution des profils de protéines carbonylées au cours du vieillissement (Job *et al.*, 2005 ; Rajjou *et al.*, 2007) montre une augmentation du niveau de carbonylation sur des groupes de protéines spécifiques qui est corrélée à la perte de vigueur germinative. Ce type de modification des protéines est irréversible et constitue une première étape vers l'élimination de la protéine selon un mécanisme de protéolyse (Figure 5). Néanmoins le contrôle de la dégradation des protéines oxydées dans la graine et l'importance de la protéolyse dans la survie des semences reste encore à explorer.

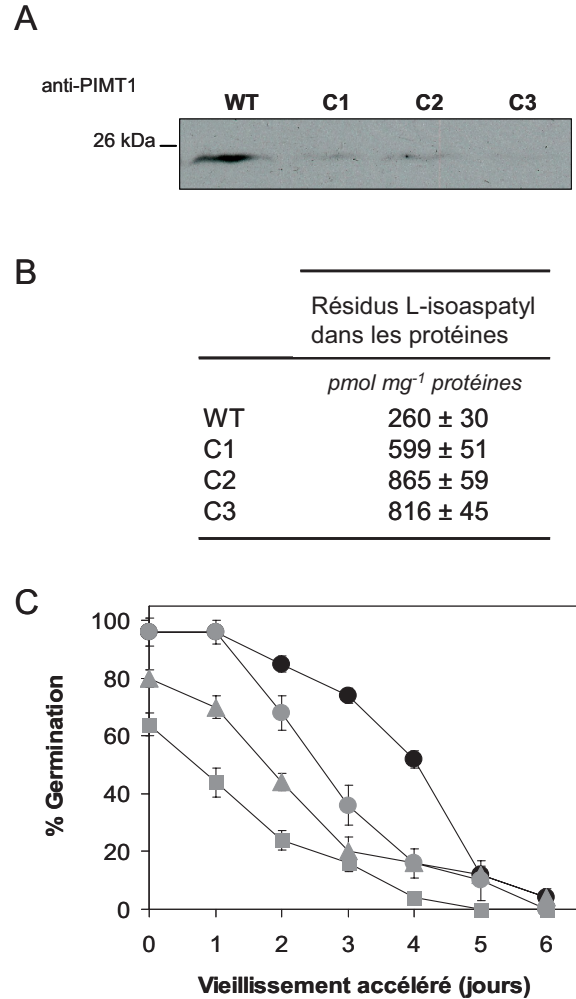
D'autres types de modifications chimiques des protéines liées au vieillissement peuvent être réversibles par une activité enzymatique de réparation. C'est le cas en particulier de la formation d'isoaspartates (isoAsp) qui s'accumulent dans les protéines dans des conditions de stress oxydatif et qui affectent dramatiquement la conformation et la fonctionnalité des protéines (Clarke, 2003). Ces résidus anormaux proviennent de la dégradation de résidus aspartates (Asp) ou asparagines (Asn) et leur reconversion en résidus Asp par l'activité enzymatique de

la protéine L-isoAspartyl méthyltransférase (PIMT) permet de restaurer la conformation des protéines (Figure 5). Le rôle de cette enzyme dans les mécanismes de protection contre le vieillissement est bien documenté pour les systèmes animaux (pour revue Clarke, 2003). Cependant ce n'est que récemment que des évidences génétiques de sa fonction chez les plantes ont été décrites. L'enzyme PIMT, dont le transcrit a été trouvé induit parmi le transcriptome de la jeune graine (Bove *et al.*, 2005), est codée par les deux gènes *PIMT1* et *PIMT2* dans le génome d'Arabidopsis (Xu *et al.*, 2004). Une approche de génétique inverse exploitant les collections de mutants d'insertion et des lignées transgéniques dans lesquelles l'activité des gènes *PIMT1* ou *PIMT2* a été réprimée ou induite a permis de montrer que l'activité de ces gènes contribue à la survie des semences au cours du stockage. Le phénotype de longévité est étroitement corrélé à une faible accumulation de résidus isoAsp dans le protéome de la graine (Figure 6). La découverte que la réparation des protéines joue un rôle majeur dans l'aptitude à la conservation des semences (Ogé *et al.*, soumis) permet de proposer des marqueurs moléculaires pour gérer la qualité et la conservation des semences (Grappin *et al.*, 2005 WO/2005/054499).

Le rôle de la PIMT dans la protection contre le vieillissement est illustré aussi bien chez les mammifères, les bactéries que chez les plantes. Les mécanismes limitant les dommages causés aux protéines semblent donc universels aux êtres vivants. Cependant le mode d'action et le contrôle de l'activité de cette enzyme de réparation dans la graine reste à explorer. En particulier les cibles protéiques dont la réparation conditionne la vigueur germinative restent à caractériser à l'aide de l'analyse protéomique. De plus nous ne savons pas très bien si l'aptitude singulière de la graine à conserver sa vigueur germinative au cours du temps est conditionnée par une activité de réparation des dégâts pendant la phase de dessiccation sur la plante mère, pendant le vieillissement de la graine stockée dans le sol, ou pendant l'imbibition de la graine en germination.

### Conclusion

Au XVIII<sup>ième</sup> siècle Xavier Bichat énonçait que la mort a une utilité biologique, celle d'assurer le renouvellement de l'espèce. Cette théorie est illustrée chez les végétaux supérieurs par la sénescence qui permet de remobiliser les ressources pour la production de graines. Cependant ce mécanisme de mort programmée diffère d'une situation liée au vieillissement. Pour l'essentiel, seules les graines stockées dans le sol matérialisent une phase du cycle de vie de la plante



**Fig. 6.** Analyse biochimique et physiologique de trois lignées transgéniques C1, C2 et C3 sous-exprimant PIMT1. L'analyse en *western blot* (A) avec un anticorps spécifique de PIMT1 met en évidence une diminution du taux de protéines PIMT1 dans les graines des lignées transgéniques comparé à une lignée témoin (WT). Les lignées transgéniques C1, C2 et C3 présentent une quantité beaucoup plus élevée de résidus isosapartates (isoAsp) dans le protéome de la graine (B) et comme le montre leur courbe de survie (C), C1, C2 et C3 (symboles grisées) sont beaucoup plus sensibles que leur témoin (symboles noires) à un traitement de vieillissement accéléré (75 RH, 40 °C). D'après Ogé *et al.*, soumis.

soumise au vieillissement. Le fait que le succès germinatif de la semence soit déterminant pour l'efficacité de reproduction, les mécanismes qui contrôlent sa survie résultent d'un compromis évolutif entre reproduction et la longévité. Ce contexte fait de la semence un excellent modèle pour étudier les mécanismes de protection contre le vieillissement. Les avancées dans le domaine de la génomique fonctionnelle et de la

génétique inverse vont permettre de documenter les stratégies de longévité de la graine. Les récentes études ont souligné l'importance du métabolisme de maintenance des protéines et en particulier des mécanismes de réparation pour la survie de la graine. Néanmoins le lien entre le stress oxydatif et le contrôle de l'accumulation des dommages protéiques par la PIMT n'est pas encore établi d'un point de vue biochimique et moléculaire. D'une part la contribution des mécanismes de protéolyse reste à caractériser, et l'influence des ERO sur l'activité de la PIMT ou en tant que molécule signal (Bailly, 2004) reste à aborder. L'étude des modifications réversibles des protéines dans la graine en développement et au cours du vieillissement offre de nouveaux horizons pour la compréhension des mécanismes contrôlant la survie des graines. Dans le sol, la graine va rencontrer des situations d'hydratation transitoires et des fluctuations de l'environnement qui sont mal connues. L'apport de la physiologie sera déterminant pour identifier les paramètres du milieu qui stimulent le métabolisme de maintenance et conduisent à des records de longévité tels que ceux des semences multicentennaires.

## Références

- Bailly C., Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Sci. Res.*, 2004, 14, 93–107.
- Bailly C., Benamar A., Corbineau F. & Côme D., Free radical scavenging as affected by accelerated ageing and subsequent priming in sunflower seeds. *Physiologia Plantarum*, 1998, 104, 646–652.
- Boisson M., Gomord V., Audran C., Berger N., Dubreucq B., Granier F., Lerouge P., Faye L., Caboche M. & Lepiniec L., Arabidopsis glucosidase I mutants reveal a critical role of N-glycan trimming in seed development. *EMBO J.*, 2001, 20, 1010–1019.
- Bove J., Jullien M. & Grappin P., Functional genomics in the study of seed germination. *Genome Biology*, 2001, 3, 1002–1005.
- Bove J., Lucas P., Godin B., Ogé L., Jullien M. & Grappin P., Gene expression analysis by cDNA-AFLP highlights a set of new signaling networks and translational control during seed dormancy breaking in *Nicotiana glauca*. *Plant Mol. Biol.*, 2005, 57, 593–612.
- Buitink J., Leprince O., Hemminga M.A. & Hoekstra F.A., Molecular mobility in the cytoplasm : an approach to describe and predict lifespan of dry germplasm. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 2385–2390.
- Cadman C.S.C., Toorop P.E., Hilhorst H.W.M. & Finch-Savage W.E., Gene expression profiles of Arabidopsis Cvi seeds during dormancy cycling indicate a common underlying dormancy control mechanism. *Plant J.*, 2006, 46, 805–822.
- 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.
- Clarke S.G., Aging as war between chemical and biochemical processes : Protein methylation and the recognition of age-damaged proteins for repair. *Ageing Res. Rev.*, 2003, 2, 263–285.
- Clerkx E.J., El-Lithy M.E., Vierling E., Ruys G.J., Blankestijn-De Vries H., Groot S.P., Vreugdenhil D. & Koornneef M., Analysis of natural allelic variation of Arabidopsis seed germination and seed longevity traits between the accessions Landsberg *erecta* and Shakdara, using a new recombinant inbred line population. *Plant Physiol.*, 2004, 135, 432–443.
- Confort A., The biology of ageing. *Lancet.*, 1956, 19271, 772–778.
- Davies M.J., The oxidative environment and protein damage. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005, 1703, 93–109.
- Ellis R.H. & Roberts E.H., Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 1980, 45, 13–30.
- Finch-Savage W.E., Cadman C.S.C., Toorop P.E., Lynn J.R. & Hilhorst H.W.M., Seed dormancy release in Arabidopsis Cvi by dry after-ripening, low temperature, nitrate and light shows common quantitative patterns of gene expression directed by environmentally specific sensing. *Plant J.*, 2007, 51, 60–78.
- Grappin P., Ogé L. & Bove J., Use of L-isoaspartyl methyltransferase as longevity marker in seeds. International patent: WO/2005/054499.
- Harman D., Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 1956, 11, 298–300.
- Holdsworth M.J., Finch-Savage W., Grappin P. & Job D., Post-genomics dissection of seed dormancy and germination. *Trends in Plant Sci.*, 2008, 13, 7–13.
- 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.
- Kirkwood T.B.L. & Holliday R., The evolution of ageing and longevity. *Proc. Soc. Lond. B.*, 1979, 205, 531–546.
- Kumar G.N.M., Robert L.H. & Knowles N.R., Age-induced protein modifications and decreased proteolysis in potato seed-tubers. *Plant Physiol.*, 1999, 119, 8999–99.
- Leopold A.C., Sun W.Q., & Bernal-Lugo I., The glassy state in seeds. *Seed Sci. Res.*, 1994, 4, 267–274.
- Leubner-Metzger G.,  $\beta$ -1,3-Glucanase gene expression in low-hydrated seeds as a mechanism for dormancy release during tobacco after-ripening. *Plant J.*, 2005, 41, 133–145.
- Leubner-Metzger G. & Finch-Savage W.E., Seed dormancy and the control of germination. *Tansley review, New Phytologist*, 2006, 171, 501–523.
- McDonald M.B., Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. *Seed Sci. Technol.*, 1999, 27, 177–237.
- Ogé L., Bourdais G., Bove J., Collet B., Godin B., Granier F., Boutin J.P., Job D., Jullien M. & Grappin P., Arabidopsis protein repair L-isoaspartyl methyltransferase1 is involved both in seed survival during storage and in germination vigor. 2008 Submitted

- Pearl R. & Miner J.R., Experimental studies on the duration of life. XIV. The comparative mortality of certain lower organisms. *Q. Rev. Biol.*, 1935, 10, 60–79
- Priestley D.A., Seed aging. Implications for seed storage and persistence in soil. (Ithaca, NY : Cornell University Press). 1986.
- Rajjou L., Lovigny Y., Job C., Belghazi M., Groot S.P.C. & Job D., Seed quality and germination. *In* Seeds: Biology, development and ecology, Navie S, Adkins S, Ashmore S, eds, CAB International, 2007, 324–332
- Sattler S.E., Gilliland L.U., Magallanes-Lundback M., Pollard M. & DellaPenna D., Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. *Plant Cell*, 2004, 16, 1419–1432.
- Shen-Miller J., Mudgett M.B., Schopf J.W. Clarke S. & Berger R., Exceptional seed longevity and robust growth: Ancient sacred lotus from China. *Am. J. Bot.*, 1995, 82, 1367–1380.
- Sohal R.S., Mockett R.J. & Orr W.C., Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, 33, 575–586.
- Somerville C. & Koornneef M., A fortunate choice: the history of Arabidopsis as a model plant. *Nat. Rev. Genet.*, 2002, 3, 883–889.
- Xu Q., Belcastro M.P., Villa S.T., Dinkins R.D., Clarke S.G. & Downie A.B., A second protein L-isoaspartyl methyltransferase gene in Arabidopsis produces two transcripts whose products are sequestered in the nucleus. *Plant Physiol.*, 2004, 136, 2652–2664.