HAL
open science

Biologie intégrative du développement de la graine chez M. truncatula

Karine Gallardo, Christine Le Signor, Vanessa Vernoud, Isabelle d'Erfurth, Mélanie Noguero, Germain Poignavent, Helene Zuber, Julia Buitink, Christophe Salon, Judith Burstin, et al.

To cite this version:

Karine Gallardo, Christine Le Signor, Vanessa Vernoud, Isabelle d'Erfurth, Mélanie Noguero, et al.. Biologie intégrative du développement de la graine chez M. truncatula. 4. colloque national du Réseau Français de Biologie des Graines, Oct 2013, Dijon, France. pp.1. hal-01005077

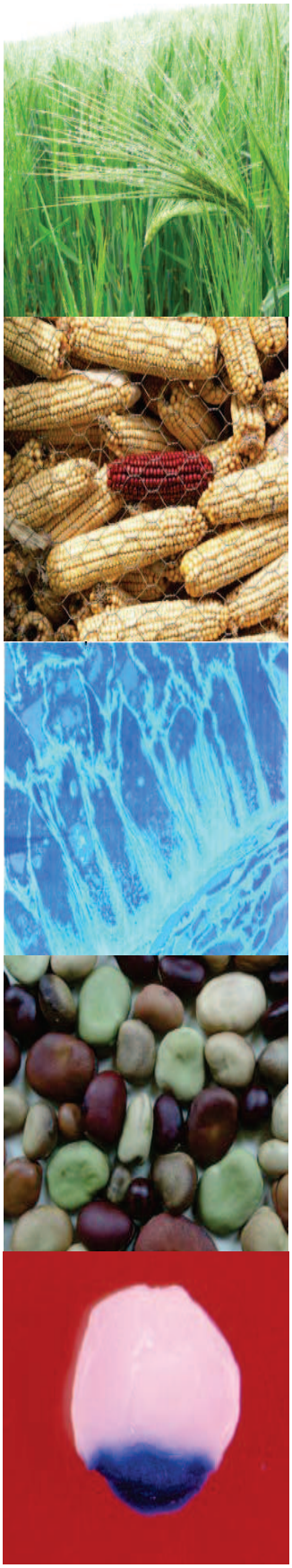
HAL Id: hal-01005077

https://hal.science/hal-01005077v1

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Graines 2013

30 & 31 octobre 2013
Dijon

4ème colloque national du Réseau Français de Biologie des Graines

Programme et résumés

Organisé par

l'Unité Mixte de Recherche Agroécologie (UMR 1347)

Centre INRA Dijon

Graines 2013

30 & 31 octobre 2013

INRA – DIJON

Locaux du CSGA

Réseau Français de Biologie des Graines

Organisé par
l'Unité Mixte de Recherche Agroécologie
(UMR 1347)
Centre INRA Dijon

Comité Scientifique du RFBG		
Grégoire BERTHE	Biopôle Clermont-Limagne Saint-Beauzire	gregoire.berthe@cereales-vallee.org
Hayat BOUTEAU	UMR UPMC-CNRS PCMP Paris	hayat.bouteau@upmc.fr
Carole BESBOIS-VIMONT	Clause Semences Techno-recherche Porte les Valence	carole.desbois-vimont@hmclause.com
Dominique JOB	CNRS/ Univ.Lyon 1/INSA/Bayer Cropscience Lyon	job.dominique@gmail.com
Colette LARRE	UB INRA BIA Nantes	colette.larre@nantes.inra.fr
Olivier LEPRINCE	Agrocampus Ouest-INRA-Université Angers	olivier.leprince@agrocampus-ouest.fr
Annie MARION-POLL	UMR INRA- AgroParisTech IJPB Versailles	Annie.marion-poll@versailles.inra.fr
Pierre MARTRE	UMR INRA-UBP GDEC Clermont-Ferrand	pierre.martre@clermont.inra.fr
Richard THOMPSON	UMR INRA Dijon	thompson@dijon.inra.fr

Le comité d'organisation remercie :

- Les départements INRA « Biologie et Amélioration des Plantes » et « Environnement et Agronomie »
- Les partenaires suivants pour leur soutien :

GRAINES 2013

30 & 31 OCTOBRE 2013, DIJON (21).

PROGRAMME

Mercredi 30 octobre 2013 (matin)

Horaires	Présentations	Intervenants
A partir de 8h30	Accueil des participants	
09h25-09h35	Ouverture	**Richard Thompson** INRA, Dijon
09h35-10h00	**Conférence Introductive :** Les enjeux de la filière « semence ».	**Pierre Ferraton** Vilmorin, La Ménitré
Session 1 : Développement des graines et mise en place des réserves *Modérateur :* **Michel Caboche**, IJPB, Versailles		
10h00-10h30	**Conférencière invitée :** Biologie intégrative du développement de la graine chez M.truncatula.	**Karine Gallardo** INRA, Dijon
10h30-10h45	Analyse du protéome nucléaire de graines de blé tendre en développement.	**Titouan Bonnot** INRA, Clermont-Ferrand
10h45-11h00	Rôle des parois cellulaires dans le développement du grain de blé.	**Anne-Laure Chateigner-Boutin** INRA, Nantes
11h00-11h15	Pause	
11h15-11h45	**Conférencier invité :** Régulation de la biosynthèse et de la partition des composés de réserve dans la graine d'Arabidopsis.	**Sébastien Baud** INRA, Versailles
11h45-12h00	Rôles de l'expression génique plastidiale et de la photosynthèse embryonnaire au cours du développement de la graine.	**Florence Courtois** Université Joseph Fourier, Grenoble
12h00-12h15	Chémotypage de l'albumen de maïs : relation avec la construction de la vitrosité du grain.	**Mathieu Gayral** INRA, Nantes
12h15-13h45	Déjeuner buffet + posters	

Mercredi 30 octobre 2013 (après-midi)

Horaires	Présentations	Intervenants
Session 2 : Germination, dormance et longévité *Modérateur :* **Dominique Job,** CNRS, Lyon		
13h45-14h15	**Conférencier invité :** De la signalisation oxydative au métabolisme des ARN : vers l'identification de nouvelles voies de régulation de la germination.	**Christophe Bailly** UPMC, Paris
14h15-14h30	Fonctionnement mitochondrial et métabolisme énergétique aux frontières de la dessiccation.	**David Macherel** INRA, Angers
14h30-14h45	Rôle des modifications post-traductionnelles dans la germination et la dormance des semences.	**Patrice Meimoun** UPMC, Paris
14h45-15h00	Implication des méthionines sulfoxyde réductases dans la longévité des graines.	**Françoise Montrichard** INRA, Angers
15h00-15h15	Modélisation d'un réseau génique stable de co-expression du développement de graines de Medicago truncatula pour prédire les gènes modulant la longévité.	**Karima Righetti** INRA, Angers
15h15-15h30	Rôle clé des Xyloglucanes dans la réorganisation des parois au cours de la dormance et de la germination chez Arabidopsis.	**Julien Sechet** INRA, Versailles
15h30-15h45	Pause	
Session 3 : Contraintes biotiques sur la production et la qualité des graines *Modérateur :* **Jean-Albert Fougereux,** FNAMS, Brain sur l'Authion		
15h45-16h15	**Conférencière invitée :** La transmission des agents phytopathogènes par les semences : voies et mécanismes.	**Marie-Agnès Jacques** INRA, Angers
16h15-16h30	Etude de la transmission du champignon Alternaria brassicicola à la semence d'Arabidopsis thaliana.	**Guillaume Nguyen** Université Angers
16h30-16h45	Balance entre développement et réactions de défense induites lors de la transmission de Xanthomonas spp. aux semences de Medicago truncatula au cours de la maturation.	**Emmanuel Terrasson** Université Angers
16h45-17h00	Pause	
17h00-17h40	**Conférence introductive sur l'Epigénétique :** Epigénétique transgénérationnelle : une nouvelle dimension de la génétique.	**Vincent Colot** ENS, Paris
17h40-19h00	**Session Posters /** **Visite plate-forme de Phénotypage à Haut-Débit (PPHD)**	
20h30	Dîner au restaurant La Cloche	

Jeudi 31 octobre 2013

Horaires	Présentations	Intervenants
08h30	Ouverture J2	**Richard Thompson** INRA, Dijon
Session 4 : Biodiversité et adaptation au changement climatique et aux nouvelles pratiques agricoles *Modérateur :* **Pierre Martre**, INRA, Clermont-Ferrand		
08h30-09h00	**Conférencier invité :** Adaptation des traits des graines dans les environnements nouveaux.	**Pierre-Olivier Cheptou** CNRS, Montpellier
09h00-09h15	L'analyse transcriptomique comparative de 5 tissues met en lumière des régulateurs clé du développement du grain de blé et leur réponse à l'azote et au soufre.	**Jonathan Vincent** INRA, Clermont-Ferrand
09h15-09h30	Phénotypage de la structure interne de légumineuses par imagerie multispectrale et chimiométrie.	**Benoit Jaillais** INRA, Nantes
09h30-09h45	Analyse fonctionnelle d'un promoteur de gluténine de haut poids moléculaire (GluB1.1) chez le blé tendre en réponse à la disponibilité en azote et en soufre.	**Julie Boudet** INRA, Clermont-Ferrand
Session 5 : Les graines pour la nutrition et la santé *Modérateur :* **Colette Larre,** INRA, Nantes		
09h45-10h15	Conférencier invité : Les grains et graines pour la nutrition et la santé.	**Anthony Fardet** INRA, Clermont-Ferrand
10h15-10h30	Analyses Phytochimiques et Activités Antioxydantes de graines de 22 variétés de lin (Linum usitatissimum L).	**Cyrielle Corbin** Université Orléans
10h30-10h45	Pause	
10H45-11h00	Dureté de l'albumen du blé et puroindoline.	**Khalil Elmorjani** INRA, Nantes
11h00-11h15	A la recherche de l'allèle perdu du gène Nam-B1 chez le blé tendre pour améliorer la qualité nutritionnelle.	**Catherine Ravel** INRA, Clermont-Ferrand
11h15-11h45	Assemblée générale du Réseau français de biologie des graines.	
11h45-12h45	Session Posters	
12h45-14h00	Déjeuner	
Session 6 : Les usages non-alimentaires des graines *Modérateur :* **Carole Desbois-Vimont,** Clause Semences, Porte les Valences		
14h00-14h30	Conférencière invitée : Projet TECHFLAX : Valorisation non alimentaire des coproduits issus du fractionnement de la graine de lin.	**Hélène Ducatel** Centre de Valorisation des Glucides, Amiens
14h30-14h45	Comprendre et prédire le comportement à la rupture de l'albumen du grain de blé.	**Valérie Lullien-Pellerin** INRA, Montpellier
14h45-15h15	Conclusions et futures orientations/actions du réseau.	
15h15	Départ	

Conférences plénières

Biologie intégrative du développement de la graine chez M. truncatula.

Karine Gallardo, Christine Le Signor, Vanessa Vernoud, Isabelle D'Erfurth, Mélanie Noguero, Germain Poignavent, Hélène Zuber, Julia Buitink, Christophe Salon, Judith Burstin, Richard Thompson

INRA, UMR1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France (KG, CLS, VV, ID, MN, GP, HZ, CS, J Burstin, RT) ; INRA, UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, SFR 4207 QUASAV, 49045 Angers, France

La capacité des légumineuses à fixer l'azote atmosphérique et à accumuler de fortes teneurs en protéines dans la graine fait de cette plante une composante essentielle des services écosystémiques. Malheureusement, la plupart des légumineuses produisent des graines pauvres en acides aminés soufrés et ont des rendements instables, particulièrement sous contraintes biotiques et abiotiques (ex. stress hydrique, stress nutritionnel y compris soufré). L'amélioration génétique des légumineuses représente un enjeu majeur pour le développement plus large de cette culture. Cet enjeu nécessite de connaître les gènes contrôlant le développement de la graine sur la plante mère et d'étudier leur régulation sous contraintes environnementales. Nous présenterons ici les gènes que nous avons identifiés dans ce contexte en utilisant M. truncatula comme modèle. En couplant des approches QTL et PQL (Protein Quantity Loci), nous avons révélé les régions génomiques contrôlant le rendement, le poids et la composition protéique de la graine. L'intégration de ces données génétiques avec des données transcriptomiques (1) et protéomiques (2, 3) de la graine immature nous a permis de sélectionner des gènes candidats expressionnels sous-jacents aux QTL/PQL, dont certains codent des facteurs de transcription, des transporteurs de sulfate (4, 5) et des protéases susceptibles de contrôler le poids ou la composition protéique de la graine. Une démarche de génétique d'association est en cours pour préciser les régions génomiques impliquées et le lien entre les gènes candidats sélectionnés et les caractéristiques de la graine. L'implication de deux gènes, codant une subtilase (6) et un facteur de transcription DOF, dans le contrôle du poids de la graine a été validée en utilisant des mutants TILLING chez M. truncatula et/ou le pois. Enfin, nous présenterons l'impact d'une déficience en soufre sur la composition des graines et les réponses adaptatives révélées via l'intégration de données ciblées sur la graine avec des données écophysiologiques au niveau plante entière.

(1) Benedito et al. 2008. Plant J. 55: 504-13.
(2) Thompson et al. 2009. Plant Physiol. 151: 1023-9.
(3) Repetto et al. 2012. Front Plant Sci. 3: 289.
(4) Zuber et al. 2010 Plant Physiol. 154: 913-26.
(5) Zuber et al. 2010 BMC Plant Biol. 28; 10:78.
(6) D'Erfurth et al. 2012. New Phytol. 196: 738-51.

karine.gallardo@dijon.inra.fr

Régulation de la biosynthèse et de la partition des composés de réserve dans la graine d'Arabidopsis

Guillaume Barthole, Alexandra To, Nathalie Berger, Martine Miquel, Bertrand Dubreucq, Loïc Lepiniec, Sébastien Baud

Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Versailles, Saclay Plant Sciences, route de Saint-Cyr, 78000 Versailles, France

Si les voies de biosynthèse des composés de réserve (triacylglycérols, protéines de réserve) dans la graine d'Arabidopsis sont relativement bien connues, notre connaissance des processus de régulation du métabolisme associé à la maturation demeure parcellaire. Des données complémentaires (transcriptomiques, métabolomiques, caractérisation de mutants) ont montré l'importance des régulations transcriptionnelles pour le contrôle développemental de l'activation de la biosynthèse des composés de réserve dans la graine. Des activateurs maîtres du processus de maturation (LEC1, LEC2, FUS3…) déclenchent de manière coordonnée plusieurs programmes associés à la maturation, parmi lesquels la biosynthèse des triacylglycérols. Le contrôle qu'ils exercent sur cette voie de biosynthèse peut être direct, puisqu'ils activent sans aucun intermédiaire certains gènes impliqués dans l'assemblage ou le stockage des triacylglycérols. L'effet activateur qu'ils exercent sur la biosynthèse des acides gras servant à l'élaboration des triacylglycérols est quant à lui indirect : il est relayé par un activateur transcriptionnel secondaire, WRI1. Dans tous les cas, des données récentes ont permis de préciser les mécanismes moléculaires mis en œuvre au sein de ces différentes cascades d'activation transcriptionelle. En particulier, elles ont révélé la complexité des machineries transcriptionnelles impliquées.
Antagonistes à ces mécanismes d'activation, des répresseurs maîtres du processus de maturation (VAL1, ASIL,…) sont connus pour réprimer la synthèse des triacylglycérols et des protéines de réserve dans les tissus végétatifs. De manière intrigante, nous avons récemment identifié un nouveau répresseur transcriptionnel du programme de maturation qui est lui spécifiquement exprimé dans la graine en début de maturation. L'activation de ce facteur de type MYB est partiellement contrôlée par LEC2 et limite la production d'huile dans certains tissus de la graine par le biais d'une boucle de rétrocontrôle négatif visant LEC2. Notre travail présent se concentre sur l'élucidation de ce mécanisme original.

sebastien.baud@versailles.inra.fr

De la signalisation oxydative au métabolisme des ARN: vers l'identification de nouvelles voies de régulation de la germination

Elodie Layat, Juliette Leymarie, Hayat Bouteau, Emmanuel Gendreau, Patrice Meimoun, Françoise Corbineau, Christophe Bailly

UR5 EAC7180 CNRS
UPMC
Bat C 2eme étage
4 place Jussieu
75005 Paris
France

Les espèces réactives de l'oxygène (reactive oxygen species, ROS) jouent un rôle clé dans la régulation de la germination et la dormance des semences. Elles s'accumulent de façon continue lors du stockage au sec des semences et sont impliquées dans leur post-maturation, un processus qui permet l'élimination de la dormance à faible teneur en eau. L'accumulation de ROS entraîne l'oxydation de protéines et d'ARNm spécifiques, ce qui oriente ultérieurement le fonctionnement cellulaire vers la germination. De plus, l'homéostasie des ROS semble également jouer un rôle lors de l'imbibition des semences. La réalisation de la germination est en effet associée à une stimulation de la production de ROS, qui n'a pas lieu si les semences sont dormantes. Nous montrons qu'il existe une dynamique spatio-temporelle de cette production lors de la germination et que les ROS interagissent avec les voies de production et de signalisation des hormones régulant la germination, comme l'acide abscissique, les gibbérellines et l'éthylène. Par ailleurs, l'oxydation de transcrits, qui inhibe leur traduction ultérieure et nécessite leur élimination, suggère l'existence d'une régulation post-transcriptionnelle de la germination. Nous montrons en effet que la germination repose sur une dégradation des ARNm résultant du métabolisme des mRNPs (messengers RiboNucleoProteins) et de l'exosome. Nos résultats démontrent également que le traductome, c'est à dire la fraction réellement traduite des ARNm, contrôle bien plus la germination que le transcriptome. Il existe en effet une dynamique d'association des ARNm aux polysomes qui n'existe que chez les semences non-dormantes et nous avons identifié au sein du transcriptome quels étaient les transcrits effectivement nécessaires à la germination. Nous proposons donc un modèle de régulation de la germination associant la formation et la propagation du signal ROS aux mécanismes de régulation post-trancriptionnels.

christophe.bailly@upmc.fr

La transmission des agents phytopathogènes par les semences : voies et mécanismes.

Marie-Agnès Jacques, Armelle Darrasse, Claire Campion, Philippe Simoneau, Matthieu Barret

INRA, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, Beaucouzé, France; Agrocampus Ouest, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, Beaucouzé, France;
Université d'Angers, UMR1345 Institut de Recherches en Horticulture et Semences, SFR4207 QUASAV, PRES L'UNAM, Beaucouzé, France

La transmission par la semence est une étape critique dans l'écologie de nombreux agents phytopathogènes et également dans l'épidémiologie des maladies qu'ils occasionnent. En effet, cette étape assure la survie et la dispersion des agents phytopathogènes. Toutefois, les mécanismes moléculaires impliqués dans la contamination de la graine puis dans l'infection de la plantule demeurent encore largement méconnus. Des approches de génétique fonctionnelle ont permis de mettre en évidence le rôle de plusieurs mécanismes bactériens (adhésion et agrégation en biofilm, sécrétion) et fongiques (résistance au stress hydrique) dans la contamination des semences. L'importance relative de ces mécanismes lors des différentes voies de contamination des graines (florale ou vasculaire) a été testée au sein de plusieurs pathosystèmes. Des études de transcriptomique visant à élargir notre connaissance des mécanismes mis en œuvre côté pathogènes et côté hôtes ont été engagées. Par ailleurs, l'étude de l'ensemble de la communauté microbienne associée aux semences a été initiée par métagénomique. L'objectif de ces travaux est de comprendre le fonctionnement du microbiote des semences pour en assurer, à terme, une gestion optimale.

marie-agnes.jacques@angers.inra.fr

Adaptation des traits des graines dans les environnements nouveaux

Pierre-Olivier Cheptou

CEFE, CNRS, 34000 – Montpellier, France

Les semences présentent des structures morphologiques variées (graines, fruits) qui conditionnent non seulement leur dispersion dans l'espace, mais également leur capacité à persister dans le sol (dormance) ou encore la capacité compétitive des plantes. Chez les espèces sauvages, ces traits sont soumis à la sélection naturelle imposée par la structure des habitats (hétérogénéité du milieu, disponibilité en ressources,….). Ainsi, les traits des graines sont susceptibles d'évoluer face aux changements récents : fragmentation des habitats, perturbation anthropique (agriculture, urbanisation,..). Afin d'étudier l'adaptation des traits des graines aux changements récents, nous avons étudié l'espèce annuelle héterocarpe (i.e. produisant deux types de fruits) Crepis sancta (Asteraceae) en comparant des populations urbaines fortement fragmentées à des populations rurales proches, non fragmentées. Dans cet exposé, je présenterai d'abord les données récentes démontrant une sélection divergente sur les traits des graines dans le système rural-urbain. Je présenterai ensuite des arguments théoriques et empiriques montrant le rôle crucial de la fragmentation et de la phénologie de germination sur le maintien de l'hétérocarpie et sa variation sur le gradient rural/urbain.

pierre-olivier.cheptou@cefe.cnrs.fr

Les grains et graines pour la nutrition et la santé

Anthony Fardet

INRA, UMR 1019, UNH, CRNH Auvergne, F-63000 CLERMONT-FERRAND & Clermont Université, Université d'Auvergne, Unité de Nutrition Humaine, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND, France

Les produits alimentaires de type grains et graines constituent la base de la pyramide alimentaire pour la majorité de la population mondiale. Les grains et graines incluent les grains de céréales (e.g. blé et maïs) et de pseudo-céréales (e.g. quinoa), les légumineuses (e.g. haricot), les graines oléagineuses et les fruits à coque (e.g. noix et graine de sésame). Contrairement aux légumes et fruits qui sont riches en fibres, vitamines, minéraux et autres composés bioactifs), ils ont la particularité d'être aussi riche en énergie. Cependant, ils contiennent aussi des facteurs anti-nutritionnels comme l'acide phytique. A l'inverse des graines oléagineuses et fruits à coque, les grains doit être processée avant consommation, notamment pour rendre l'amidon plus digestible et pour dégrader certains facteurs anti-nutritionnels qui peuvent limiter l'absorption des minéraux. Toutefois, la tendance a été bien souvent d'appliquer des traitements technologiques trop drastiques, notamment pour les céréales, réduisant leur densité nutritionnelle et donc leur valeur santé (e.g. raffinage excessif des farines). Aujourd'hui, on recherche donc à appliquer des traitements technologiques plus doux (minimal processing) afin de trouver un bon compromis entre améliorer leur digestibilité et conserver leurs composés protecteurs. D'un point de vue santé et nutrition préventive, contrairement aux céréales raffinées, la consommation de céréales complètes a été associée à un risque significativement plus faible de développer l'obésité, le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires et certains cancers digestifs. Quant aux légumineuses, leur consommation devrait être largement plus encouragée car ils ont l'avantage d'être à la fois bon marché et de posséder une haute valeur nutritionnelle (sucres lents, fibres, densité nutritionnelle et potentiel satiateur élevés). Concernant les graines oléagineuses et les fruits à coque, des résultats récents ont montré leur effet protecteur pour la santé, notamment vis-à-vis des maladies cardiovasculaires, lorsque consommés en quantité modérée en raison de leur densité énergétique élevée.

anthony.fardet@clermont.inra.fr

Projet TECHFLAX : Valorisation non alimentaire des coproduits issus du fractionnement de la graine de lin

Hélène DUCATEL

CVG – 80480 Dury, France

Le programme TECHFLAX (2010-2013) a pour objectif de développer des procédés destinés à valoriser, dans des usages techniques ciblés, la fraction triglycéride (huile de lin), la fraction acide gras et la fraction polysaccharide (mucilage) issues du fractionnement de la graine de lin. Le programme TECHFLAX dispose donc de deux axes de recherche parallèles qui à travailler sur le développement de produits, à usage technique, qui contribueront à assurer la valorisation des différentes fractions issues du procédé de bioraffinage (Vandeputte - Mouscron, Belgique).

1- Le premier axe de valorisation se focalisera sur le développement de biopolyols à partir des fractions triglycéride et acide gras

2- Le second axe sera dédié au développement de polysaccharides réticulés et d'oligosaccharides pour des applications cosmétiques, biomédicales et pharmaceutiques.

ducatel@cvgpn.com

Epigénétique transgénérationnelle : une nouvelle dimension de la génétique ?
Transgenerational Epigenetics: a new dimension in Genetics?

Vincent COLOT

Ecole Normale Supérieure, Institut de Biologie, CNRS UMR8197, Inserm U1024
75230 Paris cedex 05, France

Until recently, a key assumption in biology has been that mutations in the DNA sequence are the only source of heritable phenotypic diversification and therefore that adaptation is impossible in the absence of DNA sequence variants. However, this view is being increasingly challenged by the observation that changes in chromatin states, which are pivotal for the control of genome activity in eukaryotes, can occasionally become locked in and inherited across multiple sexual generations, independently of any change in the genome sequence. This system of inheritance, called epigenetic, is best documented in plants and often involves differential DNA methylation of repeat sequences, notably transposable elements (TEs). However, there is still a lack of systematic studies that experimentally examine the stability of epigenetic changes and test their consequences on genome function as well as their ecological or evolutionary relevance, which could be different from that of DNA sequence variants, notably by providing a more rapid and reversible route to adaptation. I will present our efforts at answering some of these questions using a population of near-isogenic, epigenetic Recombinant Inbred Lines (epiRILs) in Arabidospsis.

colot@biologie.ens.fr

Posters

New approach to quantify in situ storage protein bodies in M. truncatula immature seeds.

Mona Abirached-Darmency, Fabrice Dessaint

UMR 1347 Agroecologie INRA /AgroSup/ uB , (MD) pôle Geapsi, (FD) pôle Ecoldur
17 rue Sully BP 86510, F-21065 DIJON FRANCE

Grain legumes play a worldwide role as a source of plant proteins for feed and food. During seed mid-maturation (16-20 DAP), a semi-quantitative analysis of vicilin (globulin7S) accumulation was assessed in the model legume M.truncatula. The populations of vicilin-containing protein bodies are distinguished by their number and size which allowed proposing a model of their biogenesis. Two distributions were detected, enabling a separation of their processing at early and mid maturation stages. The largest protein bodies corresponding to mature vicilin aggregations which have probably reached their final size were shown to be formed by the fusion of the small bodies. This approach using a combined histology and statistical analysis may be useful to screen mutations of candidate genes governing storage protein content.

mona.darmency@dijon.inra.fr

Impact of endopolyploidy on seed coat development and cell expansion in Medicago truncatula

Mona Abirached-Darmency, Sergio Ochatt

UMR 1347 Agroécologie, Pôle GEAPSI INRA/AgroSup/uB
17 rue Sully BP 86510, F-21065 DIJON FRANCE

Growth of the seed coat is regulated by genetic interactions between maternal and filial tissues that ultimately establish seed size. However, endopolyploidy is one of the well-documented factors controlling organ size. During seed development, the arrest of cell division at 4 DAP in the expanding seed coat is compensated for by cell elongation. Thus, the ploidy status of seed coat nuclei was assessed in order to determine if there is any correlation of endopolyploidy with cell elongation. In 10 DAP seed sections, the DAPI-integrated fluorescence, which correlates to DNA quantity, was measured in the seed coat parenchyma nuclei using the diploid embryo nuclei as internal control. Significantly higher fluorescence values were obtained in seed coat nuclei, suggesting a higher DNA content. The high proportion of genes annotated as involved in nucleotide metabolism supports also the initiation of endocycles. At this stage, cell divisions were not detected in the seed coat, but cell elongation was initiated and may be correlated to the induction of endopolyploidy. This positive correlation between ploidy level and cell size in M. truncatula seed coat was validated using flow cytometry analysis at different stages of seed development (from 8 to 20 DAP). This study opens up a new perspective to control final seed size. Moreover, it raised new questions concerning the implication of endopolyploidy in cell expansion.

mona.darmency@dijon.inra.fr

Détermination de la localisation sous-cellulaire de la protéine TT15 impliquée dans le métabolisme des flavonoïdes chez Arabidopsis

Elodie Akary, Olivier Grandjean, Adeline Berger, Alexandra To, Lucille Pourcel, Nathalie Nesi, Bertrand Dubreucq, Loïc Lepiniec, Isabelle Debeaujon

Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318 INRA-AgroParisTech, INRA Centre de Versailles-Grignon, route de St-Cyr (RD10), 78026 Versailles Cedex, France (EA, OG, AB, AT, BD, LL, ID) - Université de Genève, Département de Botanique et Biologie Végétale, 30 Quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4, Suisse (LP) - UMR 1349 INRA-AgroCampus Ouest-Université Rennes 1 Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (IGEPP) Bât. 301, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex, France (NN)

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes lors du développement et en réponse à différents stress biotiques et abiotiques. Les graines de la plante modèle Arabidopsis accumulent des proanthocyanidines (PA) et des flavonols. L'étude de mutants dit transparent testa (tt) affectés dans la pigmentation des téguments de la graine a permis d'identifier et de caractériser de nombreux gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des flavonoïdes. Le mutant tt15 présente une coloration gris-brun de la graine, causée par la disruption du gène TT15 qui code une UDP-glucose:stérol glucosyltransférase. L'analyse de 6 allèles mutants tt15 a révélé que cette mutation entraîne notamment une réduction de la dormance primaire, une augmentation de la perméabilité des téguments, des défauts de développement embryonnaire ainsi qu'une altération de la couche endothéliale.
Afin d'étudier la fonction biologique de ce gène et son implication dans le métabolisme des flavonoïdes, la détermination de la localisation sous-cellulaire de la protéine TT15 a été entreprise par une approche d'expression d'une protéine fusion TT15::GFP. Après expression transitoire dans des protoplastes de cellules d'Arabidopsis et expression stable dans des plantes d'Arabidopsis, l'observation par microscopie confocale montre une localisation de la protéine au niveau de la membrane vacuolaire (tonoplaste). L'enzyme TT15 pourrait être impliquée dans le transport et la compartimentation des flavonoïdes en modifiant les propriétés physicochimiques des membranes par glucosylation des stérols.

isabelle.debeaujon@versailles.inra.fr

Caléosine et dynamique du corps lipidique de graines d'Arabidopsis thaliana

Isabelle Bouchez, Florence Celles Blaise, Carine Deruyffelaere, Alain Guillot, Thierry Chardot, Sabine D'Andréa

UMR 1318 INRA-AgroParisTech, route de St Cyr (RD 10), 78026, Versailles cedex, France (IB, FCB, CD, TC, Sd'A)
UMR MICALIS, PAPPSO, Domaine de Vilvert, 78352, Jouy-en-Josas cedex (AG)

Dans de nombreux organismes, les acides gras et les stérols sont stockés sous forme de lipides neutres dans les corps lipidiques (CL). Chez les plantes, ces organites sphériques sont composés d'une monocouche de phospholipides à laquelle sont associées des protéines de structure (oléosines, caléosines), des enzymes (stéroléosines), des protéines mineures (aquaporines) et des lipases (1). Au cours de la germination, les lipides de réserve sont rapidement mobilisés, les triglycérides (TG) étant hydrolysés par des lipases en acides gras libres, qui sont catabolisés en acétyl-CoA par beta-oxydation et rejoignent le cycle du glyoxylate dans les glyoxysomes. Ce processus aboutit à la production de glucides utilisables par l'embryon. L'interaction des CL avec le glyoxysome (2) mais également avec la vacuole (3) a été mise en évidence. Cette dernière association, à laquelle la caléosine AtClo1 participe, pourrait être un des mécanismes contribuant à la dégradation des TG de la plante. En effet, l'interaction vacuole-CL affecte l'intégrité de ce dernier tandis que les graines d'A. thaliana déficientes en caléosine AtClo1 présentent un retard dans la mobilisation des réserves lipidiques au cours de la germination (4). Nous avons cherché dans cette étude à identifier les partenaires de la caléosine AtClo1, associés aux CL et potentiellement mis en jeu conjointement au cours de ce processus. Pour cela, nous avons effectué des analyses en CPG-FID des acides gras extraits de graines d'A. thaliana, sauvages ou déficientes pour AtClo1 (4), à différents stades de germination. Nous avons confirmé le décalage dans la mobilisation des lipides de réserve entre les deux écotypes à certains stades. Nous avons alors purifié par gradient de densité les CL issus de ces graines et avons effectué une analyse protéomique par LC-MS/MS des protéines associées à ceux-ci, aux stades d'intérêt, afin d'identifier les protéines absentes du CL chez les mutants déficients en AtClo1.

(1) Purtkova Z. et al. 2008. Structure and function of seed lipid body-associated proteins. C. R. Biologies 331; 746-754.
(2) Hayashi Y et al. 2001. Direct interaction between glyoxysomes and lipid bodies in cotyledons of the Arabidopsis thaliana ped1 mutant. Protoplasma 218; 83-94.
(3) Huang A. H. C. 1996. Oleosins and oil bodies in seeds and other organs. Plant. Physiol. 110; 1055-1061.
(4) Poxleitner M. et al. 2006. A role for caleosin in degradation of oil-body storage lipid during seed germination. 47; 917-933.

isabelle.bouchez@versailles.inra.fr

L'usage de variétés de féveroles (Vicia faba L.) à faibles teneurs en vicine et convicine, réduit le risque du favisme chez l'homme hemizygote porteur d'une mutation de forte déficience en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD)

V. Gallo[1], E. Schwarzer[1], O. Skorokhod[1], L. F. Simula[2], P. Marget[3], G. Duc[3] and P. Arese[1]

[1]*Department of Oncology, University of Torino, 10126 Torino, Italy*
[2]*Ospedale Civile, Alghero, Italy*
[3]*INRA, UMR 1347 Agroécologie, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon cedex, France*

Low vicine and convicine content in faba bean seeds is under oligogenic control and can be easily monitored by breeding. Aim of the study was to show that new faba beans (FB) genotypes with low content of vicine and convicine (low V/C FB) produced by selection, are non-toxic and non-hemolytic even when ingested in large amounts by highly susceptible glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient individuals. Evidence indicates that V/C, amino-pyrimidine derivatives present in high amounts in normal FB, are the causative agents of favism, ie severe oxidative damage and hemolysis occurring in G6PD-deficient subjects after FB ingestion. In vitro, micromolar V/C elicits oxidative damage in G6PD-deficient RBCs with decreased glutathione (GSH, main oxidant scavenger); aggregation of membrane proteins; increased lipoperoxidation; loss of deformability, binding of opsonins, and massive removal by phagocytosis. The present study was performed in severely G6PD-deficient volunteers fed with low V/C FB analyzing oxidation-sensitive parameters modified by V/C and causally connected with hemolytic anemia. 500 g fresh de-hulled FB seeds/70 kg body weight (10-fold a normal meal) of low V/C FB were administered to 7 hemizygous G6PD-deficient (Mediterranean variant) subjects. At hourly intervals RBC and blood plasma were isolated and a number of parameters of frank hemolysis (RBC numbers, Hb concentration, hematocrit, haptoglobin) and more subtle indicators of oxidant damage were measured in RBC or plasma/serum until 10 h, and 24-48 h after FB ingestion. No change in any parameter of frank hemolysis or in any indicator of oxidative damage in isolated RBC was observed in G6PD-deficient subjects after consumption of low V/C FB.

Conclusions. In a sample of 7 hemizygous G6PD-deficient subjects with 1-3% residual enzyme activity, none of the parameters that accompany frank hemolysis or indicate more subtle oxidative RBC damages were modified in any of the deficient subjects either short-term (1-8 h) or up to 48 h after ingestion of large amounts of raw FB seeds with low V/C content. Those data are the first evidence indicating that low V/C FB can be administered in large amounts even to severely deficient G6PD subjects without any risk of oxidative RBC damage or frank hemolysis and this result is supporting breeding developments in the direction of low V/C cultivars.

Work funded by Saskatchewan Pulse Crop Development Board, Grant No. 0818 and No. 1007 to PA, and EU EUFABA Project "Faba bean breeding for sustinable agriculture", Grant No. QLRT-02307 to GD and PA. Production of fresh frozen seeds of contrasted V/C contents was managed by B. Raffiot, UNIP, Paris, France.

gerard.duc@dijon.inra.fr

Régulation de la dormance des graines d'Arabidopsis thaliana par l'éthylène en interaction avec les gibberéllines et l'acide abscissique

Zhazira Yesbergenova, Catherine Biniek, Christophe Bailly, Françoise Corbineau

Université Pierre et Marie Curie, Sorbonne Universités, UR5 UPMC-EAC7180 CNRS, 4 place Jussieu, 75005 Paris (ZY, CB, CB, FC)

La dormance des semences est principalement régulée par la balance gibbérellines (GAs)/acide abscissique (ABA), mais l'éthylène peut aussi jouer un rôle important dans cette régulation. L'objectif de ce travail a été de (i) déterminer l'influence de l'éthylène sur la germination des graines dormantes d'Arabidopsis thaliana et (ii) d'analyser les interactions entre l'éthylène, le froid, l'ABA et les GAs, grâce à l'utilisation de mutants affectés dans la voie de signalisation de l'éthylène (etr1, ein2, ain1, ein4 et erf1) et du catabolisme de l'ABA (Cyp 707A1). Au moment de leur récolte, les graines de tous les mutants étudiés ne germent pas à 25°C, mais germent rapidement à 15 °C, à l'exception de etr1, qui est plus dormant. Trois à 4 jours à 4-5°C permettent la germination ultérieure à 25°C de tous les mutants dont etr1, ain1, ein2 (insensibles à l'éthylène), ce qui suggère que le froid intervient indépendamment de la voie de signalisation de l'éthylène. L'éthylène (0.1 à 100 ppm) ou le GA3 (0.1 à 1 mM) élimine la dormance des graines, sauf dans le cas des mutants ain1 et etr1. L'interaction entre l'ABA et l'éthylène est mise en évidence par la plus forte sensibilité à l'ABA des graines d'etr1et de la réversion de l'action inhibitrice de l'ABA en présence d'éthylène. Par ailleurs, la réduction de la production de H2O2 en présence d'ABA est partiellement reversée en présence d'éthylène. La dormance plus importante des semences des mutants etr1 and ain1 et la faible réponse à l'éthylène du mutant Cyp 707A1 suggèrent une interaction ABA-éthylène au niveau du catabolisme de l'ABA. Le rôle joué par interrelation entre l'ABA, les GAs et l'éthylène dans la régulation de la dormance est discutée est relation avec la production des ROS.

francoise.corbineau@upmc.fr

Ubiquitination des oléosines et mobilisation des réserves lipidiques au cours de la germination chez A. thaliana

Carine Deruyffelaere, Alain Guillot [3], Martine Miquel1[2], Pascale Jolivet1[2], Thierry Chardot[1,2] and Sabine D'Andrea[1,2]

[1]*INRA, UMR 1318, Institut Jean-Pierre Bourgin, RD10, F-78026 Versailles, France*
[2]*AgroParisTech, UMR 1318, Institut Jean-Pierre Bourgin, RD10, F-78026 Versailles, France*
[3] *INRA, UMR MICALIS, PAPPSO, Domaine de Vilvert, F-78532 Jouy-en Josas, France*

Les graines oléagineuses stockent leurs lipides dans des organites appelés corps lipidiques (CL). Ces CL sont composés d'un cœur de lipides neutres entouré d'une monocouche phospholipidique contenant des protéines de structure appelées oléosines. Lors de la germination, la mobilisation des lipides de réserve s'accompagne d'une dégradation progressive des oléosines. Cette dégradation pourrait être une étape-clé de la dynamique des CL et conditionner la mobilisation des lipides lors de la germination. Souvent formulée, cette hypothèse n'est pas encore démontrée car les mécanismes de dégradation des oléosines demeurant peu connus. Récemment, l'ubiquitination des oléosines a été observée chez le sésame mais le type d'ubiquitination n'a pas été précisé (1). Or, différents motifs d'ubiquitination peuvent être ajoutés à une protéine et ainsi orienter son devenir vers différentes voies de dégradation. Il apparait donc important de décrire précisément les modifications portées par les oléosines pour mieux comprendre les mécanismes de leur dégradation.

Dans cette étude, nous avons montré que, chez A. thaliana, la dégradation des oléosines débute après l'émergence de la radicule, en même temps que la mobilisation des lipides. La quantification des oléosines par immunoblot a révélé que les oléosines ne sont pas dégradées à la même vitesse, l'oleosine majeure OLE1 perdurant plus longtemps. L'apparition de protéines ubiquitinées a été observée par protéomique et immunoblot. L'analyse de mutants déficients en oléosines a montré que les oléosines sont les cibles majeures de ces ubiquitinations. Deux motifs ont été identifiés sur les principales oléosines OLE1 et OLE2, une di-ubiquitine liée sur K48 ou sur K63. Ces 2 modifications sont exclusives et transitoires. Elles pourraient orienter les CL vers 2 voies de dégradation, une voie protéasomale et une voie vacuolaire. Le ralentissement de la dégradation des lipides observé en présence d'inhibiteurs de ces 2 voies vient renforcer cette hypothèse.

carine.deruyffelaere@versailles.inra.fr

Identification of proteins involved in cell wall assembly and remodeling by a proteomic approach on Brachypodium distachyon grain.

Mathilde Francin-Allami, Kahina Merah, Cécile Albenne, Richard Sibout, Marija Pavlovic, Virginie Lollier, Hélène Rogniaux, Fabienne Guillon, Elisabeth Jamet, Colette Larré

INRA, UR1268, BIA, 44316 Nantes, France (MFA, KM, MP, VL, HR, FG, CL)
LRSV, UPS/CNRS, 31326 Castanet-Tolosan, France (KM, CA, EJ)
INRA, UMR1318, IJPB, 78026 Versailles, France (RS)

A major part of the daily caloric intake of human societies around the world is derived from cereal grain. The major components in domesticated cereal grains are starch and proteins. Cell wall polysaccharides only account for about 3-8% of grain but have major effects on the use of grain. Cell walls are mainly composed of polysaccharides (pectins, cellulose and hemicelluloses) and smaller proportion of glycoproteins.
Except for cellulose, precursor oligosaccharides are synthesized in the Golgi apparatus, then transported to the cell wall where they are presumably assembled to larger polysaccharides. In addition, the polysaccharide remodeling occurs to meet the plant needs during its different stages of development. The actors required for these processes are poorly understood, especially in cereal plants. Glycosyl hydrolases (GH) may play a crucial role in the reorganization of cell wall polysaccharides.
To identify the enzymes involved in the assembly and remodeling mechanisms of cereal cell wall, we performed a proteomic analysis of grain cell wall from the cereal plant model Brachypodium distachyon. Grains were collected at three stages of development and subjected to cell wall fractionation. Then cell wall proteins (CWPs) were extracted by successive steps using CaCl2 and LiCl buffers, according to a protocol derived from [1]. Identification of proteins was performed using mass spectrometry (LC-MS/MS). The results revealed CWPs potentially involved in remodeling or re-arrangement of cell wall polysaccharides. These proteins will be compared with other sets of data obtained from other B. distachyon organs.

[1] Feiz et al. (2006) Plant Methods 27, 2-10.

Mathilde.Allami@nantes.inra.fr

La signalisation ROS durant la germination d'Arabidopsis thaliana

Emmanuel Gendreau, Christophe Bailly

Université Pierre et Marie Curie, Sorbonne Universités,
UR5 UPMC-CNRS EAC7180,
équipe Germination et Dormance des semences
Case courrier 156
Bât C - 2ème étage bureau 207B
4 place Jussieu, 75005 Paris,
France (EG,CB)

La germination est un processus complexe. Il implique de nombreux changements métaboliques et la modification de l'expression des gènes conduisant à l'élongation des cellules. Les formes réactives de l'oxygène (ROS) sont maintenant couramment perçues comme des régulateurs clés de ce processus, mais l'étude du signal qu'elles génèrent nécessite de nouveaux outils d'imagerie.

Par conséquent, nous avons développé une approche combinant la microscopie para-confocale avec un processus complexe d'analyse d'images afin de visualiser et de caractériser les niveaux de ROS dans les cellules et les tissus de graines d'Arabidopsis thaliana.

La germination, comme de nombreux processus biologiques, commence par une poussée de ROS qui déclenche une cascade d'événements de communication au sein des cellules conduisant à la formation d'un signal ROS. Nous avons montré que cette signalisation ROS est un processus dynamique se produisant entre les cellules tout au long de l'organe. Suite à nos premiers résultats, nous proposons que le concept de signalisation par les ROS dans les semences soit considéré comme un signal spatio-temporel se présentant sous la forme d'une onde se propageant pour former un signal germinatif.

emmanuel.gendreau@upmc.fr

Regulation of maize seed filling: the role of ZmZOU in embryo-endosperm communication

Aurélie Grimault, Ghislaine Gendrot, Jacques Rouster, Peter Rogowsky, Nathalie Depège-Fargeix

Laboratoire RDP, ENS de Lyon
46 allée d'Italie
F-69364 Lyon Cedex 07
(AG, GG, PR, NDF)
Functional and Applied Cereal Group (FAC)
Biogemma, 8, Rue des Frères Lumière, 63028 Clermont-Ferrand, Cedex 2, France
(JR)

In Arabidopsis the bHLH transcription factor AtZOU (ZHOUPI) has two functions in embryo-endosperm communication (Yang et al., 2008): It regulates endosperm breakdown close to the growing embryo, as well as the formation of a cuticle on the embryonic surface via the ALE1/GSO1GSO2 signaling pathway (Xing et al., 2013). In Arabidopsis seeds, the endosperm is a transitory structure, however mature atzou seeds have persistent endosperm. This absence of breakdown endosperm leads to a reduced embryo development. In contrast, the endosperm is prominent and persistent in maize seeds. The maize genome contains a single gene ZmZOU in the same phylogenetic clade as AtZOU. The deduced amino acid sequence of ZmZOU has an N-terminal extension of 300 amino acids, which is conserved to increasing extent in rice and sorghum. The overall sequence similarity of 54% between AtZOU and ZmZOU increases to 86% in the conserved bHLH domain. ZmZOU expression is limited to the endosperm where it peaks during the filling stage. The phenotype of ZmZOU-RNAi lines is characterised by adhesion between embryo and endosperm, persistence of the suspensor and cells with cytological characteristics of the embryo surrounding region at 20 days after pollination. The analysis of RNAseq data from wild-type and transgenic seeds is in process. The comparative analysis of the ZHOUPI transcription factor in maize and Arabidopsis provides a promising approach to understand the process of endosperm breakdown in the two species, which is conserved during early stages to make space for the growing embryo, but diverges in the final outcome in the mature seed.

nathalie.depege@ens-lyon.fr

Study of the Stabilization of Linseed Oil by Flax (Linum usitatissimum L.) Seedcoat Extract and Pure Natural (+)-Secoisolariciresinol

Cyrielle Corbin, Cédric Decourtil, Julie Lebas de Lacour, Sullivan Renouard, Esmatullah Barakzoy, Josiane Montguillon, Frédéric Lamblin, Joël Doussot, Eric Lainé, Christophe Hano

Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC), UPRES EA 1207, Equipe Lignanes des Linacées, Antenne Scientifique Universitaire de Chartres, Université d'Orléans, 21 rue de Loigny la Bataille, F-28000 Chartres, France (CC, CD, JLDC, SR, EB, JM, FL, JD, EL, CH)

Linseed (Linum usitatissimum L.) has been used for a very long time in human and animal nutrition. The oil extracted by cold pressure is very rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) and contains more than 50% of α-linolenic acid (ALA), which is an omega-3 and essential fatty acid (FA). Consumption of omega-3 FA is necessary for many physiological reasons and has been associated with a lower incidence of many types of illnesses among which inflammatory and cardiovascular diseases. So, currently, there is an increasing interest in linseed oil. Unfortunately, ALA turns also the oil extremely sensitive to oxidation.
Flaxseed is also the richest source of (+)-secoisolariciresinol (SECO), a lignan. Lignans constitute one of the major classes of phytoestrogens, and some of them are cancer chemopreventive estrogen-like chemicals and also act as antioxidants. This study aimed at assessing raw flax seedcoat extract as well as pure natural SECO extracted from seedcoat as antioxidants in refined linseed oil (RLO) or in emulsion of linseedoil with water (EOW). Their protective effect was assessed by monitoring the hydroperoxide and conjugated dienes formation during storage at 60 °C, according to the Schaal oven test procedure, as well as after oxidation induction through UV treatment. SECO was found to be more efficient than (±)-α-tocopherol (vitamin E) and butylated hydroxyanisole (BHA), a synthetic antioxidant, for the stabilization of both RLO and EOW. SECO was found to be more effective for the stabilization of RLO than for EOW, indicating better antioxidant efficiency in a more hydrophobic context. It exhibited also a better efficient in inhibiting UV-induced oxidation than for heat-induced oxidation, probably due to a higher stability of this compound under UV treatment as compared to prolonged treatment at elevated temperature.
To conclude this is the first report of the stabilization of linseed oil by SECO, one of its own seed components. Finally, it also brings some facts concerning the roles of lignans and SECO in planta which, up to now, remain unknown. The present study could also result in applications in cosmetic for the stabilization of emulsions which are the most common type of delivery system used in cosmetics.

christophe.hano@univ-orleans.fr

High throughput analysis of Arabidopsis seed lipid, carbon and nitrogen content by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy in four recombinant inbred lines.

Sophie Jasinski, Alain Lécureuil, Monique Durandet, Patrick Bernard-Moulin, Philippe Guerche

INRA, UMR1318, Institut Jean-Pierre Bourgin, RD10, F-78000 Versailles, France (SJ, AL, MD, PG)
AgroParisTech, Institut Jean-Pierre Bourgin, RD10, F-78000 Versailles, France ((SJ, AL, MD, PG)
ThermoFisher Scientific, 91963 Courtaboeuf Cedex, France (PBM)

Plant seeds constitute a key component of both human and livestock diets, as seed storage compounds are mainly composed of protein, oil and starch. The increasing demand of plant-derived products for nutritional and industrial applications highlights the urgent need to develop new methodologies to increase the overall seed oil and protein content. Although most of the biochemical steps involved in lipid and protein biosynthesis are known, the genetic factors that control the lipid/protein ratio in the seeds have to be identified. In order to do so, a QTL approach to study lipid and protein metabolisms in Arabidopsis seed has been implemented. Quantitative genetic relies on statistical links between phenotype and genotype, meaning genotyping and phenotyping of thousands samples. In Arabidopsis, genotyping is not a limiting factor, whereas high-throughput phenotyping can be an obstacle. Thus, the potential of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for the simultaneous analysis of total lipid, carbon and nitrogen content of Arabidopsis seeds was studied. A calibration set of 200 seed samples was subjected to NIRS, Soxhlet and elementary analysis and calibration equations for seed (1) lipid, (2) nitrogen and (3) carbon content were developed. Our results demonstrated that NIRS is a powerful non-destructive, high-throughput method to assess lipid, carbon and nitrogen content in Arabidopsis seed. NIRS was further used in quantitative trait loci (QTL) analyses in order to identify genetic factors governing natural variability in these three traits in Arabidopsis thaliana, using four recombinant inbred line populations (Ct-1 x Col-0, Cvi-0 x Col-0, Bur-0 x Col-0, Bay-0 x Shahdara). QTLs were detected for the three traits in the four populations, some co-localise with QTLs identified previously, but many novel QTLs were also identified. In a given population, all the QTLs detected for the three traits were co-localised, whereas few QTLs were co-localised between the four populations.

sophie.jasinski@versailles.inra.fr

Stabilité et composition des corps lipidiques affectent rendement d'extraction en huile et vitesse de germination

Céline Boulard, Thierry Chardot, Pascale Jolivet

INRA, UMR1318, Institut Jean-Pierre Bourgin, RD10, F-78000 Versailles, France

Dans les graines oléagineuses, les lipides sont stockés sous forme de corps lipidiques (CLs), constitués d'un cœur de lipides neutres entouré d'une mono couche de phospholipides dans laquelle s'insèrent des protéines assurant la stabilité de l'ensemble. Notre objectif consiste à mettre en lien structure des CLs et rendement d'extraction en huile. Pour cela, nous avons à notre disposition des graines matures ou en développement provenant de 2 accessions de colza qui diffèrent dans leur potentialité de pressage (1) : 22% de rendement en huile pour Amber (A) et 55% pour Warzanwski (W). Un test de germination sur 48 h confirme un comportement différent de A et W, avec un retard de 10 h pour A. Les suspensions de CLs purifiés à partir de ces graines ont été caractérisées : diamètre hydrodynamique, stabilité des émulsions, composition en lipides, en protéines, et en oléosines, protéines structurales majeures des CLs dont les isoformes sont distinguées en fonction de leur masse moléculaire (H et L pour high et low). Les CLs de A présentent un diamètre hydrodynamique plus faible et une stabilité plus élevée que ceux de W. Ils contiennent davantage d'oléosines H. Les CLs de A et W diffèrent dans leur composition en acides gras (teneur en acide érucique) et en lipides totaux (teneur en esters de stérols). L'observation des embryons au cours de leur développement par microscopies confocale et électronique montre que les différences de taille de CLs entre A et W sont peu marquées mais la mise en place des oléosines est systématiquement plus précoce chez Warzanwski. Nos résultats montrent que la structure des CLs influe sur leur stabilité et qu'elle joue sur les graines en terme de pressabilité et de germination.

(1) Jolivet et al. 2013 Industrial Crops and Products 44, 549-557.

Pascale.Jolivet@versailles.inra.fr

Variabilité de l'allergénicité de la fraction soluble du grain au sein d'une collection de blés tendre et dur

Roberta Lupi, Stefania Masci, Florence Pineau, Sandra Denery, Colette Larré

INRA UR1268 BIA, Rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes, France (RL, FP, SD, CL)
Università degli Studi della Tuscia, Department of Agriculture, Forests, Nature and Energy, Via S. Camillo de Lellis s.n.c. 01100, Viterbo, Italy (RL, SM)

La sélection des céréales au cours des cent dernières années a entraîné des améliorations spectaculaires au niveau agronomique. Plus récemment, des blés génétiquement modifiés par transgénèse ont été développés. Selon le Codex Alimentarius, l'allergénicité de ces plantes GM doit être évaluée en particulier par comparaison avec leur parents. L'allergénicité des variétés cultivées est très rarement documentée car de par leur génèse, celles-ci sont considérées comme sans risque. La consommation ou l'inhalation de farine de blé peut induire une allergie alimentaire ou respiratoire chez des consommateurs prédisposés. Ce travail vise à comparer l'allergénicité de lignées de blé GM à celle de leurs parents et à celle d'un ensemble de variétés cultivées.
Les génotypes étudiés appartiennent aux deux principales espèces cultivées de blé, T. aestivum et T. Durum (29 génotypes). Dans cette étude, les IgE provenant de 22 patients souffrant d'allergies respiratoire ou alimentaire ont été utilisés pour détecter et quantifier les allergènes présents parmi les protéines solubles du blé par ELISA. Deux sous-fractions de ces protéines caractérisées par spectrométrie de masse ont été utilisées dans ce travail afin d'augmenter la sensibilité des analyses.
L'ANOVA met en évidence un effet significatif pour deux facteurs étudiés (génotype et sérum) sur la capacité de reconnaissance des sous-fractions par lesIgE . La comparaison des moyennes a révélé des différences entre les 3 lignées GM et leurs parents mais aussi entre des variétés cultivées. Les concentrations en IgE spécifiques de des deux fractions varient de 28 à 50 ng / ml et de 40 à 70 ng / ml pour les cultivars de blé dur T. durum. Les résultats obtenus pour les lignées GM, s'inscrivent aussi dans cette gamme de réactivité. Des résultats similaires ont été obtenus pour T. aestivum.
Cette étude permet de conclure que la transgénèse impacte l'allergénicité du grain de blé, en l'augmentant ou en la diminuant mais que, globalement, les écarts mesurés ne s'écartent pas de la variabilité naturelle mesurée sur 20 génotypes cultivés.

rlupi@nantes.inra.fr

Un facteur de transcription de type DOF impliqué dans le développement de la graine chez les Légumineuses

Mélanie Noguero, Jérôme Verdier, Christine Le Signor, Grégoire Aubert, Vanessa Vernoud, Karine Gallardo, Richard Thompson

UMR 1347 Agroécologie - pôle GEAPSI - 17, rue Sully - BP 86510 - 21065 Dijon (MN, CLS, GA, VV, KG, RT)
The Samuel Roberts Noble Foundation, Plant Biology Division, Ardmore, OK (JV)

Dans un contexte actuel qui tend vers une réduction d'intrants dans les systèmes de culture et une relance de la production de protéines végétales, la culture des légumineuses constitue une alternative fondamentale à prendre en compte car elles constituent une source riche en protéines pour l'alimentation animale et humaine. Il est donc important de s'intéresser aux facteurs limitants leur culture, comme la tolérance aux stress ou le rendement, en étudiant le déterminisme génétique de ces caractères.
Le rendement protéique de la graine dépend à la fois du génotype et des facteurs environnementaux qui interviennent pendant l'étape clé du remplissage. Aux stades précoces du développement, l'assimilation de nutriments est réalisée majoritairement par les tissus qui entourent l'embryon: l'albumen et le tégument. Les recherches menées visent à évaluer la contribution de l'albumen dans le développement et le remplissage de la graine chez les légumineuses.
L'étude du rôle de ce tissu qui entoure l'embryon est réalisé grâce à des mutants (TILLING et TnT) pour un facteur de transcription de type DOF. Ce facteur de transcription est exprimé à un moment clé dans le développement de la graine, à la transition entre les phases de division cellulaire et de remplissage de la graine. Il est spécifique de l'albumen, tissu qui entoure et supporte le développement de l'embryon pendant la phase critique du remplissage. Ces mutants présentent des phénotypes qui affectent le développement de la graine (avortement à des stades précoces).
La cytologie du développement de la graine a été étudiée dans une première partie afin de caractériser l'impact de la mutation sur le développement. Dans un second temps, une étude comparative du transcriptome mutant vs sauvage a permis de sélectionner plusieurs gènes de part leur expression différentielle mutant vs sauvage. Une fois replacés dans les voies métaboliques, ils sont une indication importante pour émettre des hypothèses quant à la fonction du gène.

melanie.noguero@dijon.inra.fr

Dynamic proteomics emphasizes mRNA selective translation and protein turnover during Arabidopsis seed germination

Marc Galland, Romain Huguet, Erwann Arc, Gwendal Cueff, Dominique Job, Loïc Rajjou

Jean-Pierre Bourgin Institute (IJPB, UMR1318 INRA-AgroParisTech), Laboratory of Excellence "Saclay Plant Sciences" (LabEx SPS), F-78026 Versailles, France (MG, GC, LR)
CNRS/Bayer CropScience Joint Laboratory (UMR5240), F-69263 Lyon, France (DJ)
Thermofisher, Stafford House, Boundary Way, Hemel Hempstead, HP2 7GE, United Kingdom (RH)
University of Innsbruck, Institute of Botany, Sternwartestraße 15, A-6020, Innsbruck, Austria (EA)

The complete inhibition of the germination process in the presence of the translation inhibitor cycloheximide established that mRNA translation is critical for Arabidopsis seed germination. However, the selectivity of protein synthesis (mRNA translation) and dynamics of protein turnover during Arabidopsis seed germination have not been addressed yet. Based on our detailed knowledge of the Arabidopsis seed proteome, we have deepened our understanding of seed mRNA translation during germination by combining 2D gel-based proteomics with dynamic radiolabeled proteomics using a radiolabeled amino acid precursor, namely [35S]-Methionine, in order to highlight de novo protein synthesis, stability and turnover. Our data confirm that, during early imbibition, the Arabidopsis translatome keeps reflecting an embryonic maturation program until a certain developmental checkpoint. Furthermore, by dividing the seed germination time lapse into discrete time windows, we highlighted precise and specific patterns of protein synthesis. Altogether, these data refine and deepen our knowledge on the three classical phases of seed germination and reveal that selective mRNA translation is a key feature of seed germination.

loic.rajjou@agroparistech.fr

Transcriptome and metabolome analysis of developing seeds of Arabidopsis nced mutants deficient in abscisic acid biosynthesis

Camille Roux, François Perreau, Anne Frey, Gilles Clément, Ludivine Taconnat, Sandrine Balzergue, Helen North and Annie Marion-Poll

Institut Jean-Pierre Bourgin (UMR 1318 INRA–AgroParisTech), Institut National de la Recherche Agronomique, Saclay Plant Science, Versailles, France (CR, FP, AF, GC, HN, AMP)
URGV (UMR INRA 1165 – CNRS 8114 – UEVE), 2 rue Gaston Crémieux, F-91057 Evry Cedex, France (LT, SB)

The importance of ABA in dormancy induction is well acknowledged, and it has been well established that dormancy is triggered by embryonic and not maternal ABA . Nevertheless, the details of ABA signaling network in developing seeds remain to be described. The family of five genes encoding the 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) has been proved to play a key role in the regulation of ABA biosynthesis and NCED genes are, at different levels, all expressed during seed development.
Their specific expression patterns have given us the opportunity to design multiple mutants, which are ABA deficient in different tissues and at different stages of the seed development.
Multiple mutants nced2 nced5 nced9, nced2 nced6 nced9 and nced2 nced5 nced6 nced9 have been studied using "omics" approaches. First metabolomics analysis revealed that the different mutants cluster by developmental stage rather than genotype. Main differences tend to appear at the end of seed maturation and between mutants that express NCED6 compared to those that do not. Transcriptomics data revealed differentially expressed genes belonging to families of ABA receptor and other signaling components. The function of other genes differentially expressed between control and multiple mutants, such as transcription factors, are currently being characterized in order to determine their possible involvement in dormancy induction.

caroux@versailles.inra.fr

Variation de la forme de la graine chez Capparis spinosa L.

Ezzeddine Saadaoui, José Javier Martín Gómez[2], Emilio Cervantes[2,1], Station Régionale de Gabès, Laboratoire de Gestion et de Valorisation des Ressources Forestières, Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forêts (INRGREF), Université de Carthage

Station Régionale de Gabès, Laboratoire de Gestion et de Valorisation des Ressources Forestières, Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forêts (INRGREF), Université de Carthage, Tunisie (Ezzeddine Saadaoui).
IRNASA-CSIC, Apartado 2576 Salamanca, Espagne (José Javier Martín Gómez, Emilio Cervantes)

Capparis spinosa L. est une espèce spontanée en Tunisie, caractérisée par une large répartition géographique et un grand polymorphisme génétique. Deux sous-espèces ont été retenues pour la Tunisie, il s'agit de C. spinosa subsp. spinosa et C. spinosa subsp. rupestris, elles sont respectivement épineuse et inerme. L'étude concerne dix populations, dont cinq de la sous-espèce spinosa existantes toutes au Nord du pays et cinq populations de la sous-espèce rupestris, qui se répartissent entre le Nord[2], le centre[1] et le Sud[2]. A partir de ces populations naturelles, les graines ont été récoltées en juillet 2003. Au laboratoire, les graines ont été observées sous une loupe Nikon 'SMZ-2T', des photos ont été prises de la vue longitudinale de la graine par un appareil photo numérique Nikon 'Coolpix 950' et une image composée contenant la courbe de cardioïde et la graine a été faite pour chaque graine avec le logiciel Photoshop CS4 (Adobe). La quantification de la zone a été faite avec le Programme Java Image Processing Program, l'image de la graine a été combinée avec l'image de la cardioïde et la zone commune entre l'image de la graine et l'image de cardioïde a été déterminée pour chaque graine. L'indice d'ajustement J est défini par :
J = Zone C : (Zone C + Zone D) x 100 où C est la zone commune entre la graine et la cardioïde et D est la zone non commune
Six types de graines ont été obtenus à partir de cette simulation, dont A, B, C, D et E. A s'il y a eu au moins 95% de coïncidence avec la cardioïde. Ainsi, les images des graines avec la courbe de cardioïde ont été divisées en quatre quarts de cercles (Q1 à Q4) et le pourcentage de ressemblance avec la cardioïde a été calculé pour chaque quart de cercle. Ceci permis de définir quatre autres types de graine supplémentaires (B, C, D, E). Un dernier type (O) a été défini, quand la forme de la graine est différente de cinq premiers types.
Les résultats on montré une grande hétérogénéité entre les populations et les deux sous-espèces étudiées. La taille de graine est plus réduite et variable chez subsp. rupestris, mais elle est plus élevée et stable chez subsp. spinosa. La forme de la graine varie aussi, 28% des graines ont le type A, Pour les sous-espèces, 66% des graines appartiennent aux types B et E pour subsp. rupestris, cette valeur est de 92% pour subsp. spinosa. Ces résultats se coïncident avec d'autres concernant la variabilité sous-spécifique de cette plante et peuvent être intéressante pour d'autres études sur des corrélations entre la forme de la graine, la variabilité génétique et la physiologie de germination

saad_ezz@yahoo.fr

Evaluation de 3 méthodes pour l'obtention de graines de lin (linum usitatissinum L.) dont les lignanes sont marquées au 13C

Thiombiano B.[1], Grand E.[2], Schiltz S.[1], Gontier E.[1], Mesnard F.[1]

[1] *BIOPI EA3900 UPJV.*

[2] *Laboratoire des Glucides FRE 3517. 33 rue de Saint Leu. 80000 Amiens.*

Au cours de la germination, des sucres, des acides aminés et certains composés phénoliques sont libérés dans le proche environnement de la graine appelé spermosphère. Ces métabolites peuvent intervenir dans la défense de la graine contre les pathogènes (Windstam et Nelson, 2008) ou encore dans l'établissement d'interactions favorables entre la graine et les organismes environnants (Ofec et al. 2011). Les mécanismes physiologiques associés à la germination ont fait l'objet de nombreux travaux de recherche de même que l'accumulation des métabolites durant la germination au travers d'approches de métabolomiques. Cependant ces travaux se sont limités aux métabolites primaires, or ce sont particulièrement les métabolites secondaires qui sont connus pour leur effet structurant vis à vis des communautés microbiennes dans le sol rhizosphérique (Badri et al. 2009)

Afin de mieux comprendre les interactions entre la graine de lin et son environnement au cours de la germination, nous allons réaliser une analyse métabolomique de la graine (variété Barbara). Nous analyserons les modifications d'accumulation des métabolites dans la graine et dans la spermosphère. Un intérêt tout particulier sera porté aux métabolites secondaires : les lignanes. Pour cela, leur remobilisation sera suivie au cours de la germination grâce à un marquage isotopique avec du 13C afin de les différentier de ceux de l'environnement.

Le suivi des lignanes issus de la graine de lin dans la spermosphère, nécessite l'obtention de graines de lin matures, marquées au 13C et viables. Ainsi après une étape de synthèse chimique de monolignols marqués au 13C, précurseurs de lignanes, 3 méthodes de supplémentations ont été testées et sont toujours en cours d'évaluation pour certaines:

- Injection directe des molécules marquées dans la capsule via le pédoncule
- Culture in vitro de hampes florales dans un milieu nutritif contenant les monolignols 13C
- Trempage des capsules : elle consiste à plonger pendant une heure des capsules en cours de remplissage toujours reliées à la plante dans une solution de monolignols 13C

L'injection des précurseurs dans le pédoncule semble être la méthode la plus prometteuse puisqu'elle permet une pénétration directe des molécules dans la plante et qu'elle n'entrave pas le développement des capsules. La culture de hampes florales ne permet le développement de capsules jusqu'à maturité qu'à partir d'un certain âge (15 jours après floraison). Elle reste non adaptée pour des capsules plus jeunes (6-15 JAF), or c'est à ce stade de développement que la supplémentation est la plus efficace. Avec la technique du trempage, les précurseurs semblent pénétrer dans la capsule car on observe une diminution de la quantité de coniférine 13C dans le milieu. Néanmoins un second produit, en cours de caractérisation, semble apparaitre lors des analyses par HPLC/UV.

D'autres analyses sont prévues afin de déterminer quelle est la méthode qui permet d'obtenir l'enrichissement le plus important des graines.

benjamin.thiombiano@etud.u-picardie.fr

Etude du rôle du facteur de transcription MtATB2 dans l'adaptation des légumineuses aux stress abiotiques et aux carences nutritives de fin de cycle.

Pierre Leclercq*, Nadia Rossin*, Christine Le Signor, Myriam Sanchez, Jerome Verdier, Jiangqi Wen, Kirankumar Mysore, Karine Gallardo, Richard Thompson, Sergio Ochatt et Vanessa Vernoud
* ces auteurs ont participé de façon équivalente à ce travail

INRA, UMR1347 Agroécologie, BP 86510, F-21000 Dijon, France (PL, NR, CLS, MS, JV, KG, RT, SO, VV)
Plant Biology Division, The Samuel Roberts Noble Foundation, Ardmore, OK, 73401, USA (JV, JW, KM)

Dans un contexte climatique global d'augmentation des températures et de baisses dans les régimes hydriques, et dans la perspective de développer une agriculture plus respectueuse de l'environnement, l'étude de la réponse des plantes aux stress abiotiques (thermiques et hydriques) et aux carences nutritives (bas niveau d'intrants) est cruciale. Nous nous intéressons en particulier à l'impact de ces stress sur le développement des légumineuses en fin de cycle (pois et Medicago truncatula), incluant la remobilisation vers les graines de l'azote accumulé dans les organes sources et le développement de la graine (embryogenèse précoce et accumulation des réserves). Les objectifs sont d'identifier et de caractériser des gènes régulateurs situés à l'interface entre les voies de développement et de réponse aux stress et qui sont susceptibles de jouer un rôle dans les mécanismes d'adaptation des plantes aux stress abiotiques et nutritifs. Dans ce contexte, nous étudions un facteur de transcription (FT) de la famille des b-ZIP nommé ATB2, dont l'orthologue putatif chez Arabidopsis thaliana joue un rôle dans la réponse de la plante aux stress nutritifs. Nous présenterons ici la caractérisation du rôle de ce FT chez Medicago par une combinaison d'approches allant de l'étude de mutants perte de fonction en passant par la caractérisation de son expression (hybridation in situ, plantes transgéniques pATB2 ::GUS) et de ses gènes cibles putatifs, dans des conditions favorables et stressantes. Nous avons également débuté le transfert de ces connaissances vers le pois protéagineux (Pisum sativum L.) avec notamment la recherche de l'orthologue d'ATB2 et de mutant TILLING correspondant.

vanessa.vernoud@dijon.inra.fr

Analysis of gene-expression in plastids of Arabidopsis seeds during stratification.

Rosa Pipitone[1,2,3,4,5], Sumaira Kousar[2,3,4,5], Mustafa Malik Ghulam[2,3,4,5], Florence Courtois[2,3,4,5], Fabien Chevalier[2,3,4,5], Thomas Pfannschmidt[2,3,4,5], Silva Lerbs-Mache[2,3,4,5] and Livia Merendino[2,3,4,5]

[1] *Università degli studi di Palermo, Italy*
[2]*Université Grenoble Alpes, Laboratoire Physiologie Cellulaire & Végétale, F-38041 Grenoble, France.*
[3]*CNRS, UMR5168, F-38054 Grenoble, France.*
[4]*CEA, iRTSV, Laboratoire Physiologie Cellulaire & Végétale, F-38054 Grenoble, France.*
[5]*INRA, USC1359, F-38054 Grenoble, France.*

Seed dormancy is a specific trait of many plant species to avoid germination in adverse environmental conditions. In dormant seeds, the temporary arrest in growth is often released only upon cold treatment and imbibition (stratification). In the laboratory, seeds of Arabidopsis thaliana are usually stratified, by imbibition on medium plates in darkness at 4°C, to synchronize germination in a population. The molecular bases of this process are not well understood.

Nuclear transcriptomic analysis revealed that cold stratification is a very active period (Narsay et al., 2011). In particular, a transient activation at the end of stratification was observed for genes involved in the metabolism of nuclear transcripts and in replication and transcription of the mitochondrial genome. In addition, we have shown that also the plastid genome is expressed during stratification (Demarsy et al., 2012).

Plastids are cell organelles in photosynthetic organisms, where essential functions occur. In dicotyledonous plants the plastid genome is transcribed by three RNA polymerases: RPOTp and RPOTmp, which are encoded by the nucleus, and PEP, which is encoded by the plastid itself. Aim of our work was to study the role of the plastid gene-expression in the synchronization of seed germination during stratification in Arabidopsis. For that, we have analyzed the transcription of a selected group of plastid genes in dried and stratified seeds. Our data indicate that during stratification there is a strong synthesis of the ribosomal 16S RNAs by RPOTmp from a specific promoter, called PC, and also of the mRNAs coding for the PEP subunits by RPOTp. No increase in the accumulation of plastid tRNAs was observed during stratification. Germination tests using the rpoT mutants indicate that RPOT-mediated transcription of the plastid genome is required for efficient synchronization of seed germination.

We can speculate that in stratified seeds the two RPOT polymerases produce plastid RNA stocks. Once the imbibed seeds are exposed to the optimal conditions for germination (light at room temperature), the plastid RNA stocks will be then used for a rapid and efficient development of the plantlet. Study of the role of the PEP polymerase in the expression of the plastid genome during seed stratification is under progress.

Seed dormancy is a specific trait of many plant species to avoid germination in adverse environmental conditions. In dormant seeds, the temporary arrest in growth is often released only upon cold treatment and imbibition (stratification). In the laboratory, seeds of

Arabidopsis thaliana are usually stratified, by imbibition on medium plates in darkness at 4°C, to synchronize germination in a population. The molecular bases of this process are not well understood.

Nuclear transcriptomic analysis revealed that cold stratification is a very active period (Narsay et al., 2011). In particular, a transient activation at the end of stratification was observed for genes involved in the metabolism of nuclear transcripts and in replication and transcription of the mitochondrial genome. In addition, we have shown that also the plastid genome is expressed during stratification (Demarsy et al., 2012).

Plastids are cell organelles in photosynthetic organisms, where essential functions occur. In dicotyledonous plants the plastid genome is transcribed by three RNA polymerases: RPOTp and RPOTmp, which are encoded by the nucleus, and PEP, which is encoded by the plastid itself. Aim of our work was to study the role of the plastid gene-expression in the synchronization of seed germination during stratification in Arabidopsis. For that, we have analyzed the transcription of a selected group of plastid genes in dried and stratified seeds. Our data indicate that during stratification there is a strong synthesis of the ribosomal 16S RNAs by RPOTmp from a specific promoter, called PC, and also of the mRNAs coding for the PEP subunits by RPOTp. No increase in the accumulation of plastid tRNAs was observed during stratification. Germination tests using the rpoT mutants indicate that RPOT-mediated transcription of the plastid genome is required for efficient synchronization of seed germination.

We can speculate that in stratified seeds the two RPOT polymerases produce plastid RNA stocks. Once the imbibed seeds are exposed to the optimal conditions for germination (light at room temperature), the plastid RNA stocks will be then used for a rapid and efficient development of the plantlet. Study of the role of the PEP polymerase in the expression of the plastid genome during seed stratification is under progress.

livia.merendino@cea.fr

Variabilité génétique du nombre de cellules épidermiques de l'hypocotyle dans l'embryon et identification des QTL contrôlant ce caractère chez la Légumineuse modèle Medicago truncatula.

Chvan Youssef [1], Catherine Aubry[2], Daniel Beucher[1], Marjorie Juchaux[3], Béatrice Teulat-Merah[1]

[1] *AGROCAMPUS OUEST, UMR 1345 IRHS équipe BGL, SFR 149 QUASAV, PRES UNAM, 16 Boulevard Lavoisier 49045 Angers.*

[2] *Université d'Angers, UMR 1345 IRHS équipe BGL, SFR QUASAV, PRES UNAM, 2 Boulevard Lavoisier 49045 Angers.*

[3] *Plateau technique IMAC-SFR 149 QUASAV, INRA 42 rue Georges Morel 49070 Beaucouzé).*

La croissance hétérotrophe des organes permet la sortie de la plantule hors de terre. C'est une étape clé, peu étudiée, pour la réussite de l'implantation. La Légumineuse modèle *Medicago truncatula* a été utilisée pour étudier le déterminisme génétique de la croissance de l'hypocotyle à l'obscurité. Le nombre et la taille des cellules sont deux déterminants clés de la taille d'un organe. Dans cette étude, nous avons déterminé le nombre de cellules épidermiques de l'hypocotyle dans l'embryon de la graine mature (NCE) pour un panel de 16 génotypes représentatifs de la diversité génétique de l'espèce, à partir de semences provenant d'un même lot (produit la même année). Le NCE a également été déterminé pour 5 lots de semences différents pour trois des génotypes. Le comptage direct du nombre de cellules sur des coupes longitudinales de l'axe embryonnaire a mis en évidence une large variabilité génétique du NCE. . Par ailleurs, le NCE EST le même pour tous les lots étudiés. La longueur des cellules a été calculée. La contribution du NCE et de l'allongement des cellules aux variations génotypiques de la longueur de l'hypocotyle en conditions optimale et sous stress a ensuite été étudiée. Plusieurs QTL contrôlant le NCE ont été identifiés. Un de ces QTL est co-localisé avec un QTL contrôlant la longueur maximale de l'hypocotyle atteinte à l'obscurité.

chvan.youssef@agrocampus-ouest.fr

Oraux

Rôle des parois cellulaires dans le développement du grain de blé

Anne-Laure Chateigner-Boutin, Colette Larré, Paul Robert, Brigitte Bouchet, Sylvie Durand, Luc Saulnier, Fabienne Guillon

INRA UR1268 Biopolymères, Interactions, Assemblages BP 71627 44316 Nantes Cedex 03 (ALCB, CL, PR, BB, SD, LS, FG)

Les parois entourant les cellules végétales sont des structures essentielles qui déterminent la forme des cellules, participent à leur protection, aux échanges intercellulaires et à la cohésion des tissus. Les parois des grains de blé sont également déterminantes dans les procédés de transformation des grains (meunerie, panification), et elles constituent en partie les fibres alimentaires dont le rôle bénéfique sur la santé est démontré.
Notre équipe caractérise la composition des parois des différents tissus du grain de blé (albumen et tissus maternels) et étudie la formation de ces parois pendant le développement du grain par une combinaison de techniques complémentaires (analyses chromatographiques, spectrométrie de masse, analyses multi-spectrales et immunocytochimiques). Nous avons montré que les parois de l'albumen amylacé étaient constituées majoritairement d'arabinoxylanes féruloylés et de beta-glucanes mixtes mais également d'autres composés qui jusqu'à présent n'étaient pas étudiés chez le blé (mannanes et pectines). Certains de ces polysaccharides ne sont détectés que transitoirement pendant le développement (callose, xyloglucanes) et/ou seulement dans certains types cellulaires comme les cellules de transfert qui ont un rôle majeur dans les échanges de nutriments entre la plante-mère et le grain. L'analyse des composants des parois des tissus maternels périphériques révèle une composition différente ainsi qu'une lignification tardive qui pourrait limiter la taille du grain.
Des analyses protéomiques et transcriptomiques des différents tissus du grain à un stade de synthèse active des parois nous ont permis d'identifier des gènes/protéines impliqué(e)s dans la synthèse, l'assemblage et le remodelage des constituants des parois. Des lignées transgéniques sous-exprimant certains de ces gènes sont en cours de génération. Leur analyse permettra de mieux appréhender le rôle des polymères ciblés dans l'architecture des parois et le rôle des parois dans le développement du grain de blé.

Anne-Laure.Chateigner-Boutin@nantes.inra.fr

Analyse du protéome nucléaire de grains de blé tendre en développement

Titouan Bonnot, Emmanuelle Bancel, Julie Boudet, Christophe Chambon, Gérard Branlard, Pierre Martre

INRA, UMR1095 Génétique, Diversité and Ecophysiologie des Céréales (GDEC), 5 chemin de Beaulieu, 63 039 Clermont-Ferrand (TB, EB, JB, GB, PM)
Université Blaise Pascal, UMR1095 GDEC, 63 170 Aubière (TB, EB, JB, GB, PM)
INRA, UMR1019 Unité de Nutrition Humaine (UNH), Plateforme d'Exploration du Métabolisme, Composante Protéomique (PFEMcp), 63 122 Saint Genès Champanelle (CC)

Afin d'identifier les acteurs protéiques impliqués dans la régulation transcriptionnelle du développement du grain et de la synthèse d'amidon et de protéines de réserve, il est nécessaire d'explorer le protéome du noyau des cellules du grain. Dans cette optique, une étude du protéome nucléaire pour les quatre principaux stades de développement du grain (division cellulaire, différenciation, remplissage, déshydratation) a été réalisée chez le blé tendre (Triticum aestivum L.). Les protéines nucléaires extraites à partir des fractions enrichies en noyaux ont été analysées par électrophorèse bidimensionnelle suivies d'une analyse d'images. Celle-ci nous a permis de mettre en évidence 371 spots reproductibles sur un gradient de point isoélectrique allant de pH 4 à 7. L'analyse statistique des résultats a permis de mettre en évidence 254 spots variant significativement et quatre principaux profils d'expression. L'analyse des protéines identifiées à partir des données de spectrométrie de masse a montré qu'elles avaient des fonctions biologiques en accord avec leur localisation cellulaire : protéines impliquées dans le métabolisme des acides nucléiques, la transcription et la traduction. Une approche « gel-free » avec analyse directe des extraits protéiques nucléaires par LC-MS/MS a également été réalisée pour, d'une part, identifier des protéines peu abondantes telles que des facteurs de transcription et d'autre part, quantifier un maximum de protéines, tout particulièrement les protéines ayant des points isoélectriques supérieurs à 7, telles que les histones. Cette étude qui nous a également permis d'examiner la complémentarité de ces deux approches va pour la première fois nous offrir la possibilité d'analyser les modifications du protéome nucléaire au cours du développement du grain en fonction de facteurs de l'environnement et de la disponibilité en macro-nutriments, en particulier en azote et en soufre dont la disponibilité est un déterminant majeur de la composition finale en protéines du grain et de sa valeur d'usage.

emmanuelle.bancel@clermont.inra.fr

Roles of plastid gene expression during seed development and of embryonic photosynthesis in seed vigor and germination

Florence Courtois, Guillaume Allorent, Fabien Chevalier, David Macherel, Giovanni Finazzi, Silva Lerbs-Mache

Laboratoire de Physiologie Cellulaire & Végétale
CNRS, UMR5168, F-38054 Grenoble, France
Université Grenoble Alpes, UMR5168, F-38041 Grenoble, France
CEA, iRTSV, F-38054 Grenoble, France
INRA, F-38054 Grenoble, France (FC, GA, FB, GM, SLM)
Institut de Recherche en Horticulture et Semences, Université d'Angers
ARES, 16 bd Lavoisier, 49045 Angers (DM)

During Arabidopsis seed development, a transient photosynthetic stage is observed in the embryo. This characteristic provides the opportunity to analyze at a molecular level the chloroplast differentiation and dedifferentiation processes that occur in a very short time despite its obvious metabolic cost.
We first analyzed mRNA and protein levels of components of the plastid transcriptional machinery and of some plastid-related genes in developing seeds during embryogenesis, maturation and desiccation. As expected, most of the mRNAs and proteins levels increase during maturation and decrease during desiccation, when plastids dedifferentiate. In contrast, mRNAs and proteins of components of the plastid transcriptional apparatus do not decrease or even still increase during the period of plastid dedifferentiation. Results suggest that proteins of plastid polymerase subunits are specifically protected from degradation during the desiccation period and conserved in dry seeds to allow immediate regain of plastid transcriptional activity during germination. The corresponding mRNAs and mRNAs encoding sigma factors should provide immediately-to-use templates for translation on cytoplasmic ribosomes in order to enhance RNA polymerase protein levels and to provide regulatory proteins for stored PEP to guaranty efficient plastid genome transcription during germination.
We also combine a biochemical and a biophysical approach and metabolite analysis to investigate the reasons for building up the transient photosynthetic stage. Cyclic electron flow becomes prominent in seeds, possibly to balance the ATP and NADPH needs of the peculiar carbon assimilation metabolism of these plant organs. Eventually, our metabolic analysis indicates that photosynthesis promotes seeds germination by modulating the level of specific metabolites related to both oxygen and water stress responses. Therefore, we provide experimental evidence that, by affecting seed vigour, the peculiar energetic and metabolic contributions of embryonic photosynthesis are essential for optimum plant fitness.

florence.courtois@cea.fr

Chémotypage de l'albumen de maïs : relation avec la construction de la vitrosité du grain

Mathieu Gayral, Caroline Delluc, Sylvie Brunet, Michèle Dalgalarrondo, Bénédicte Bakan, Khalil Elmorjani, Marie-Hélène Morel, Didier Marion

INRA, Unité Biopolymères, Interactions, Assemblages, La Géraudière, 44316 Nantes cedex 3 (MG, MD, BB, KE, DM)
UMR Ingénierie des biopolymères et technologies émergentes, Campus de la Gaillarde 34 060 Montpellier cedex 02 (MHM)
Limagrain ULICE, Riom, Zac Les Portes De Riom, 63200 Riom (SB)
Limagrain Europe, Biopôle Clermont Limagne, 63360 Saint Beauzire (CD)

La vitrosité de l'albumen est un trait recherché pour l'utilisation alimentaire du maïs. Elle est a priori déterminée au cours de la dessiccation par les forces d'interactions entre matrice protéique et grains d'amidon ainsi que par les propriétés de ce matériau composite lors de la transition vitreuse. Au cours du développement du grain, les mécanismes moléculaires conduisant à la mise en place de la vitrosité de l'albumen restent inconnus. Les recherches portant sur le déterminisme moléculaire de la vitrosité du maïs sont basées uniquement sur l'étude des mutants opaque dont l'albumen est totalement farineux. La plupart des mutations opaque affecte la synthèse des réserves protéiques, et ont permis d'identifier l'importance des zéines dans la construction de la matrice amylo-protéique. Toutefois l'étude de ces mutants ne permet pas d'appréhender les mécanismes liés à la mise en place d'un albumen vitreux pour un maïs cultivé.

Dans ce contexte, nous avons entrepris dans un premier temps une analyse exhaustive de la composition des parties vitreuses et farineuses d'albumens issus de 13 lignées sauvages couvrant une large gamme de vitrosité. Ce chémotypage qualitatif et quantitatif des protéines, lipides et autres métabolites (acides aminés, sucres, acides organiques) fait apparaître des différences majeures dans le métabolisme cellulaire des parties vitreuses et farineuses. Ceci se traduit notamment par des variations significatives dans la synthèse des protéines de réserve (zéines) et, de façon plus originale par rapport à ce qui a été décrit jusqu'à présent, également des lipides. Ces résultats seront présentés et discutés à l'aune des mécanismes moléculaires conduisant à la mort cellulaire programmée de l'albumen et des processus physicochimiques accompagnant la dessiccation du grain.

mathieu.gayral@nantes.inra.fr

Fonctionnement mitochondrial et métabolisme énergétique aux frontières de la dessiccation

Abdelilah Benamar, David C. Logan, Aurélia Rolland, Marie-Paule Raveneau, Martine Neveu, Marie-Hélène Avelange-Macherel, David Macherel

UMR 1345 IRHS, Angers, France (AB, DCL, AR, MN, M-HA-M, DM)
LEVA, ESA, Angers (M-PR)

Les graines de la plupart des espèces se déshydratent à maturité, et rentrent alors dans un état quiescent, ou l'arrêt du métabolisme contribue à leur grande longévité. Lors de l'imbibition, le métabolisme est très rapidement réactivé, ce qui soulève la question de la gestion du métabolisme énergétique et des modalités de la reprise du fonctionnement mitochondrial. Il a été suggéré dans ce contexte que lors du développement des graines, les mitochondries se dé-différentiaient en pro-mitochondries, et que lors de l'imbibition, une importante biogenèse était requise pour reformer des mitochondries compétentes.
Nous avons entrepris une analyse détaillée de la reprise du métabolisme énergétique lors de l'imbibition des graines d'Arabidopsis, en combinant des approches de physiologie et de biologie cellulaire. Les cinétiques de consommation d'oxygène par les embryons indiquent que la respiration mitochondriale est opérationnelle dès la réhydratation des tissus. Grâce à une lignée transgénique surexprimant la GFP dans les mitochondries, il a été possible de visualiser les mitochondries intactes dans les embryons à l'état sec, et l'utilisation dune sonde fluorescente a démontré que les mitochondries étaient énergisées après quelques minutes d'imbibition. Aucun changement notable dans le nombre, la forme et la distribution des mitochondries n'a été observé durant l'imbibition et la germination. De façon surprenante, les mitochondries sont apparues immobiles, n'acquérant leur dynamique caractéristique qu'après la germination. Par ailleurs, des travaux réalisés chez le pois permettent d'expliquer la forte accumulation d'AMP caractéristique des graines sèches, et les modalités du rééquilibrage très rapide des pools d'adénylates lors de la réhydratation des tissus, en concertation avec la reprise du fonctionnement mitochondrial.
Dans l'ensemble ces résultats démontrent que les mitochondries sont parfaitement fonctionnelles sur le plan énergétique dès la réhydratation des tissus, et permettent de comprendre comment un organisme anhydrobiote gère sa production d'énergie cellulaire aux frontières de la dessiccation.

david.macherel@univ-angers.fr

Rôle des modifications post-traductionnelles dans la germination et la dormance des semences

Patrice Meimoun, Ewa Kalemba, Jérémie Bazin, Hayat Bouteau, Christophe Bailly

UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE UR 5 UPMC - EAC 7180 CNRS Case courrier 156 Bât C - 2ème étage 4 Place Jussieu 75252 Paris Cedex 05 (PM,EK, JB, HB, CB)

Les modifications post-traductionnelles (MPT), qui participent à la régulation de nombreux processus physiologiques chez les plantes, incluent les oxydations réversibles ou irréversibles et l'ubiquitinilation des protéines. Chez les graines orthodoxes, la levée de dormance et la germination font intervenir de nombreuses voies de signalisation, comme celles de l'acide abscissique et des gibbérellines dont certains acteurs sont régulés par les MPT. Les espèces réactives de l'oxygène produites lors de la germination sont responsables de l'oxydation de protéines pouvant entrainer la régulation de voies de signalisation ou divers dommages cellulaires. Ainsi, la levée de dormance et la germination font intervenir la carbonylation spécifique de protéines menant à leur dégradation via le protéasome 20S. Toutefois, peu d'études ont jusqu'ici clairement montré le rôle des MPT dans la germination. Nous avons donc étudié le rôle de l'ubiquitinilation, de l'activité du protéasome et des oxydations réversibles des protéines dans ce phénomène. Nos résultats montrent que la germination des semences de tournesol est associée à l'ubiquitinilation spécifique de protéines et à l'activation du protéasome. En parallèle, nous avons développé une nouvelle méthode protéomique permettant l'étude des protéines contenant des méthionines (Met) oxydées, basée sur une approche d'électrophorèse 2D-diagonale utilisant le bromure de cyanogène (CNBr) après la première dimension. L'oxydation des protéines n'est en effet pas nécessairement un phénomène délétère, l'oxydation de la Met, un résidu oxydo-sensible, conduit en premier lieu à la Met sulfoxyde (Metso) qui peut être réduite in vivo par l'action des Méthionine Sulfoxyde Reductases (MSR). L'utilisation de cette approche a permis d'identifier par spectrométrie de masse les Met oxydées et les protéines cibles in vivo dans la graine. La signification biologique de l'oxydation de ces cibles sera discutée en relation avec le rôle potentiel des protéines identifiées dans la germination des graines.

patrice.meimoun@upmc.fr

Evidence for the participation of the methionine sulfoxide reductase repair system in plant seed longevity

Françoise Montrichard, Emilie Châtelain, Pascale Satour, Pascal Rey

UMR 1345 Institut de recherche en Horticulture et Semences, Université d'Angers - Agrocampus Ouest - INRA, 16 bd Lavoisier, 49045 Angers, France (FM, EC, PS)
UMR 7265 Lab. Ecophysiologie Moléculaire des Plantes, CEA – CNRS – Université d'Aix-Marseille, 13108 Saint-Paul-lez-Durance

Oxidation of methionine to methionine sulfoxide is a common damage observed during aging in micro-organisms and animals. This damage is reversible through the action of methionine sulfoxide reductases (MSRs), which fulfill a key role in lifespan control in these organisms.
Orthodox seeds are in a natural oxidative context. Under a dry and quiescent state, they are unable to repair or replace oxidized molecules, which progressively accumulate during storage, and undergo an aging process similar to other organisms. Thus, we investigated whether plant MSRs have a function in seed longevity. To test this hypothesis, we first used seeds of the model legume Medicago truncatula. After characterizing the MSR family in this species, enzymatic activity was analyzed in immature and mature seeds displaying distinct longevity levels. Interestingly, a very strong correlation (R2=0,99) was put in evidence between MSR capacity and seed survival, both decreasing following artificial aging at 75 % relative humidity and 35°C. Most importantly, using two ecotypes contrasting for seed longevity, another strong correlation was found between the initial level of MSR capacity in mature seeds, which differs in the two ecotypes, and the time for their viability to fall to 50 % (P50) during artificial aging. Then, we analyzed seed longevity in Arabidopsis thaliana lines, in which MSR expression has been genetically altered, and also observed a positive correlation between MSR capacity and P50. Therefore, in this work, using seeds having different levels of MSR capacity, due to either natural variation (contrasting M. truncatula ecotypes) or genetic modification (A. thaliana MSR wild type and mutant lines), we demonstrate for the first time to our knowledge, that seed longevity is strongly linked to the level of MSR enzymatic capacity. These data prompt us to propose that the MSR repair system has a decisive role in the acquisition and preservation of longevity in plant seeds.

francoise.montrichard@univ-angers.fr

Modélisation d'un réseau génique stable de co-expression du développement de graines de Medicago truncatula pour prédire les gènes modulant la longévité

Karima Righetti, Sandra Pelletier, Joseph Ly Vu, Benoit Ly Vu, Olivier Leprince, David Lalanne, Julia Buitink

UMR 1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, Université d'Angers - Agrocampus Ouest - INRA, 16 bd Lavoisier, 49045 Angers, France (FM, EC, PS)
UMR 7265 Lab. Ecophysiologie Moléculaire des Plantes, CEA – CNRS – Université d'Aix-Marseille, 13108 Saint-Paul-lez-Durance

Au cours de leur développement, les graines acquièrent successivement la tolérance à la dessiccation puis leur aptitude à la conservation (longévité). Ces facteurs contribuent de manière importante à la qualité physiologique pendant la germination, un caractère agronomique crucial pour l'établissement du peuplement végétal. Chez Arabidopsis, les régulateurs principaux qui régissent le développement de la graine, la tolérance à la dessiccation et la longévité ont été caractérisés. Cependant, les voies par lesquelles leur action gouverne la longévité restent inconnues. Le but de cette étude est de mettre en évidence et de modéliser les réseaux d'interaction entre gènes qui répondent à l'acquisition de la longévité afin d'en faire émerger les régulateurs clé. Nous avons construit un réseau de régulation génique stable du développement de la graine de la légumineuse modèle Medicago truncatula en tirant parti de la longueur des phases tardives de la maturation qui caractérise cette espèce. Nous avons intégré dans un réseau de co-expression par la méthode de WGCMA, les données transcriptomiques de 168 hybridations représentant un échantillonnage de réplications biologiques, différents stades de développement et conditions de culture. En combinant données physiologiques et topologie du réseau nous avons mis en évidence un module régulateur corrélant avec l'acquisition de la longévité. Ce module présente une sur-représentation de gènes impliqués dans le métabolisme des sucres, les processus d'oxydo-réduction, confirmant ainsi les données de la littérature, mais également dans la régulation post-transcriptionnelle. Le réseau stable permet l'identification de nouveaux gènes régulateurs majeurs potentiellement impliqués dans l'acquisition de la longévité. Afin de valider cette hypothèse, la longévité des graines de mutants d'Arabidopsis sur des gènes homologues a été caractérisée. Sur les 8 mutants analysés, 6 présentaient une longévité réduite. Nos données suggèrent que la longévité des graines est un caractère complexe modulé au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel et conservé entre espèces.

karima.righetti@angers.inra.fr

Understanding the key role of xyloglucans in cell wall remodeling during Arabidopsis seed dormancy and germination

Julien Sechet, Gregory Mouille, Adeline Berger, Helen North and Annie Marion-Poll

Institut Jean-Pierre Bourgin (UMR 1318 INRA–AgroParisTech), Institut National de la Recherche Agronomique, Saclay Plant Science, Versailles, France (JS, GM, AB, HN, AMP)

Dormancy and germination are two mechanisms under the control of the hormonal balance between abscisic acid (ABA) and gibberellins (GA); ABA induces and maintains dormancy while GA activates the germination process. After dormancy release, germination results from elongation of cells in the hypocotyl causing protrusion of the radicle through the surrounding cell layers (endosperm and testa). Cell wall remodeling intervenes in the regulation of embryo growth and the modification of the resistance of the surrounding tissues and interplays with the hormonal control of germination and dormancy processes.
Mutant screens for germination resistance to paclobutrazol, an inhibitor of GA biosynthesis, led to the isolation of a mutant called 452, in addition to the previously described mutant aba4 (North et al., 2007, Plant J 50, 810). This mutant is not only tolerant to paclobutrazol, but also displays other characteristics such as reduced dormancy and tolerance to sucrose, which are typical phenotypes of ABA-deficient mutants. Nevertheless, ABA levels in 452 dry seeds are not reduced, but are slightly higher than wild type. Fine mapping of the mutation and 'next generation sequencing' allowed the identification of the affected gene, which encodes an α-xylosidase involved in xyloglucan maturation. These hemicelluloses are described as important regulators of cell wall properties (elasticity and rigidity).
As the precise role of xyloglucan maturation in seed properties has not been investigated, xyloglucan composition and tissue-specific distribution have been analyzed during seed development and germination. Seed phenotypes of several mutants impaired in xyloglucan synthesis or maturation have also been characterized in order to determine the impact of xyloglucan branching on germination and dormancy. The hormonal regulation of these xyloglucan modifications is currently being studied.

julien.sechet@versailles.inra.fr

Etude de la transmission du champignon Alternaria brassicicola à la semence d'Arabidopsis thaliana

Guillaume Nguyen, Benoit Calmes, Stéphanie Pochon, Thomas Guillemette, Philippe Simoneau, Philippe Grappin, Claire Campion

SFR Quasav 4207, UMR 1345-IRHS, Equipe FungiSem , Université d'Angers, UFR Sciences, 2 bd Lavoisier 49045 Angers cedex 01 (GN, BC, SP, TG, PS, CC)
Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, Route de St-Cyr (RD10) 78026 Versailles Cedex France (PG)

La transmission aux semences est une étape majeure du cycle infectieux de nombreux agents pathogènes fongiques, dont Alternaria brassicicola. Agent causal de la maladie des taches noires sur les plantes de la famille des Brassicacées, le développement d'A. brassicicola se caractérise par l'apparition de symptômes nécrotiques sur la totalité des organes aériens, dont les organes reproducteurs de la plante. La contamination des semences par A. brassicicola se manifeste par une baisse de faculté germinative des semences et un risque de fonte des semis. Les mécanismes liés à la transmission d'agents pathogènes à la semence ont été peu décrits à ce jour. Ce travail a pour objectif d'améliorer ces connaissances en se basant sur l'utilisation du pathosystème Arabidopsis thaliana/A. brassicicola. Des travaux préalables ont permis de mettre au point une procédure de transmission aux semences en conditions contrôlées et de réaliser des études microscopiques et histologiques de l'interaction sur organes reproducteurs. Nous avons montré par ailleurs que des mutants fongiques altérés dans leur capacité d'adaptation à des stress osmotiques et oxydatifs présentaient également de faibles capacités de transmission à la semence.
Nous avons initié récemment une analyse globale du transcriptome des deux partenaires de l'interaction lors de la phase d'infection des siliques et des semences. Des échantillons correspondant à des siliques récoltées entre 4 et 10 jours après inoculation sont comparés à des échantillons issus d'infections sur feuille et à des germinations de conidies sur eau gélosée. Ce type d'approche doit nous permettre d'identifier des mécanismes spécifiques à la contamination des organes reproducteurs de la plante.

guillaume.nguyen@etud.univ-angers.fr

Balance entre développement et réactions de défense induites lors de la transmission de Xanthomonas spp. aux semences de Medicago truncatula au cours de la maturation

Emmanuel Terrasson, Karima Righetti, Armelle Darrasse, Benoit Ly Vu, William Bolingue, Sandra Pelletier, Julia Buitink, Olivier Leprince, Marie-Agnès Jacques

UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS), Conservation et tolérance à la desiccation des semences, 16 bd Lavoisier 49045 Angers Cedex 01, France (ET, KR, BLV, WB, SP, JB, OL)
UMR1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS), Emergence, systématique et écologie des bactéries phytopathogènes, 42 rue Georges Morel 49071 BEAUCOUZE Cedex, France (ET, AD, WB, MAJ)

La transmission à et par les semences est l'un des principaux moyens de survie et de dissémination des bactéries phytopathogènes. Cette transmission passe principalement par les semences de plantes-hôtes. Toutefois, le portage des bactéries phytopathogènes par les semences de plantes non hôtes a récemment été mis en évidence et représente une source d'inoculum dont l'importance est méconnue. Alors que les interactions plantes-bactéries phytopathogènes au stade végétatif ont fait l'objet de nombreuses études, les mécanismes mis en place par les graines en développement pour répondre à la pression qu'exercent les bactéries restent à identifier. Pour étudier ces réponses nous avons établi et caractérisé le pathosystème Medicago truncatula-Xanthomonas spp. en situation compatible et incompatible, comme modèle d'étude de la transmission des bactéries phytopathogènes aux semences au cours de leur développement. Pendant la phase de remplissage de la graine [16 jours après pollinisation, (JAP)], la contamination est plus efficace en situation compatible [Xanthomonas alfalfae pv. alfalfae (Xaa)] qu'en situation incompatible [Xanthomonas campestris pv. campestris (Xcc)]. Dans les phases finales de la maturation (32 JAP), les taux de contamination par Xcc et Xaa sont identiques. Afin de mettre en évidence la réponse de la graine à la contamination, le transcriptome des graines contaminées a été caractérisé à 16 et 32 JAP. En situation incompatible les graines contaminées répondent en surexprimant des gènes de défense impliqués notamment dans la biosynthèse et l'accumulation des proanthocyanidines. En revanche, un grand nombre de gènes impliqués dans le développement de la graine sont réprimés, notamment ceux codant pour des protéines LEA et des protéines de réserve. A 32 JAP alors que la contamination par Xcc progresse, on n'observe plus de gènes différentiellement exprimés. Nos résultats suggèrent la présence de mécanismes régulateurs permettant à la graine de moduler ses priorités entre poursuivre sa maturation ou lutter contre une bactérie phytopathogène.

emmanuel.terrasson@univ-angers.fr

L'analyse transcriptomique comparative de 5 tissues met en lumière des régulateurs clé du développement du grain de blé et leur réponse à l'azote et au soufre.

Jonathan Vincent, Isabelle Romeuf, Alicia Besson, Catherine Ravel, Zhanwu Dai, Marie Agier, Pierre Martre.

INRA, UMR1095 Genetique, Diversité et Ecophysiologie des céréales, 5 Chemin de Beaulieu, Clermont-Ferrand, F-63 039, Cedex 2, France (JV, IR, AB, CR, ZD, PM)
Université Blaise Pascal, UMR6158 CNRS LIMOS Laboratoire d'Informatique, de Modélisation et d'Optimisation des Systèmes, Aubière, F-63 173, France (JV, MA)

Le blé tendre (Triticum aestivum L) fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. C'est, avec plus de 600 millions de tonnes annuelles, la troisième céréale par l'importance de la récolte mondiale, et avec le riz, la plus consommée par l'homme (Source : International Grains Council). La compréhension à différentes échelles du développement du grain de blé permet d'améliorer la quantité et la qualité de la récolte dans différents environnements. L'étude globale de la spécificité tissulaire et/ou temporelle de l'expression des gènes et notamment des facteurs de transcription (FT) ainsi que leur régulation dépendante de la nutrition azotée et soufrée apportent de précieuses informations pour l'amélioration variétale.
L'expression de plus de 40 000 gènes dont près de 3 000 FT et leur programmation transcriptomique ont été observées dans 78 conditions différentes de tissue, temps et de nutrition grâce à plusieurs expériences de puce à ADN. Une vaste analyse transcriptomique comparative a ainsi été réalisée afin d'observer l'expression spécifiques des FT du blé en fonction du temps de développement et des conditions de nutrition. Une méthode d'inférence de réseaux novatrice a ensuite permis de mettre en évidence des régulateurs clé du développement du grain de blé et leur réponse au niveau de disponibilité en azote et en soufre. Un nombre restreint de FT a pu être mis en évidence par cette analyse. Ils feront l'objet d'une attention particulière dans la recherche pour l'amélioration variétale du blé.

jonathan.vincent@clermont.inra.fr

Phénotypage de la structure interne de légumineuses par imagerie multispectrale et chimiométrie

Benoît Jaillais, Dominique Bertrand

INRA, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, F-44300 Nantes, France (BJ)
F-44300 Nantes, France (DB)

Un des enjeux majeurs en agronomie est de cribler la variabilité naturelle présente dans les plantes, car l'utilisation de la transgénèse en France est réduite par la pression sociétale (consommation de produits non-ogm, destruction d'essais en champ…). Les objectifs de ce criblage sont de sélectionner des cultivars ayant des propriétés d'usages identifiées d'une part et, de plus d'imaginer de nouveaux usages alimentaires ou non à des cultivars particuliers.
De par leur teneur en protéines importante, les légumineuses sont des plantes dont l'amélioration génétique présente un regain d'intérêt (projet Européen LEGATO).La recherche de nouveaux caractères peut être envisagée par des méthodes non conventionnelles de phénotypage, de type « imagerie multispectrale ». Cette technique consiste à acquérir plusieurs images d'un même échantillon à plusieurs longueurs d'onde.
Dans ce travail, nous avons utilisé l'imagerie multispectrale couplée à la chimiométrie pour évaluer la variabilité phénotypique de la structure interne des légumineuses : pois, fèveroles et lupins (Figure 1). Pour chaque légumineuse, 10 cultivars ont été analysés avec, pour chacun, 10 graines coupées à mi-hauteur. Une bonne estimation de la variabilité intra-variétale a ainsi pu être obtenue pour les paramètres suivants : texture interne, critères de forme (aire, périmètre…) et de couleur. Des signatures spectrales des tissus internes de grain ont été établies et exploitées pour étiqueter les régions histologiques des graines entières.

benoit.jaillais@nantes.inra.fr

Analyse fonctionnelle d'un promoteur de gluténine de haut poids moléculaire (GluB1.1) chez le blé tendre en réponse à la disponibilité en azote et en soufre

Robin Michard, Julie Boudet, Marielle Merlino, Mireille Dardevet, Samuel Fiquet, Isabelle Nadaud, Anne Partier, Caroline Tassy, Pierre Martre, Catherine Ravel

Université Blaise Pascal, UMR1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales (GDEC), Complexe Universitaire des Cézeaux, 24 avenue des Landais, BP 80026, 63 171 Aubière, Cedex (RM, JB, MM, MD, SF, IN, AP, CT, PM, CR)
INRA, UMR1095 GDEC, 63 039 Clermont-Ferrand cedex 2 (RM, JB, MM, MD, SF, IN, AP, CT, PM, CR)

La teneur et la composition en protéines de réserve (PR) du grain sont les principaux déterminants de la valeur d'usage du blé. Les principales PR chez le blé sont les gluténines de haut (HMW-GS) et faible poids moléculaire (LMW-GS) et les gliadines constituant le gluten. La synthèse de ces protéines est essentiellement régulée au niveau transcriptionnel par la disponibilité en azote et en soufre. Chez les céréales, les principaux acteurs moléculaires (facteurs de transcription et cis-motifs) de cette régulation ont été identifiés. Actuellement, malgré des différences notables d'organisation entre les promoteurs des LMW-GS et des HMW-GS, une seule étude a été réalisée pour ces dernières. De plus, l'impact de la nutrition azotée et soufrée sur ce réseau de régulation transcriptionnelle est inconnu. L'analyse de la séquence du promoteur des principaux allèles des gènes de HMW-GS a mis en évidence trois Eléments Conservés de Régulation (ECR1, ECR2 et ECR3). Afin d'évaluer le rôle de ces ECRs dans la régulation transcriptionnelle de la synthèse des PR, une analyse par expression transitoire sur albumens immatures de blé soumis à différentes conditions de nutrition azotée et soufrée a été réalisée. L'activité de 743 pb (contenant ECR1, ECR2 et ECR3) du promoteur du gène codant la sous-unité Bx7 et de deux versions tronquées de 500 (contenant ECR2 et ECR3) et 397 (contenant ECR3) pb a été quantifiée par l'expression normalisée du gène rapporteur GUS. Les résultats montrent que les trois ECRs du promoteur sont activatrices ou répressives selon les conditions de nutrition. De plus, afin d'identifier les cis-motifs fonctionnels des différentes ECRs, des études d'interactions ADN–protéine in vitro ont été réalisées. Les résultats suggèrent que certains cis-motifs ne sont pas fonctionnels. Ces études permettent pour la première fois d'aborder la régulation transcriptionnelle des HMW-GS en réponse à la disponibilité en azote et en soufre.

julie.boudet@clermont.inra.fr

Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity Evaluation of 22 Flaxseeds (Linum usitatissimum L.) Cultivars Extract

Christophe Hano, Julie Lebas de Lacour, Cédric Decourtil, Sullivan Renouard, Joël Doussot, Frédéric Lamblin, Eric Lainé, Cyrielle Corbin

Equipe Lignanes de Linacées, Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC - EA 1207), Université d'Orléans, 21 Rue Loigny La Bataille, 28000 Chartres, FRANCE (CH, JLDC, CD, SR, JD, FL, EL, CC)

Flax (Linum usitatissimum L.) is mostly cultivated for its fiber and its seed oil. Flaxseed is also well known for its high lignan content, secondary metabolites with health benefits (phytoestrogenic and cancer chemopreventive properties). More recently, the antioxidant property of the secoisolariciresinol, the main lignan accumulated in flaxseed, has been demonstrated. Regarding the increased interest in natural anti-oxidant molecules sources, flax represents a very interesting candidate. Nevertheless, up to now flax cultivars are selected depending on their fiber quality or oil content and composition as well as other agronomical features such as their fusariose tolerance, seed maturity, seed color and sowing period, but never for their anti-oxidant compounds content. In order to characterize the natural antioxidant power of flaxseed phenolic compound, 22 common cultivars were investigated for their respective antioxidant power.

Phenolic compounds were first extracted from flax seeds by direct alkaline hydrolysis combined to ultrasonic treatments. Total phenolic compound contents of the extracts were determined by Folin-Ciocalteu method and some phenolic compounds were identified and quantified by HPLC and LC-ESI-MS analysis: the major phytochemicals being the glucosides of hydroxycinnamic acids (caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid), of one flavonol (herbacetin) and of the well known lignan secoisolariciresinol. The respective anti-oxidant activity of these 22 extracts was then evaluated using 4 tests recognised by the FDA (ABTS, CUPRAC, FRAP and ORAC) and the classically used DPPH test. The most of the tests were performed in microplates in order to reduce the extract volume required, to simplify, to dispose less time consuming experiments.

Agronomical, phytochemical and biological data were analysed by Pearson correlation. Hierarchical Clustering Analysis (HCA) revealed 3 mains groups. Principal component analysis (PCA) highlighted positive correlations between secoloisolariciresinol di-glucoside (SDG) content and CUPRAC results but also between ABTS test results and p-coumaric acid glucoside. Negative statistically significant correlations exist as for example between SDG and CUPRAC test results. These results suggest that stereoisomeric interactions between tested compounds present in the extracts and the test reagent itself could influence the measured antioxidant activity and hence should be taken into account in the evaluation process. Therefore we recommend the systematic use of several in vitro tests and their association to in silico and in cellulo antioxidant evaluation.

cyrielle.corbin@univ-orleans.fr

Dureté de l'albumen du blé et puroindolines

Khalil Elmorjani, Sandrine Tchoa, Caroline Tassy, Nathalie Geneix, Michèle Dalgalarrondo, Isabelle Nadeau, Pierre Barret, Gérad Branlard, Didier Marion

Unité Biopolymères Interactions Assemblages, La Géraudière, 44316 Nantes cedex 3 (KE, ST, NG, MD, DM)
UMR 1095 Génétique, diversité et écophysiologie des céréales, site de Crouël, 5 chemin de Beaulieu 63100 Clermont-Ferrand (CT, IN, PB, GB)

La dureté du grain de blé est un caractère fondamental qui détermine sa valeur d'usage. Elle se traduit par l'adhésion plus ou moins forte entre les granules d'amidon et la matrice protéique. Ce paramètre est intimement lié à l'absence (ou la mutation) ou la présence de petites protéines riches en ponts disulfure : les puroindolines. La présence des allèles des gènes spécifiant ces protéines sous forme sauvage (génotype Pina-D1a, Pinb-D1a) conduirait à une moindre adhésion de la matrice protéique aux granules d'amidon alors que les formes tronquées ou mutées de ces allèles se traduit par une plus forte adhésion entre matrice et granules. Pour étudier l'impact d'une synthèse accrue de ces protéines sur la texture de l'albumen, le gène pin-a (soft) et le gène pin-b (spécifiant une puroindoline b avec une mutation S46 : Gly 46 responsable du phénotype hard), ont été mis sous le contrôle du promoteur HPM (gluténines de haut poids moléculaire) et introduits dans la variété Courtot (Hard). 5 transformants surexprimant la puroindoline-a (ainsi que le null-segregant correspondant) et 8 surexprimant la puroindoline-b et le null-segregant correspondant, présentant des niveaux d'expression différents, ont été choisis pour cette étude. Les analyses des teneurs en protéines de ces différents transformants ne montrent pas de différence significatives. De même, les résultats obtenus montrent que ni les quantités de lipides ni leur nature ne sont impactées par cette sur-expression. En revanche, la taille des polymères (gluténines de haut poids moléculaire) est accrue chez les lignées transformées et la relation dureté/puroindolines est plus complexe qu'attendu. En effet, si la surexpression de pin-a dans un fond génétique hard (Courtot) se traduit par une diminution drastique de cette dureté, comme c'était attendu, la surexpression de la forme hard de pin-b n'accentue en aucun cas ce caractère hard de Courtot. Ces résultats seront présentés et discutés en relation avec le contexte du développement de l'albumen du blé et de la mort cellulaire.

Khalil.El-Morjani@nantes.inra.fr

A la recherche de l'allèle perdu du gène Nam-B1 chez le blé tendre pour améliorer la qualité nutritionnelle

Jenny Hagenblad, Florence Exbrayat, M. Dardevet, Linnéa Asplund, Matti W. Leino, F. Balfourier, Catherine Ravel

Department of Biology, Norwegian University of Science and Technology, 7491 Trondheim, Norway (JH)
IFM-Biology, Linköping University, 581 83 Linköping, Sweden (MWL)
Department of Crop Production Ecology, Swedish University of Agricultural Sciences, 750 07 Uppsala, Sweden (LA)
INRA, UMR1095 Génétique, Diversité and Ecophysiologie des Céréales, 5 chemin de Beaulieu, 63 039 Clermont-Ferrand cedex 2 (FE, MD, FB, CR)
Université Blaise Pascal, UMR1095 GDEC, 63 170 Aubière cedex (FE, MD, FB, CR)

Le blé est à la base de l'alimentation humaine. Améliorer sa qualité nutritionnelle est un enjeu important pour la santé du consommateur. Chez le blé, un QTL a été détecté sur le chromosome 6B pour la teneur en protéines, fer et zinc du grain, composantes nutritionnellement importantes (50% de la population humaine est carencée en fer et/ou zinc). Le gène candidat de ce QTL, Nam-B1, code un facteur de transcription qui accélère la sénescence, accroit la remobilisation de l'azote, du fer et du zinc vers le grain. Ce gène présente trois allèles principaux. Seule la forme sauvage, détectée pour la première fois chez le blé tendre en 2010, est fonctionnelle et accroit la valeur nutritionnelle du grain. Les formes non fonctionnelles correspondent soit à l'insertion d'une base dans la séquence codante modifiant le cadre de lecture, soit à une délétion du gène. La répartition et la fréquence de l'allèle sauvage ont été établies dans la core collection INRA (367 lignées représentatives de la variabilité mondiale de blé tendre) et dans 138 accessions de blés de printemps originaires de régions nordiques. Dans la core collection, les allèles non fonctionnels sont majoritaires et seulement cinq accessions (1,4%), essentiellement des blés de printemps du nord de l'Europe ou du sud de la Pologne, ont l'allèle fonctionnel. La seconde source de matériel confirme l'origine de cet allèle présent dans 33% des accessions, notamment dans des land-races suédoises, danoises, finlandaises ou norvégiennes. L'allèle sauvage se serait donc maintenu au nord de l'Europe où probablement il confère un avantage lié à une sénescence plus rapide, favorable dans ces régions où le cycle de développement est court. Cet allèle retrouvé pourrait permettre d'améliorer la qualité nutritionnelle du blé tendre. Des efforts sont en cours afin de l'introduire dans des lignées élites par des croisements intra-spécifiques.

catherine.ravel@clermont.inra.fr

Comprendre et prédire le comportement à la rupture de l'albumen du grain de blé

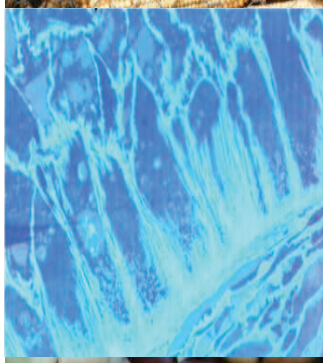
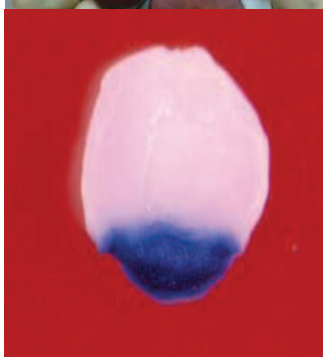
Emna Chichti, Mathieu George, Jean-Yves Delenne, Fahrang Radjaï, Valérie Lullien-Pellerin

1. INRA, UMR 1208, Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, 34060 Montpellier Cedex 01 ((EC, JYD, VLP)
2. Institut Charles Coulomb, UMR 5221, CNRS-UM2, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 5 ((MG)
3. Laboratoire de Mécanique et de Génie Civil, LMGC, UMR 5508, UM2, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 5

Le comportement à la rupture de l'albumen amylacé du grain de blé, tissu majoritaire et d'intérêt pour son usage alimentaire, joue un rôle déterminant sur les énergies dépensées au broyage lors des opérations de fractionnement, les rendements en farines ou semoules issues, ainsi que sur les propriétés des produits, notamment la teneur en amidon endommagé. L'expérimentation montre que ce comportement dépend à la fois de l'origine génétique des blés, en particulier la région Ha du chromosome 5D chez le blé tendre, qui influe sur la dureté des grains, mais aussi des conditions environnementales. L'albumen amylacé est composé majoritairement de granules d'amidon, de différentes tailles et formes, enchâssés dans une matrice protéique, appelée gluten, et peut être assimilé à un matériau de type « granulaire cohésif ». Un modèle numérique a été développé pour identifier les facteurs clés de son comportement mécanique au cours du fractionnement. Ce modèle a permis de souligner des différences de comportement en fonction des forces d'adhésion à l'interface amidon/gluten et de la porosité. Cependant, il reste limité par le peu d'informations sur les propriétés mécaniques des différentes phases (particules et matrice) et de l'interface. Par une approche originale, utilisant la Microscopie à Force Atomique (AFM), nous avons réussi à démontrer une différence marquée des propriétés mécaniques (dureté et coefficient de frottement) des constituants (amidon et gluten) composant l'albumen, contrairement à ce qui était déduit de la littérature. Les propriétés de l'interface entre granules d'amidon et réseau protéique ont ensuite été recherchées, in situ, au sein des grains à l'aide de lignées quasi-isogéniques pour la dureté qui présentent un comportement mécanique distinct. Ces propriétés vont permettre d'affiner le modèle numérique pour prédire le comportement à la rupture de l'albumen et les propriétés des fractions.

lullien@supagro.inra.fr

Liste des participants

	Nom	Prénom	Organisme	Libellé Unité	Ville	Email
1	**Akary**	Elodie	INRA	IJPB	Versailles	elodie.akary@versailles.inra.fr
2	**Alvarez**	David	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	david.alvarez@clermont.inra.fr
6	**Bancel**	Emmanuelle	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	emmanuelle.bancel@clermont.inra.fr
7	**Baud**	Sébastien	INRA	IJPB	Versailles	sebastien.baud@versailles.inra.fr
13	**Bonnot**	Titouan	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	titouan.bonnot@clermont.inra.fr
14	**Bouchez**	Isabelle	INRA	IJPB	Versailles	isabelle.bouchez@versailles.inra.fr
15	**Boudet**	Julie	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	julie.boudet@clermont.inra.fr
17	**Branlard**	Gérard	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	branlard@clermont.inra.fr
18	**Buitink**	Julia	INRA	IRHS	Angers	julia.buitink@angers.inra.fr
20	**Caboche**	Michel	INRA	IJPB	Versailles	caboche@versailles.inra.fr
22	**Chardot**	Thierry	INRA	IJPB	Versailles	thierry.chardot@versailles.inra.fr
23	**Chateigner-Boutin**	Anne-Laure	INRA	BIA	Nantes	Anne-Laure.Chateigner-Boutin@nantes.inra.fr
32	**Dardevet**	Mireille	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	mireille.dardevet@clermont.inra.fr
33	**Darmency**	Mona	INRA	Agroécologie	Dijon	mona.darmency@dijon.inra.fr
34	**Debeaujon**	Isabelle	INRA	IJPB	Versailles	isabelle.debeaujon@versailles.inra.fr
35	**Deruyffelaere**	Carine	INRA	IJPB	Versailles	carine.deruyffelaere@versailles.inra.fr
37	**Duc**	Gérard	INRA	Agroécologie	Dijon	gerard.duc@dijon.inra.fr
39	**Elmorjani**	Khalil	INRA	BIA	Nantes	Khalil.El-Morjani@nantes.inra.fr
40	**Fardet**	Anthony	INRA	UNH	Saint-Genès-Champanelle	anthony.fardet@clermont.inra.fr
41	**Faye**	Annie	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	afaye@clermont.inra.fr
44	**Francin-Allami**	Mathilde	INRA	BIA	Nantes	Mathilde.Allami@nantes.inra.fr
45	**Gallardo**	Karine	INRA	Agroécologie	Dijon	karine.gallardo@dijon.inra.fr
47	**Gayral**	Mathieu	INRA	BIA	Nantes	mathieu.gayral@nantes.inra.fr
51	**Grand-Ravel**	Catherine	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	catherine.ravel@clermont.inra.fr
52	**Grimault**	Aurélie	INRA	ENS	Lyon	aurelie.grimault@ens-lyon.fr
53	**Guerche**	Philippe	INRA	IJPB	Versailles	philippe.guerche@versailles.inra.fr
56	**Ingram**	Gwyneth	INRA	ENS	Lyon	Gwyneth.Ingram@ens-lyon.fr
57	**Jacques**	Marie-Agnès	INRA	IRHS	Beaucouzé	marie-agnes.jacques@angers.inra.fr
58	**Jaillais**	Benoît	INRA	BIA	Nantes	benoit.jaillais@nantes.inra.fr
59	**Jasinski**	Sophie	INRA	IJPB	Versailles	sophie.jasinski@versailles.inra.fr
62	**Jolivet**	Pascale	INRA	IJPB	Versailles	Pascale.Jolivet@versailles.inra.fr
66	**Larre**	Colette	INRA	BIA	Nantes	colette.larre@nantes.inra.fr
69	**Lecomte**	Christophe	INRA	Agroécologie	Dijon	christophe.lecomte@dijon.inra.fr
70	**Le Signor**	Christine	INRA	Agroécologie	Dijon	clesignor@dijon.inra.fr
73	**Leclerc**	Pierre	INRA	Agroécologie	Dijon	
76	**Lullien-Pellerin**	Valérie	INRA	IATE	Montpellier	lullien@supagro.inra.fr
79	**Marion**	Didier	INRA	BIA	Nantes	didier.marion@nantes.inra.fr
80	**Marion-Poll**	Annie	INRA	IJPB	Versailles	Annie.Marion-poll@versailles.inra.fr

81	**Marmagne**	Anne	INRA	GDEC	Versailles	anne.marmagne@versailles.inra.fr
82	**Martre**	Pierre	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	pierre.martres@clermont.inra.fr
87	**Merlino**	Marielle	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	mmerlino@clermont.inra.fr
92	**Noguero**	Mélanie	INRA	Agroécologie	Dijon	melanie.noguero@dijon.inra.fr
93	**Ochatt**	Sergio	INRA	Agroécologie	Dijon	sergio.ochatt@dijon.inra.fr
95	**Perrochon**	Sibille	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	sibille.perrochon@clermont.inra.fr
96	**Poignavent**	Germain	INRA	Agroécologie	Dijon	germain.poignavent@dijon.inra.fr
99	**Rajjou**	Loïc	INRA	IJPB	Versailles	loic.rajjou@agroparistech.fr
101	**Reisdorf-Cren**	Michèle	INRA	IJPB	Versailles	michele.cren@versailles.inra.fr
102	**Renault**	Ivonne	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	ivonne.renault@clermont.inra.fr
106	**Rossin**	Nadia	INRA	Agroécologie	Dijon	nadia.rossin@dijon.inra.fr
107	**Roux**	Camille	INRA	IJPB	Versailles	caroux@versailles.inra.fr
109	**Sanchez**	Myriam	INRA	Agroécologie	Dijon	myriam.sanchez@dijon.inra.fr
110	**Sechet**	Julien	INRA	IJPB	Versailles	julien.sechet@versailles.inra.fr
114	**Thompson**	Richard	INRA	Agroécologie	Dijon	thompson@dijon.inra.fr
115	**Vernoud**	Vanessa	INRA	Agroécologie	Dijon	vanessa.vernoud@dijon.inra.fr
116	**Vincent**	Jonathan	INRA	GDEC	Clermont-Ferrand	jonathan.vincent@clermont.inra.fr