



RÉPUBLIQUE  
FRANÇAISE

*Liberté  
Égalité  
Fraternité*



AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE

ANR INRAE

# Simply SUCSEED: Stopping the Use of -Cides in SEEDs by proposing alternatives

Jean-Luc Cacas

Institut Jean-Pierre Bourgin, Centre INRAE Versailles-Saclay

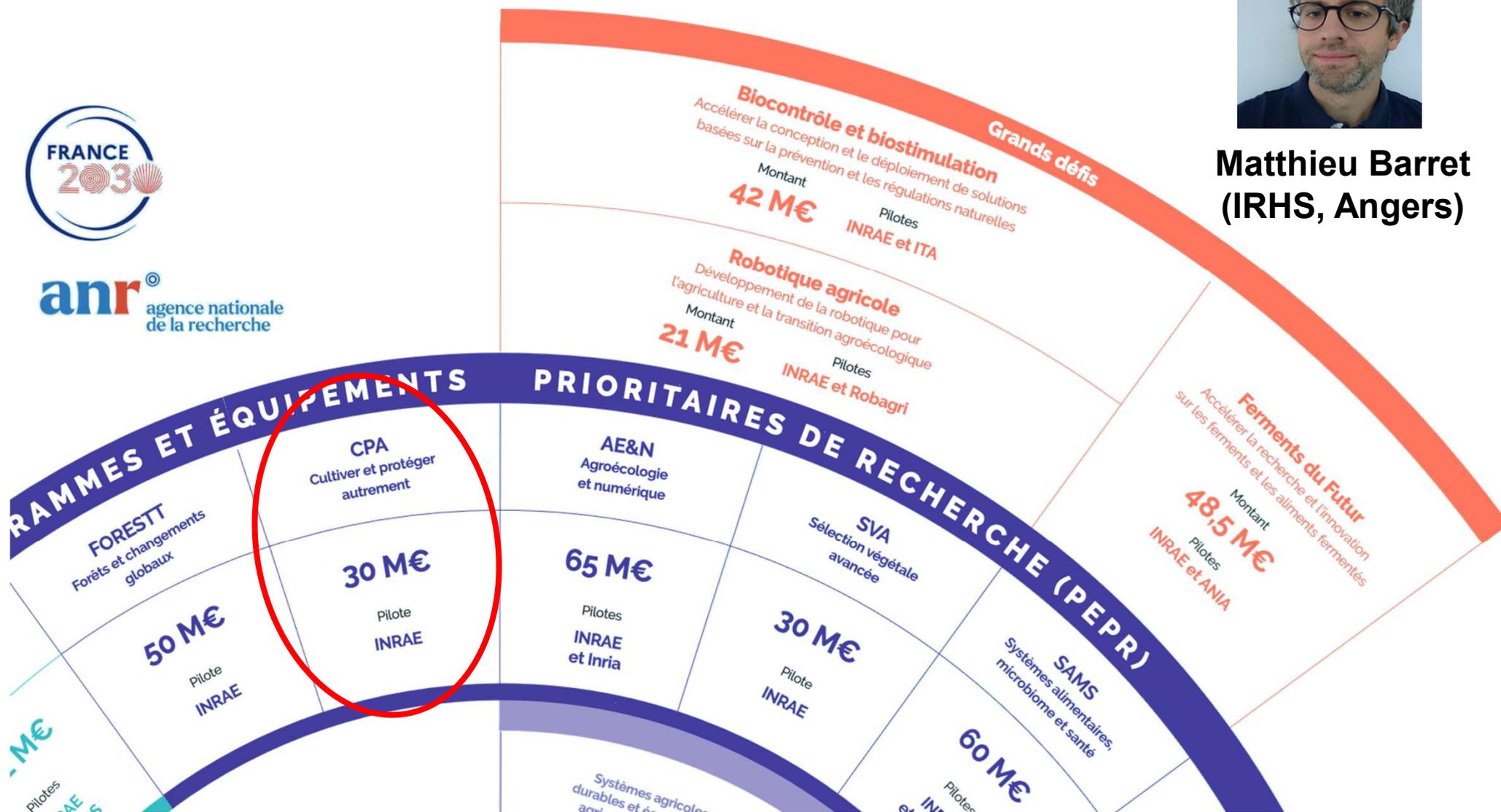


CULTIVER  
PROTÉGER  
*autrement*

# SUCSEED, Stopping the Use of -Cides in SEEDs by proposing alternatives



Matthieu Barret  
(IRHS, Angers)



# Le consortium SUCSEED

## PARTENAIRES ACADEMIQUES



Institut de Recherche en Horticulture et Semences (Angers)



Institut Jean-Pierre Bourgin (Versailles)



Génétique Diversité Ecophysiologie des Céréales (Clermont Fd)



Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (Rennes)



Institut des Sciences des Plantes - Paris-Saclay (Paris)



Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure (Paris)



Micro et Nanomédecine translationnelle (Angers)



Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (Avignon)



Science Action Développement - Activités Produits Territoires (Paris)



Institut de Recherche en Propriété Intellectuelle (Paris)



Clermont Recherche Management (Clermont Fd))

## ASSOCIATIONS



Union Française des semenciers



Syndicat professionnel du marché d'intrant agricole



International Biocontrol manufacturer association



Groupe d'Etude et de contrôle des Variétés Et des Semences



## SECTEUR PRIVE



FRAYSSINET



@SUCSEED\_Project



SUCSEED

@SUCSEED\_Project Follows you

SUCSEED project funded by PPR-CPA - French ANR / Seeds as vectors of alternative solutions to pesticides Seed Biology | Microbiome | Seed Tech | Regulation

Joined September 2020

122 Following 51 Followers

# Marché des semences

## Un enjeu économique en France



**1<sup>er</sup> producteur  
en Europe**



**12.000  
emplois**

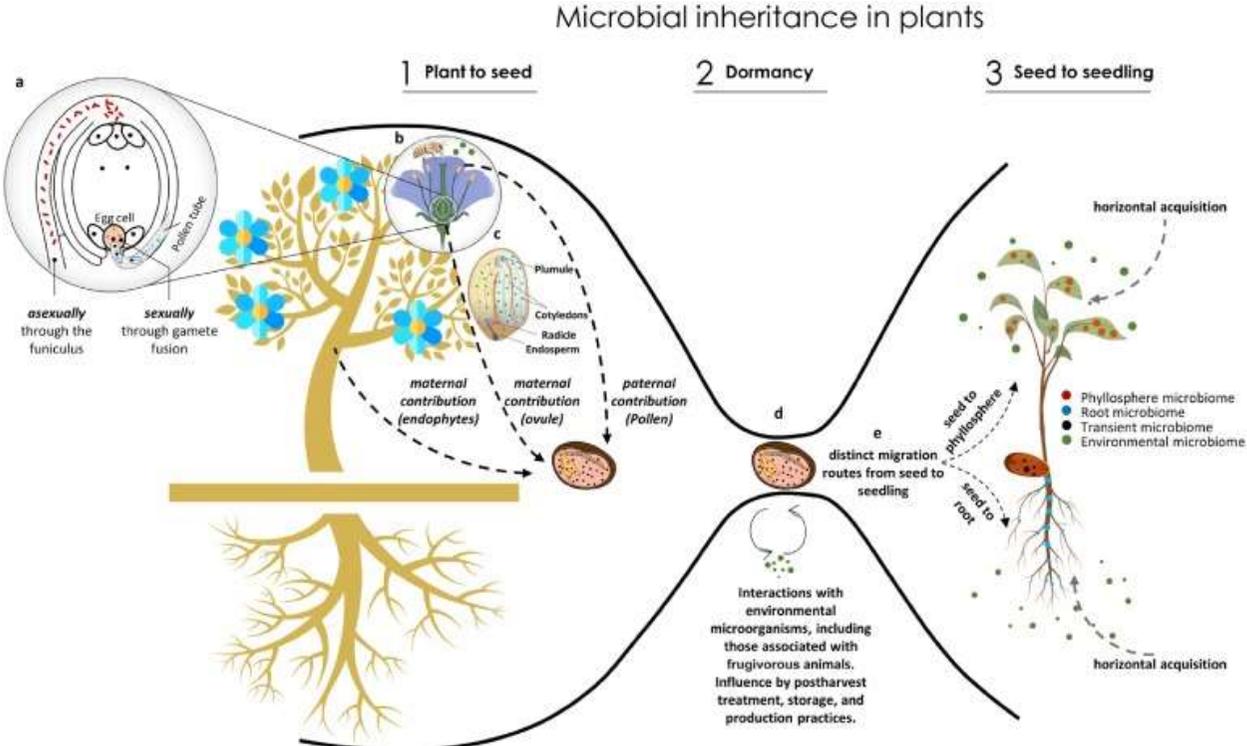


**Leader mondial à  
l'export**

# Les deux problématiques majeures du projet SUCSEED

## Transmission des agents pathogènes à la graine et par la graine

## Fonte de semis



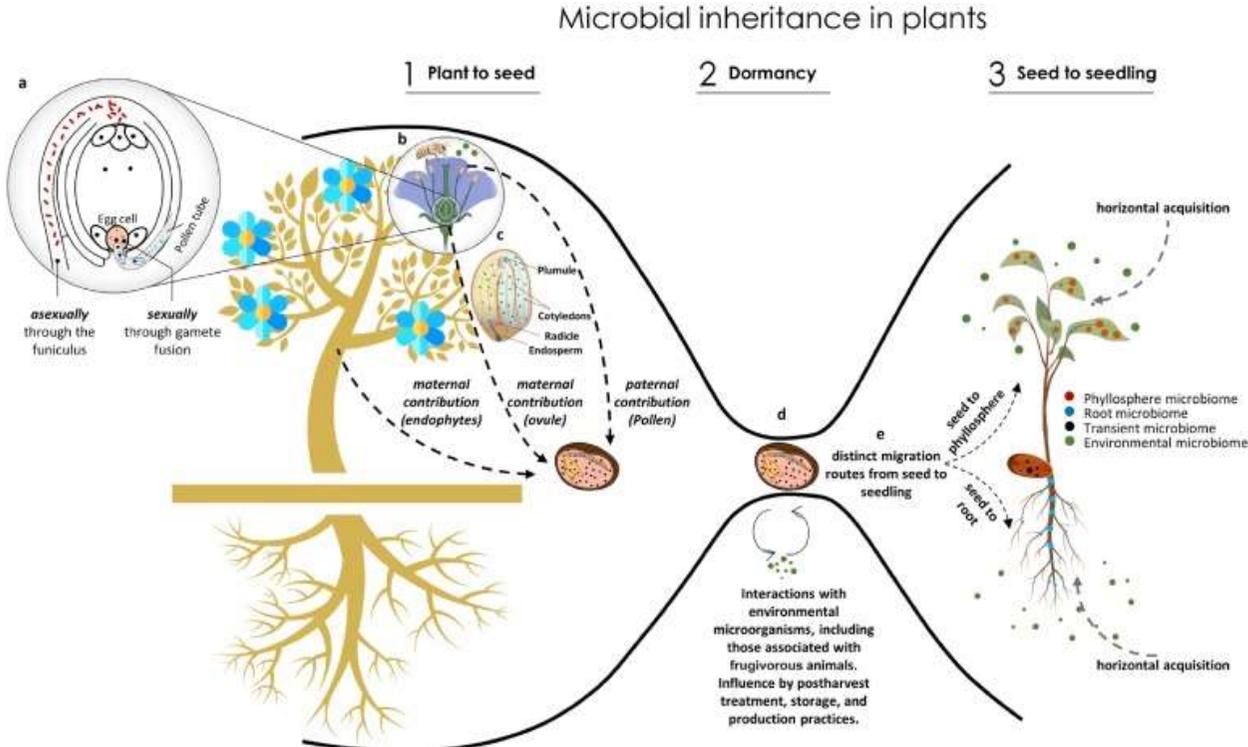
Abdelfattah et al. (2023). Trends in Microbiology.



Incidence sur l'établissement / rendement: 5-80% (Lamichhane 2017)

# Les deux problématiques majeures du projet SUCSEED

## Transmission des agents pathogènes à la graine et par la graine



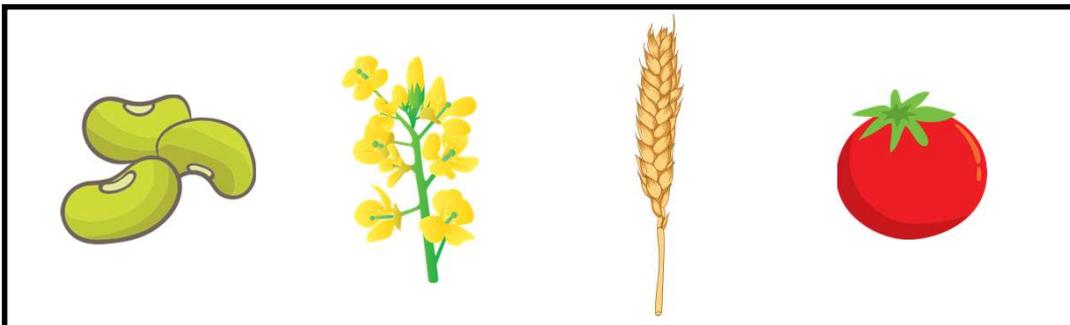
Abdelfattah et al. (2023). Trends in Microbiology.

Trends in Microbiology

## Fonte de semis



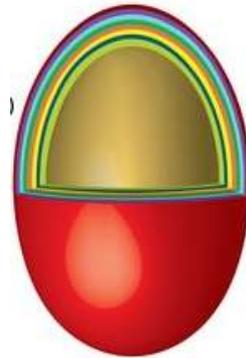
Incidence sur l'établissement / rendement: 5-80% (Lamichhane 2017)



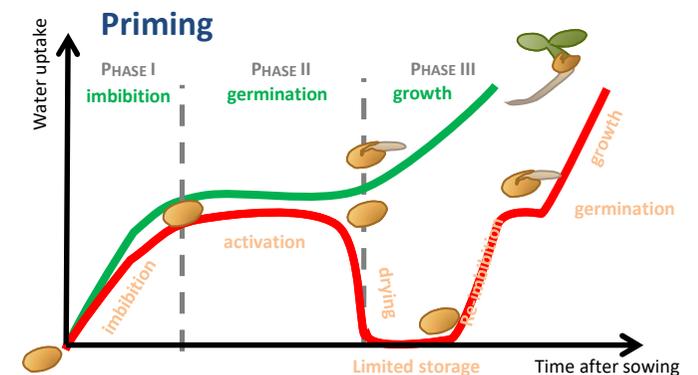
# Technologies de traitement des semences

## Enrobage, péliculage et « priming »

Global Seed Treatment Market (US\$ Billion), 2017 to 2025



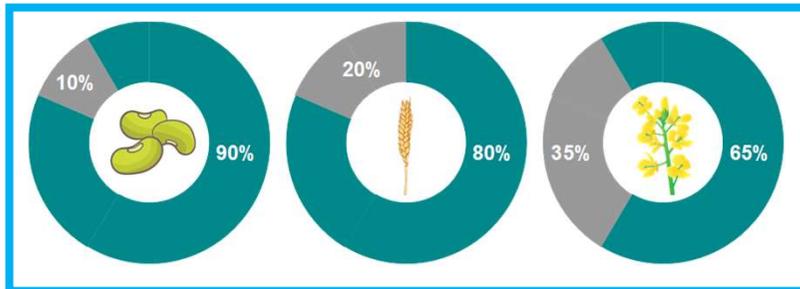
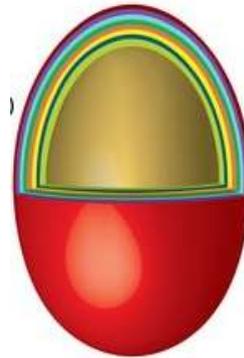
- Fongicides
- Insecticides
- Fertilisants (NPKS)
- Biostimulants
- Naturally-occurring substances
- Microorganismes
- Colorants
- Polymères (liants, encapsulation)



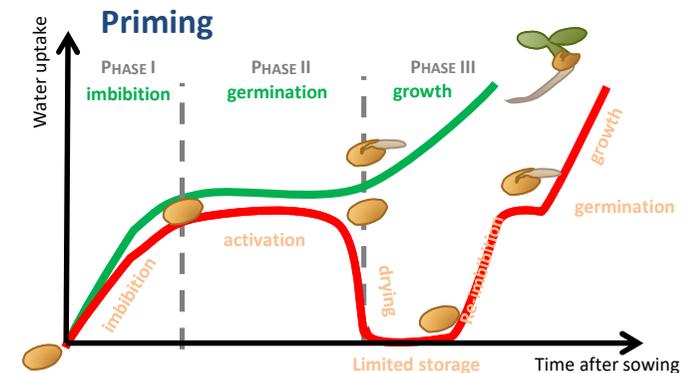
# Technologies de traitement des semences

## Enrobage, péliculage et « priming »

Global Seed Treatment Market (US\$ Billion), 2017 to 2025



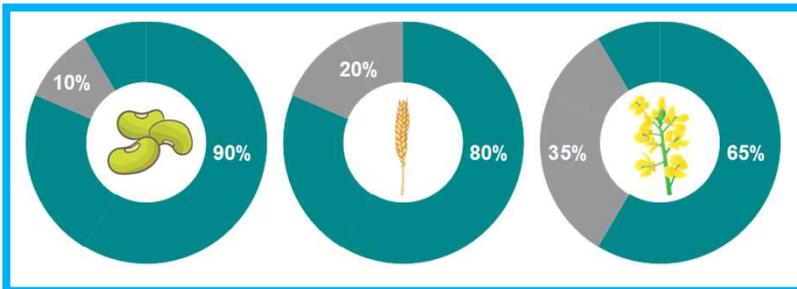
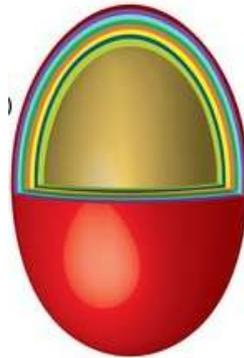
- Fongicides
- Insecticides
- Fertilisants (NPKS)
- Biostimulants
- Naturally-occurring substances
- Microorganismes
- Colorants
- Polymères (liants, encapsulation)



# Technologies de traitement des semences

## Enrobage, péliculage et « priming »

Global Seed Treatment Market (US\$ Billion), 2017 to 2025

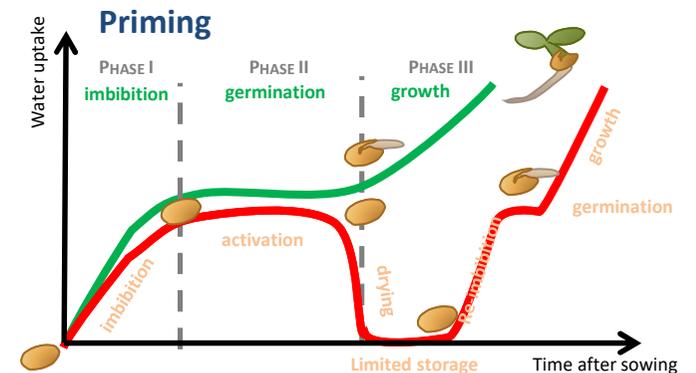


- Fongicides
- Insecticides
- Fertilisants (NPKS)

- Biostimulants
- Naturally-occurring substances
- Microorganismes

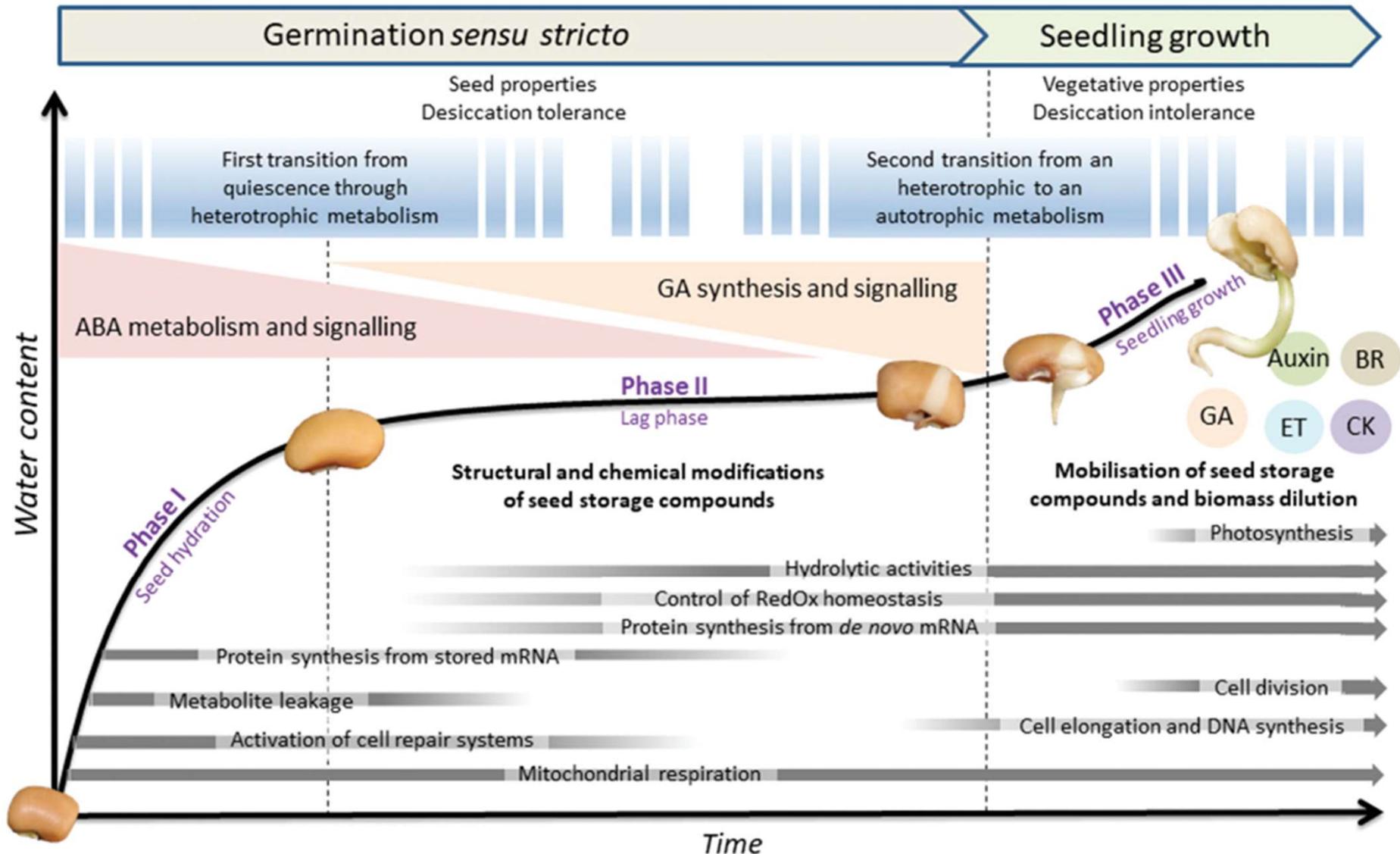
- Colorants
- Polymères (liants, encapsulation)

**BIOCONTROLE**



# Physiologie de la germination & spermosphère

Le succès en agriculture dépend de la qualité des graines et des performances de germination.



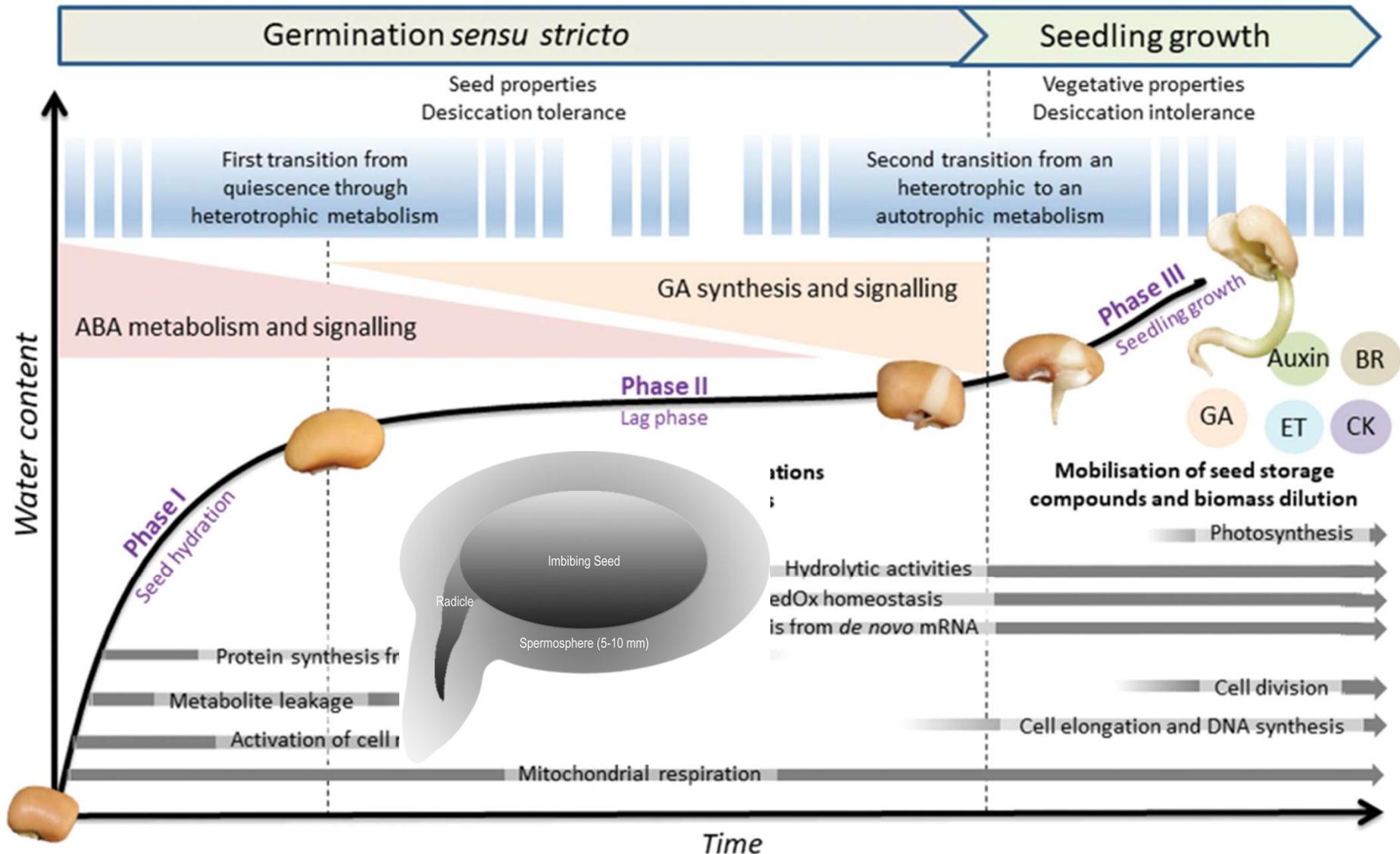
Reed et al (2022). Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. *Heredity*, 1-10.

Finch-Savage WE & Bassel GW (2016). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *J. exp. Bot.* 67, 567-591.

Rajjou et al (2012). Seed germination and vigor. *Annual review of plant biology*, 63, 507-533.

# Physiologie de la germination & spermosphère

Le succès en agriculture dépend de la qualité des graines et des performances de germination.

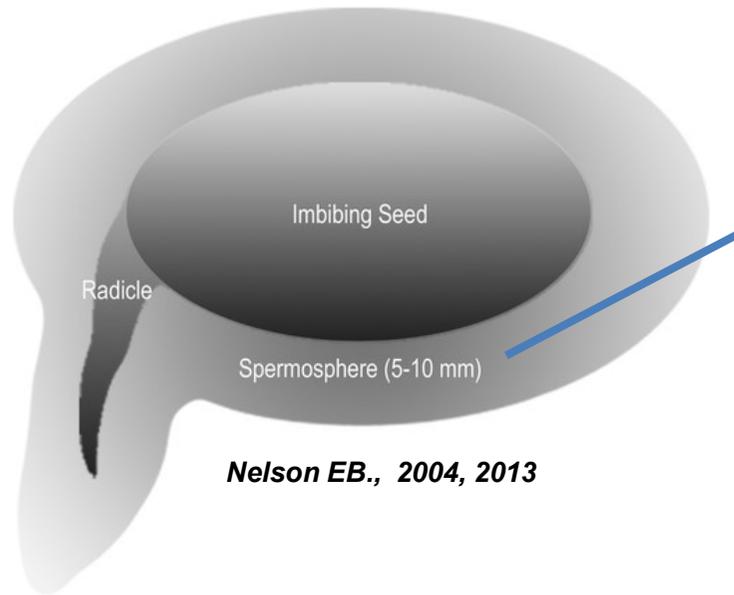


Reed et al (2022). Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. *Heredity*, 1-10.

Finch-Savage WE & Bassel GW (2016). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *J. exp. Bot.* 67, 567-591.

Rajjou et al (2012). Seed germination and vigor. *Annual review of plant biology*, 63, 507-533.

# Des solutions innovantes inspirées de / provenant de la graine et de la spermosphère pour...



## Micro-organismes

- Bénéfiques
- Pathogènes
- Neutres

## Molécules exsudées

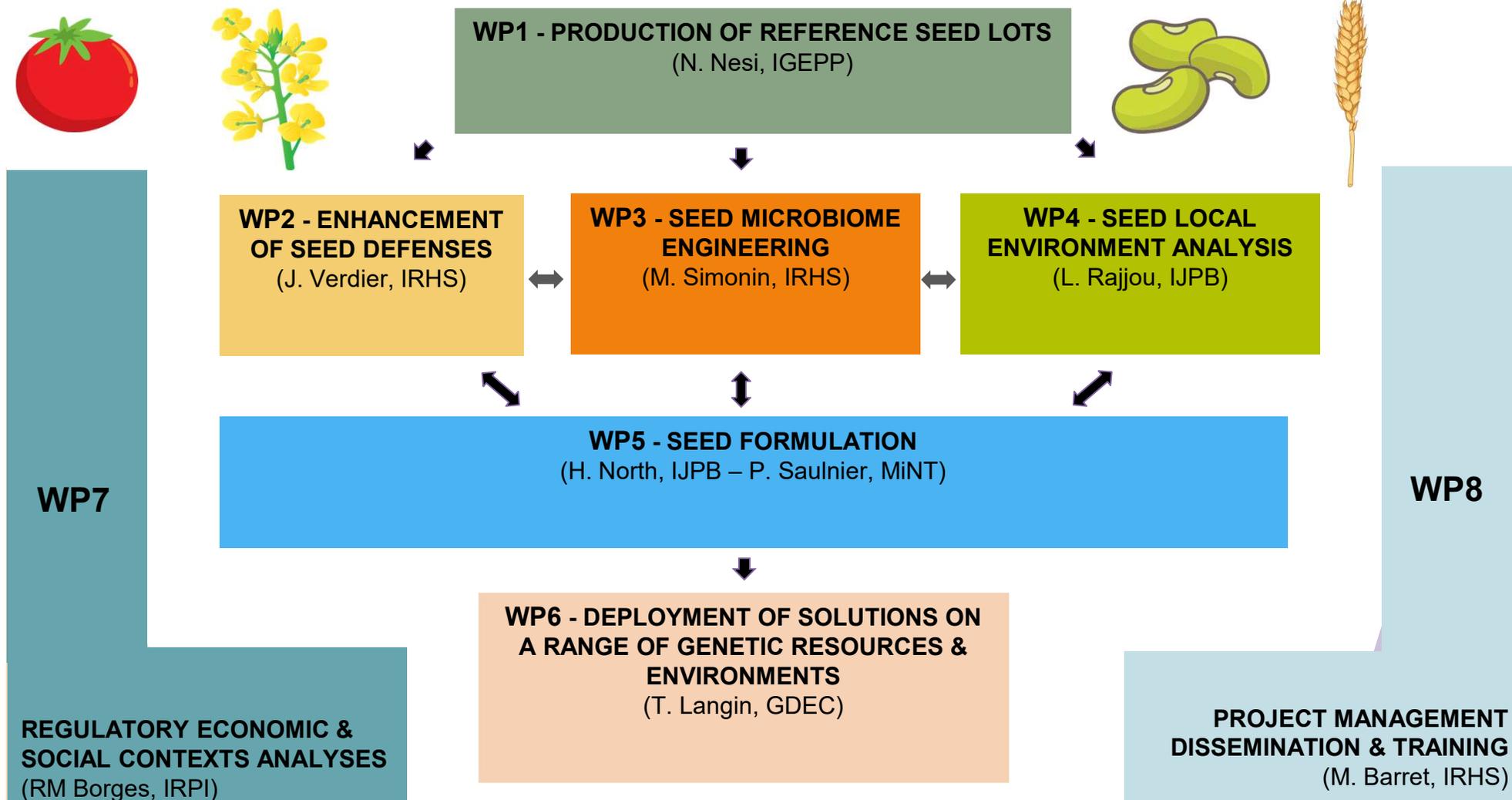
- ARN
- ncARN (miARN)
- Protéines
- Peptides
- Sucres
- Métabolites spécialisés

**1. Manipuler l'immunité des semences**

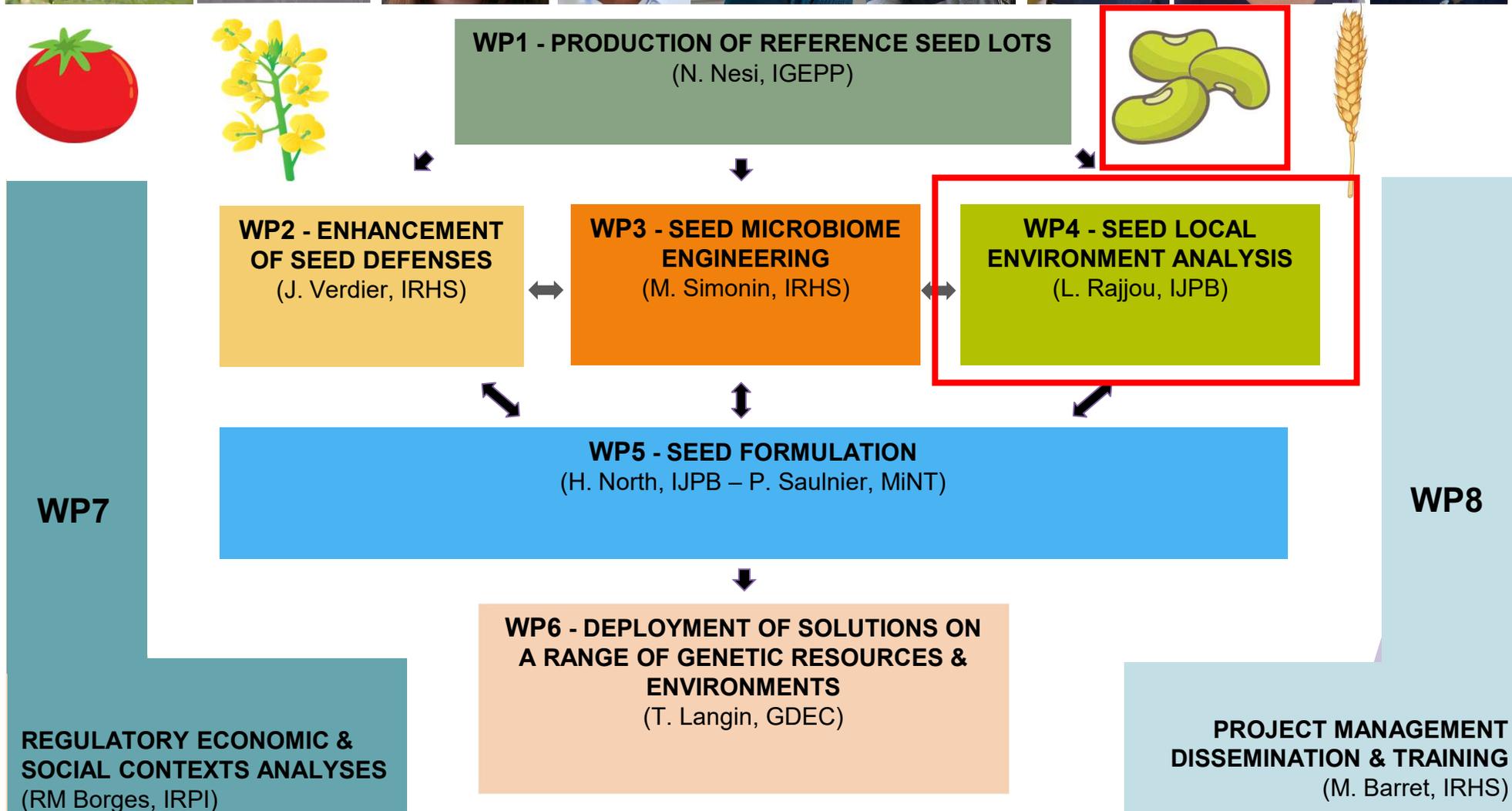
**2. Piloter le microbiote des semences**

**3. Exploiter la diversité des molécules sécrétées par les graines lors de la germination**

# Organisation du projet SUCSEED



# Organisation du projet SUCSEED



# Comment la graine façonne-t-elle son microbiote au cours de la germination ?

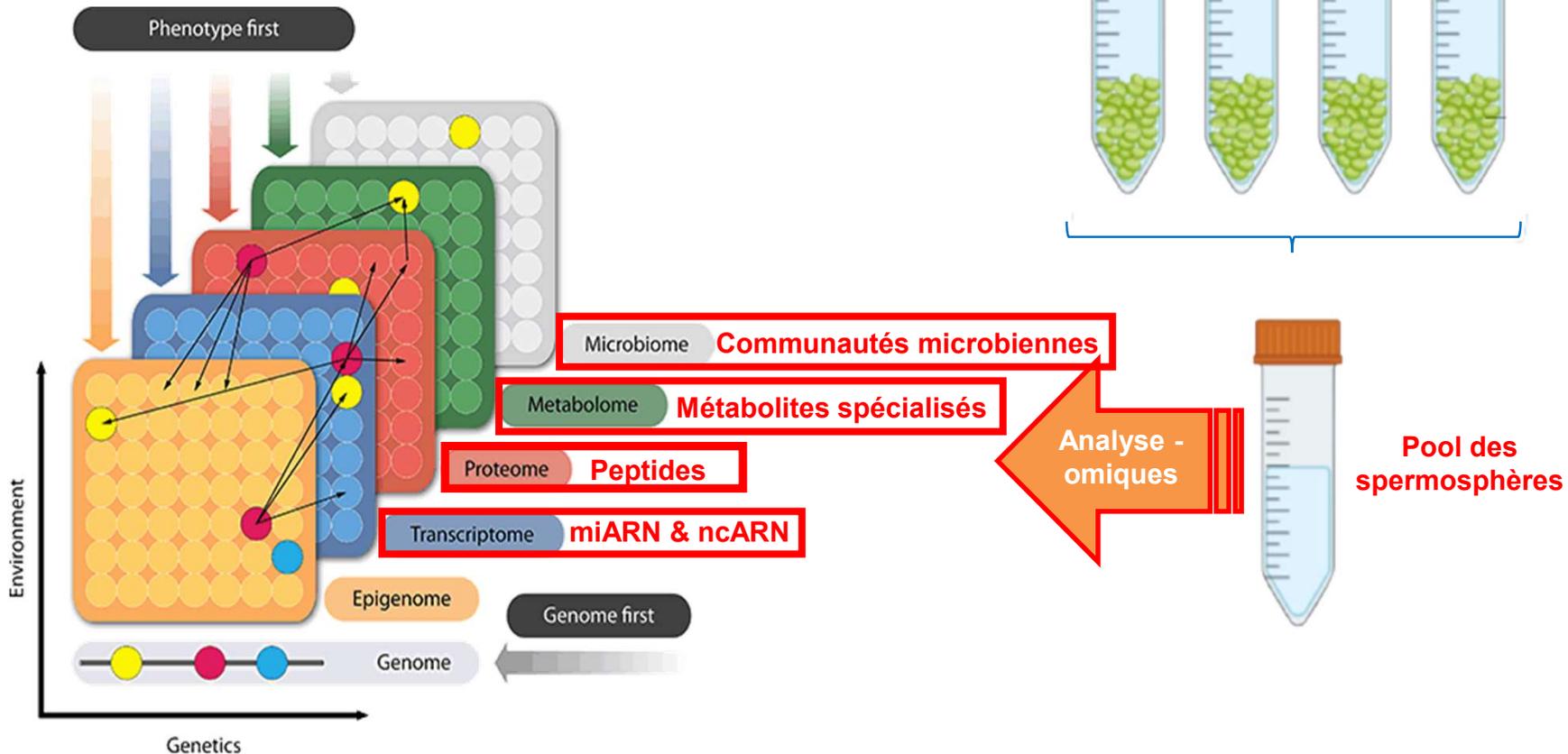
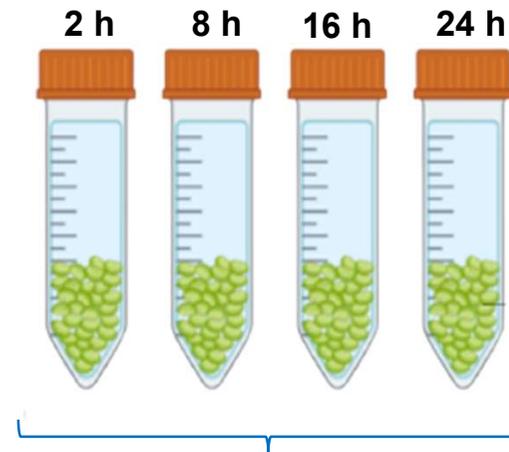


8 géotypes de haricot commun (*Phaseolus vulgaris*)



2 sites de production de graines

## Cinétique d'exsudation (graines non stériles)



C. Saccaram (IJPB)



B. Collet (IJPB)



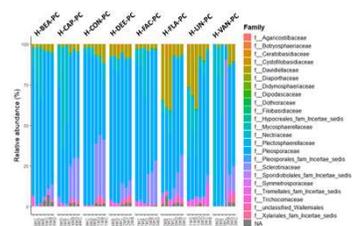
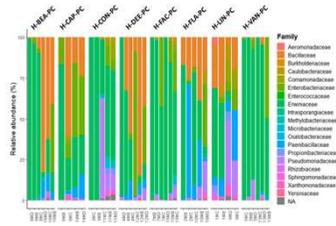
T. François (IJPB)



C. Brosse (IJPB)

# Structure des communautés microbiennes de la spermosphère de haricot

Effets géotypes, site de production des graines et leur interaction

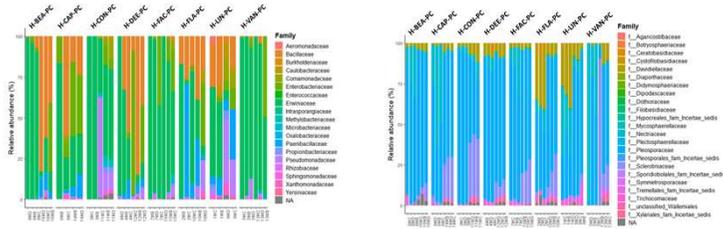


Metabarcoding

Variance R <sup>2</sup>	Bacteria	Fungi
Génotype	22.9%	18.7%
Site de production	8.9%	43.1%
Génotype x Site	21.3%	18.2%

# Structure des communautés microbiennes de la spermosphère de haricot

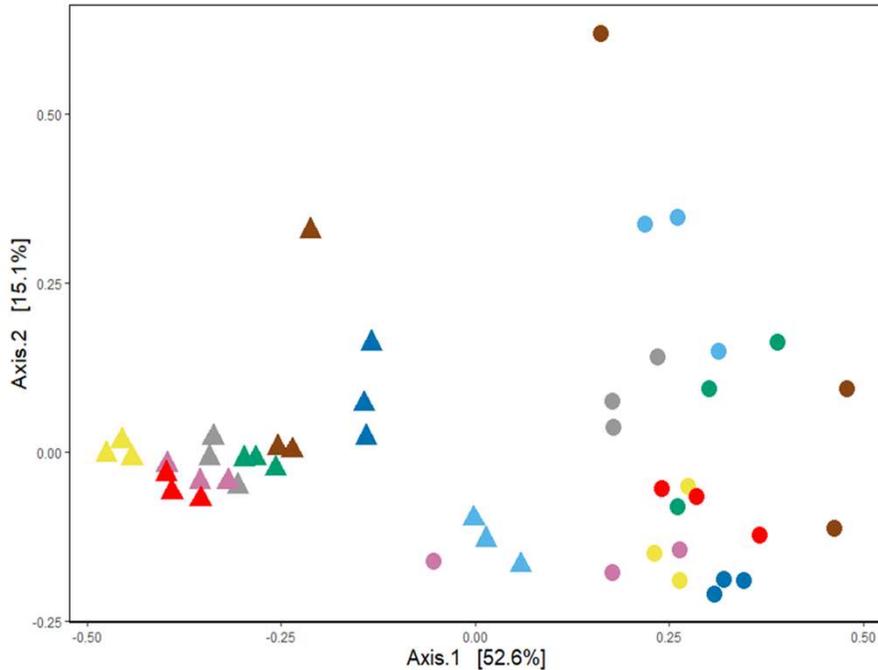
Effets géotypes, site de production des graines et leur interaction



Metabarcoding

Variance R <sup>2</sup>	Bacteria	Fungi
Géotype	22.9%	18.7%
Site de production	8.9%	43.1%
Géotype x Site	21.3%	18.2%

## Champignons (oPCA)



M. Simonin (IRHS)

### Genotype

- H-BEA-PC
- H-CAP-PC
- H-CON-PC
- H-DEE-PC
- H-FAC-PC
- H-FLA-PC
- H-LIN-PC
- H-VAN-PC

### Location

- Gers
- △ Maine et Loire

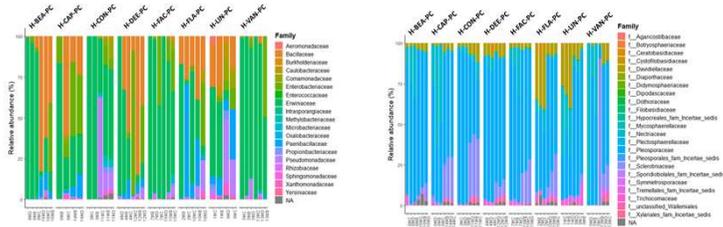
La composition des communautés fongiques de la spermosphère est fortement influencée par le lieu de production des graines.



Coralie Marais (IRHS)

# Structure des communautés microbiennes de la spermosphère de haricot

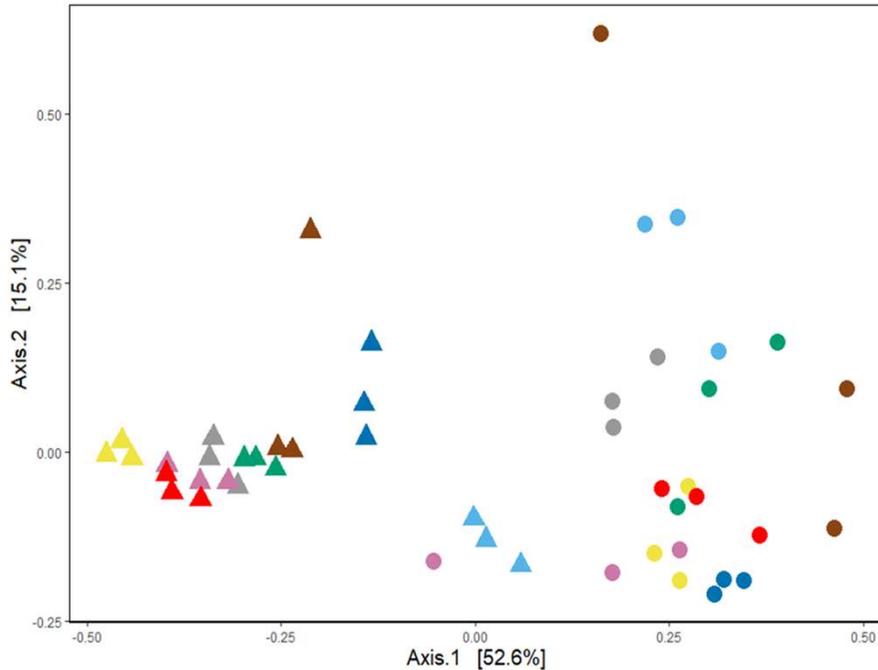
Effets géotypes, site de production des graines et leur interaction



Metabarcoding

Variance R <sup>2</sup>	Bacteria	Fungi
Géotype	22.9%	18.7%
Site de production	8.9%	43.1%
Géotype x Site	21.3%	18.2%

Champignons (oPCA)



M. Simonin (IRHS)

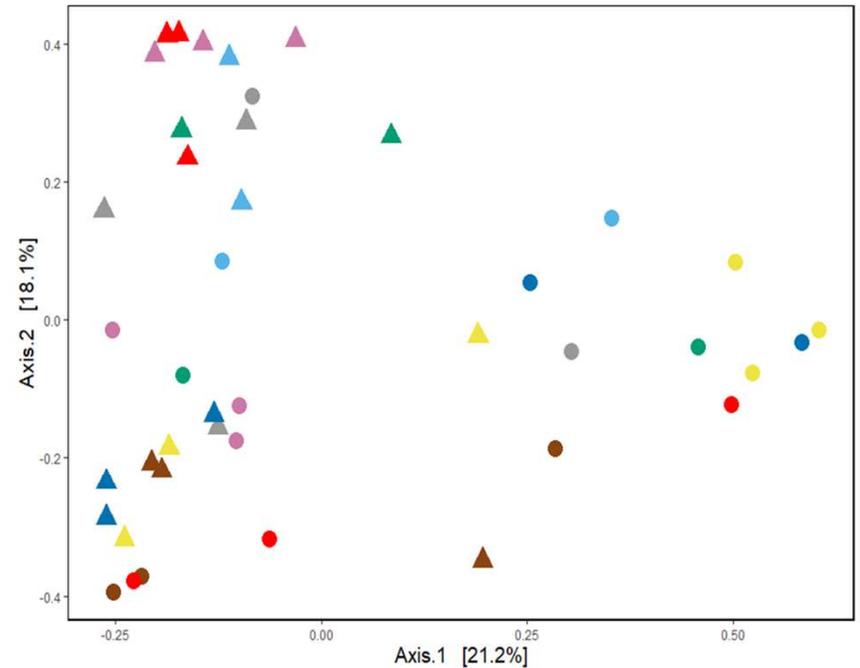
Genotype

- H-BEA-PC
- H-CAP-PC
- H-CON-PC
- H-DEE-PC
- H-FAC-PC
- H-FLA-PC
- H-LIN-PC
- H-VAN-PC

Location

- Gers
- △ Maine et Loire

Bactéries (oPCA)



La composition des communautés fongiques de la spermosphère est fortement influencée par le lieu de production des graines.



Coralie Marais (IRHS)

La composition des communautés bactériennes de la spermosphère est influencée par des facteurs indéterminés.





S. Boutet  
(IJPB)

# Une grande diversité chimique révélée dans la spermosphère de haricot

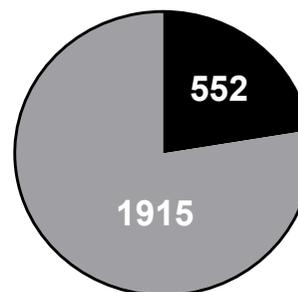


M. Corso  
(IJPB)



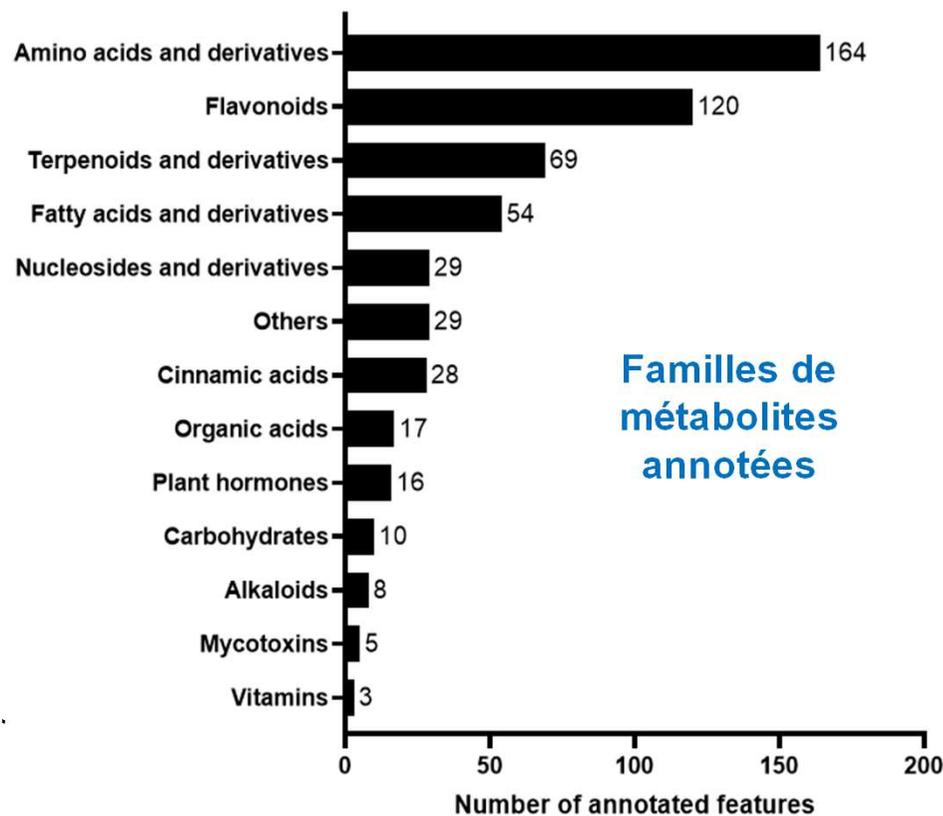
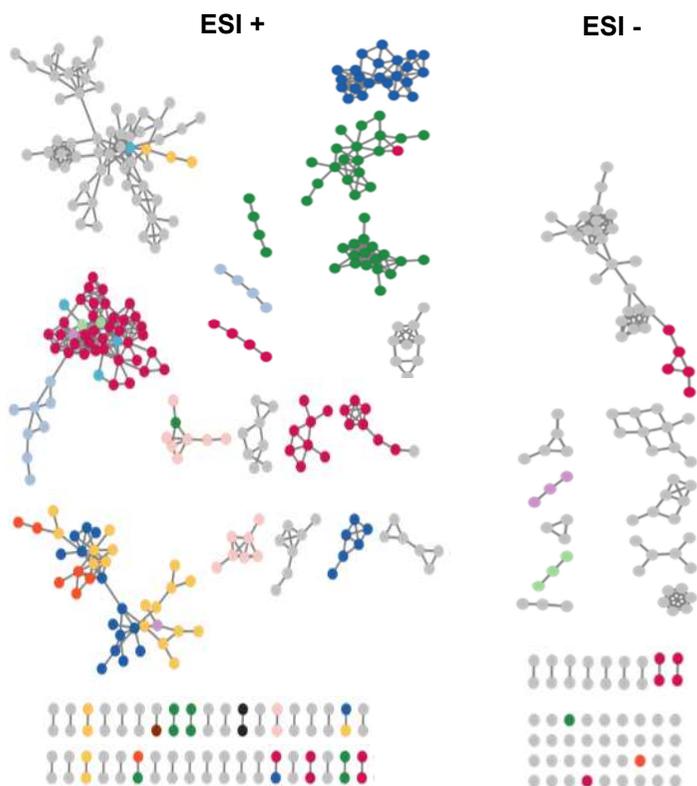
C. Saccaram  
(IJPB)

Réseaux moléculaires →

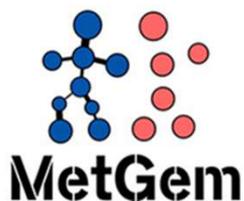


■ 22.38% Annotated  
■ 77.62% Not annotated

Total: 2467



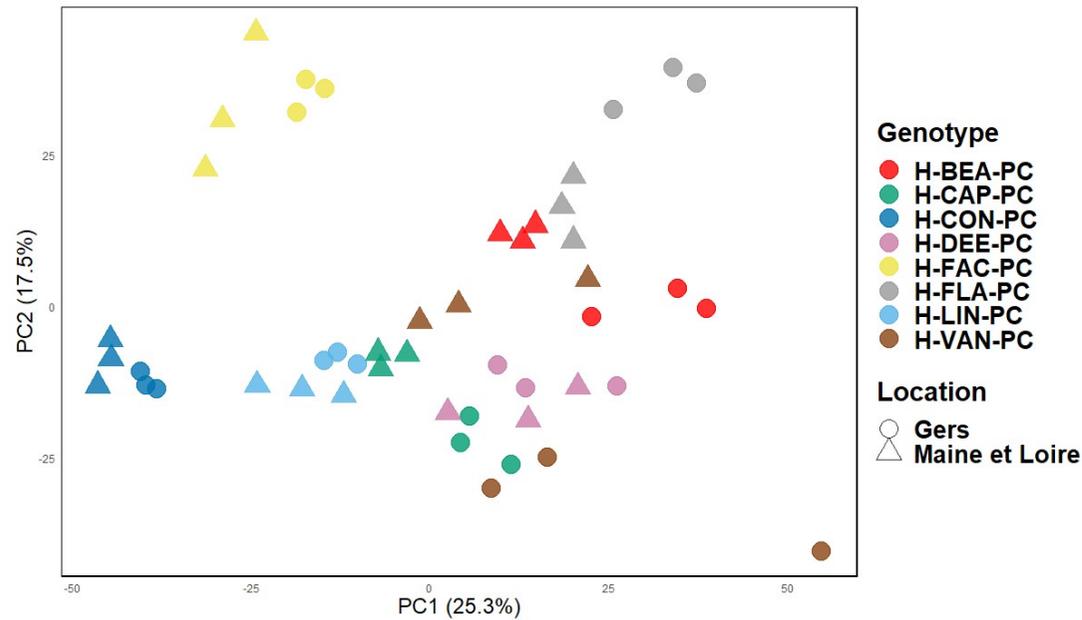
Familles de  
métabolites  
annotées



Olivon et al. (2018) *Anal Chem*, 90, 23.

# Quels effets du génotype et du site de production des graines sur la diversité chimique de la spermosphère de haricot?

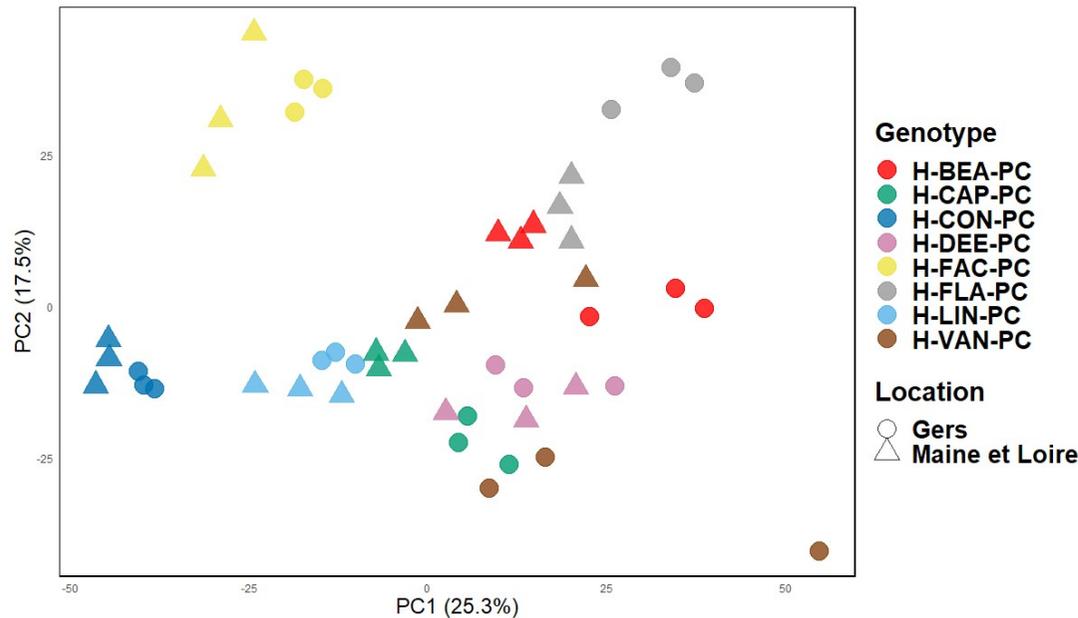
## Composition globale en métabolites



**Le génotype peut expliquer la composition métabolique, mais ce n'est pas toujours le cas.**

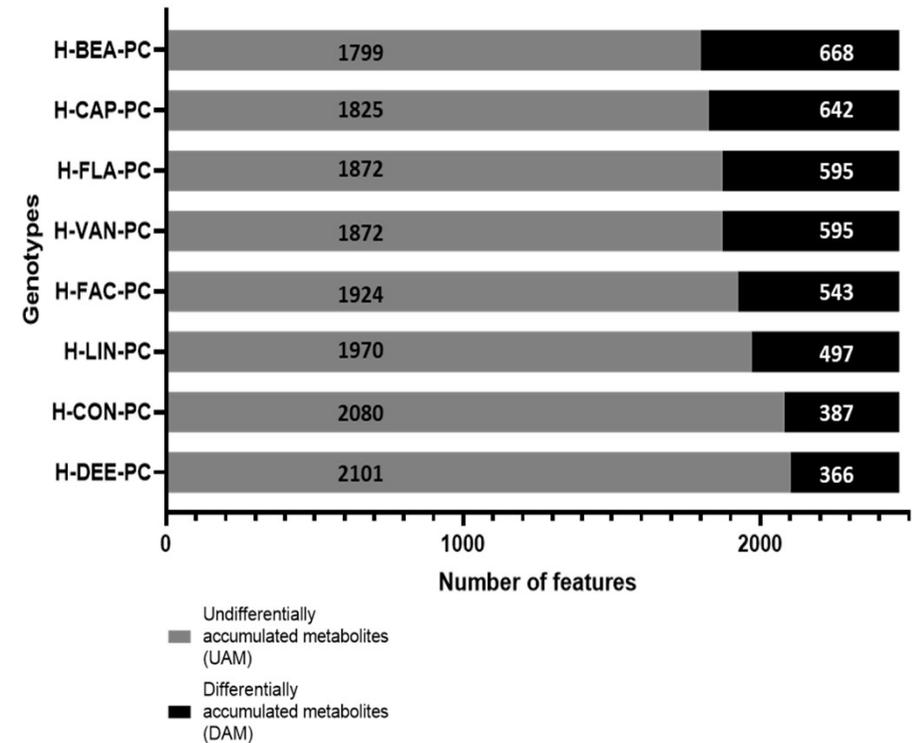
# Quels effets du génotype et du site de production des graines sur la diversité chimique de la spermosphère de haricot?

## Composition globale en métabolites



Le génotype peut expliquer la composition métabolique, mais ce n'est pas toujours le cas.

## # métabolites différenciellement accumulés d'un site de production à l'autre

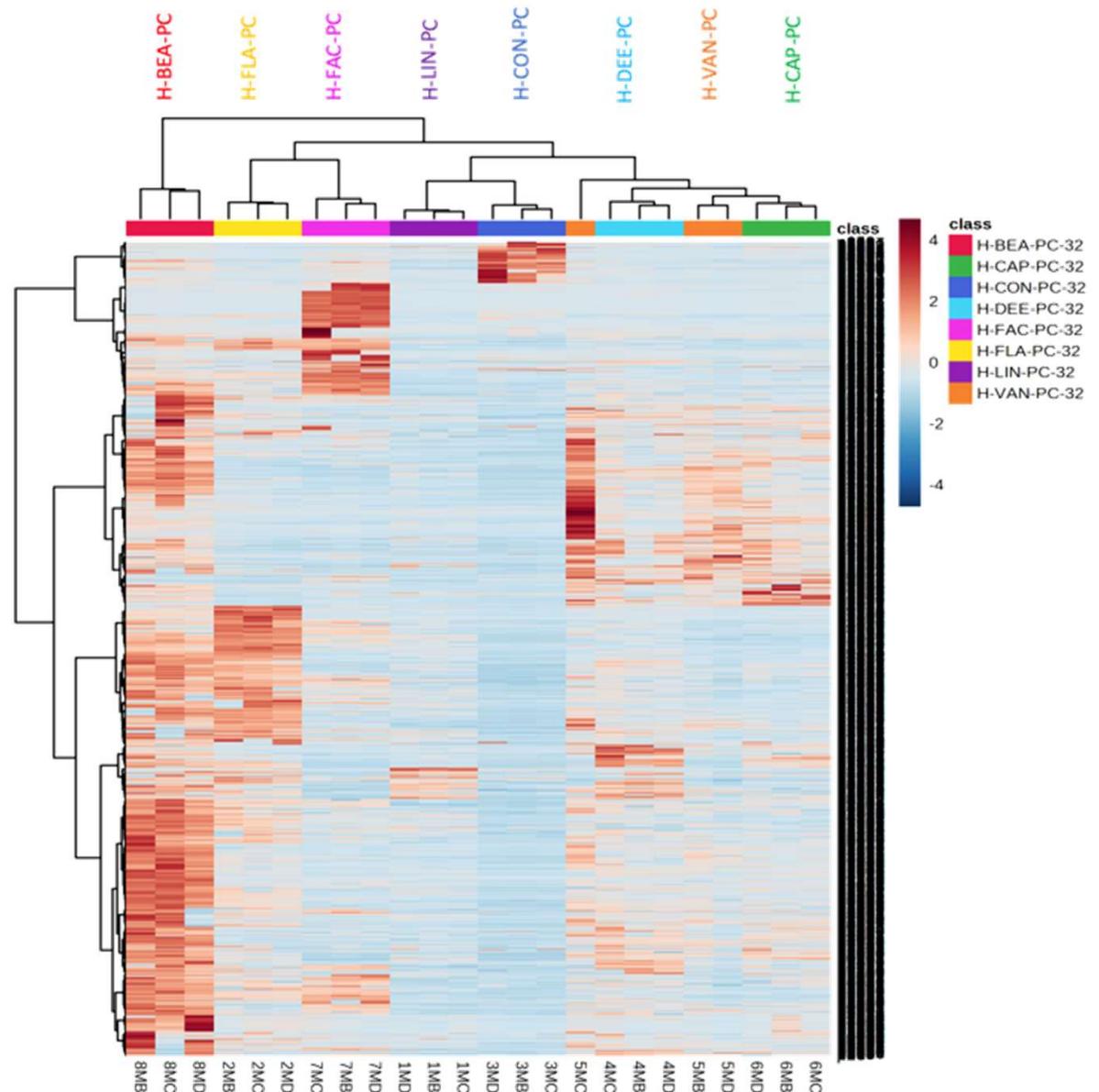


Le site de production explique une partie de la variabilité de la composition métabolique de la spermosphère.

# Identification de métabolites exsudés dont les niveaux sont corrélés à la sensibilité aux agents pathogènes

## Sensibilité des génotypes à *Xanthomonas*

- Génotypes résistants (+ aux – résistants)
  - **H-BEA-PC** → **H-DEE-PC** → **H-VAN-PC/H-CAP-PC**
- Génotypes sensibles (+ aux – sensibles)
  - **H-CON-PC** → **H-FAC-PC** → **H-LIN-PC/H-FLA-PC**

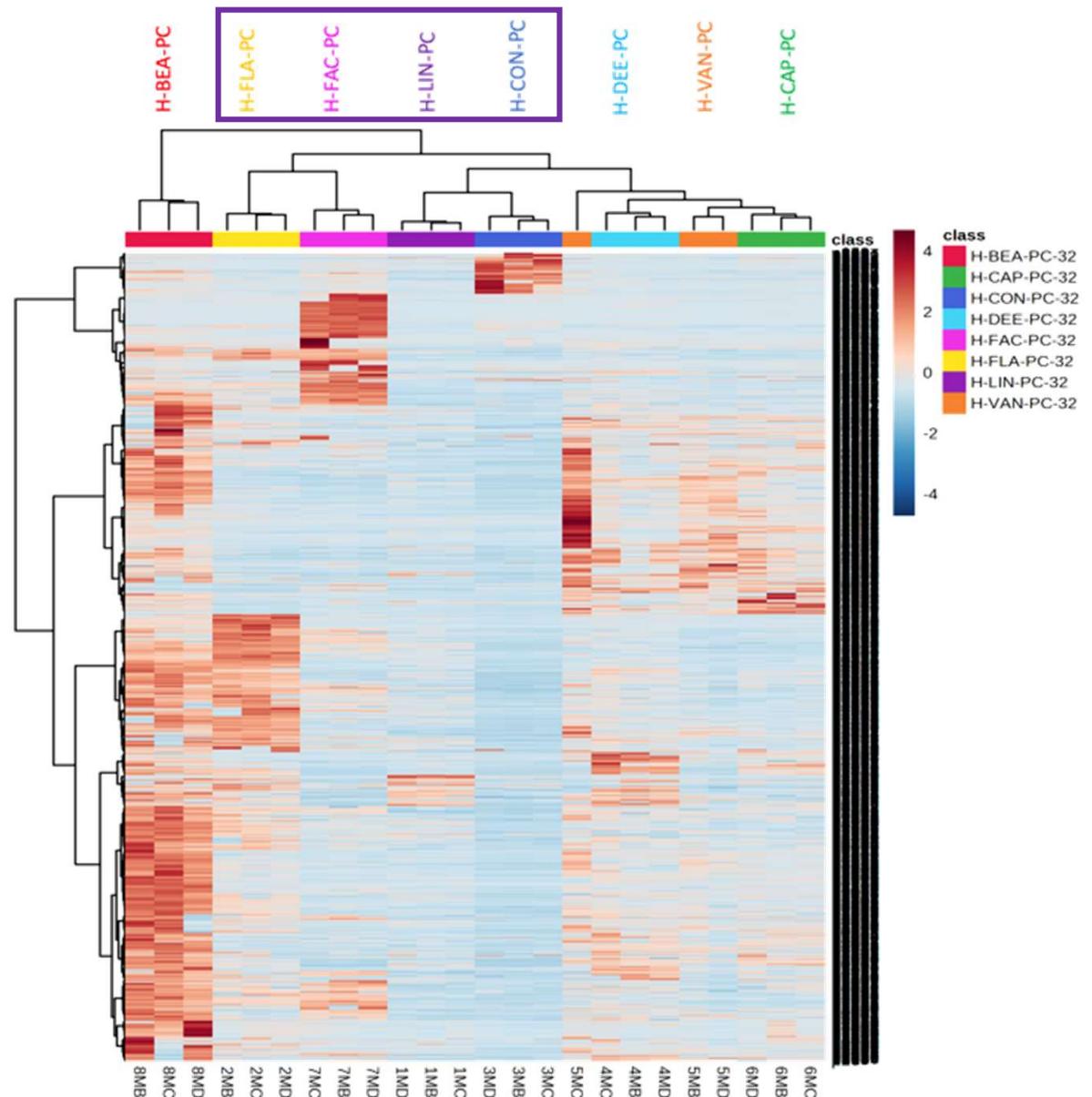


Métabolites primaires et spécialisés

# Identification de métabolites exsudés dont les niveaux sont corrélés à la sensibilité aux agents pathogènes

## Sensibilité des génotypes à *Xanthomonas*

- Génotypes résistants (+ aux – résistants)
  - **H-BEA-PC** → **H-DEE-PC** → **H-VAN-PC/H-CAP-PC**
- Génotypes sensibles (+ aux – sensibles)
  - **H-CON-PC** → **H-FAC-PC** → **H-LIN-PC/H-FLA-PC**

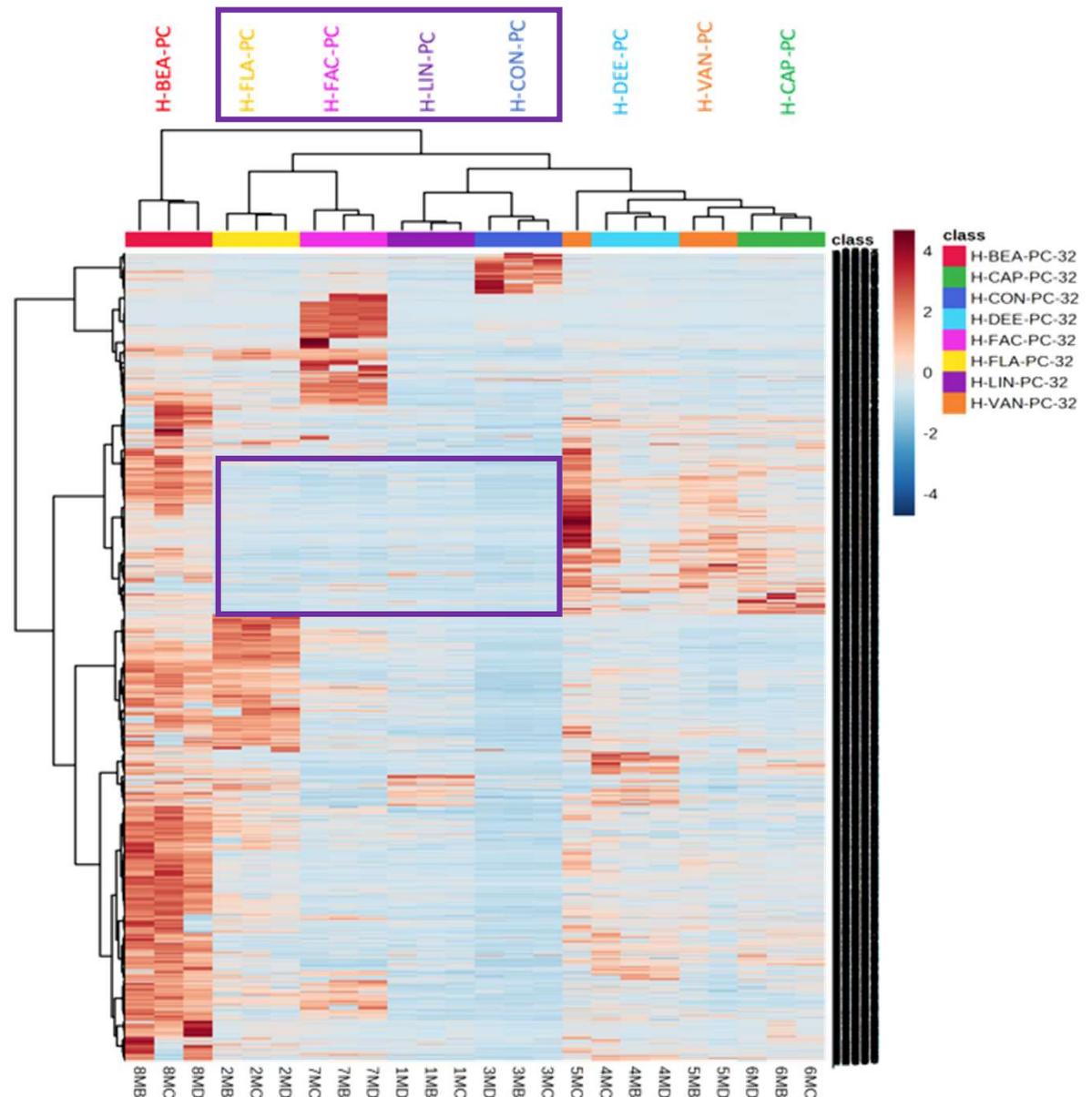


Métabolites primaires et spécialisés

# Identification de métabolites exsudés dont les niveaux sont corrélés à la sensibilité aux agents pathogènes

## Sensibilité des génotypes à *Xanthomonas*

- Génotypes résistants (+ aux – résistants)
  - **H-BEA-PC** → **H-DEE-PC** → **H-VAN-PC/H-CAP-PC**
- Génotypes sensibles (+ aux – sensibles)
  - **H-CON-PC** → **H-FAC-PC** → **H-LIN-PC/H-FLA-PC**



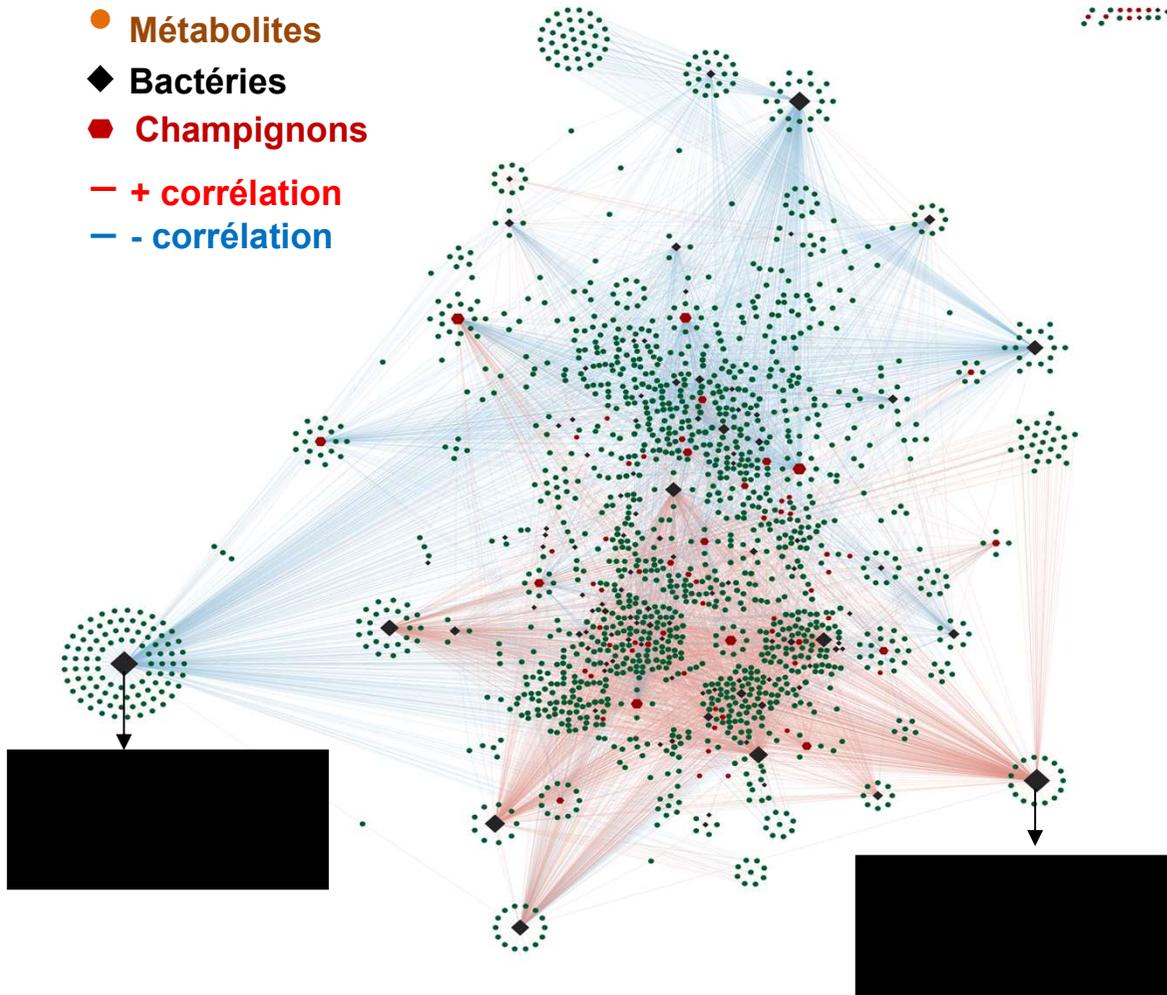
Métabolites primaires et spécialisés

# Inférence de réseaux de corrélations multi-niveaux pour prédire les potentielles interactions entre métabolome et microbiome de la spermosphère

- Métabolites
- ◆ Bactéries
- Champignons
- + corrélation
- - corrélation



Hypothèse : les métabolites façonnent le microbiome de la spermosphère & réciproquement

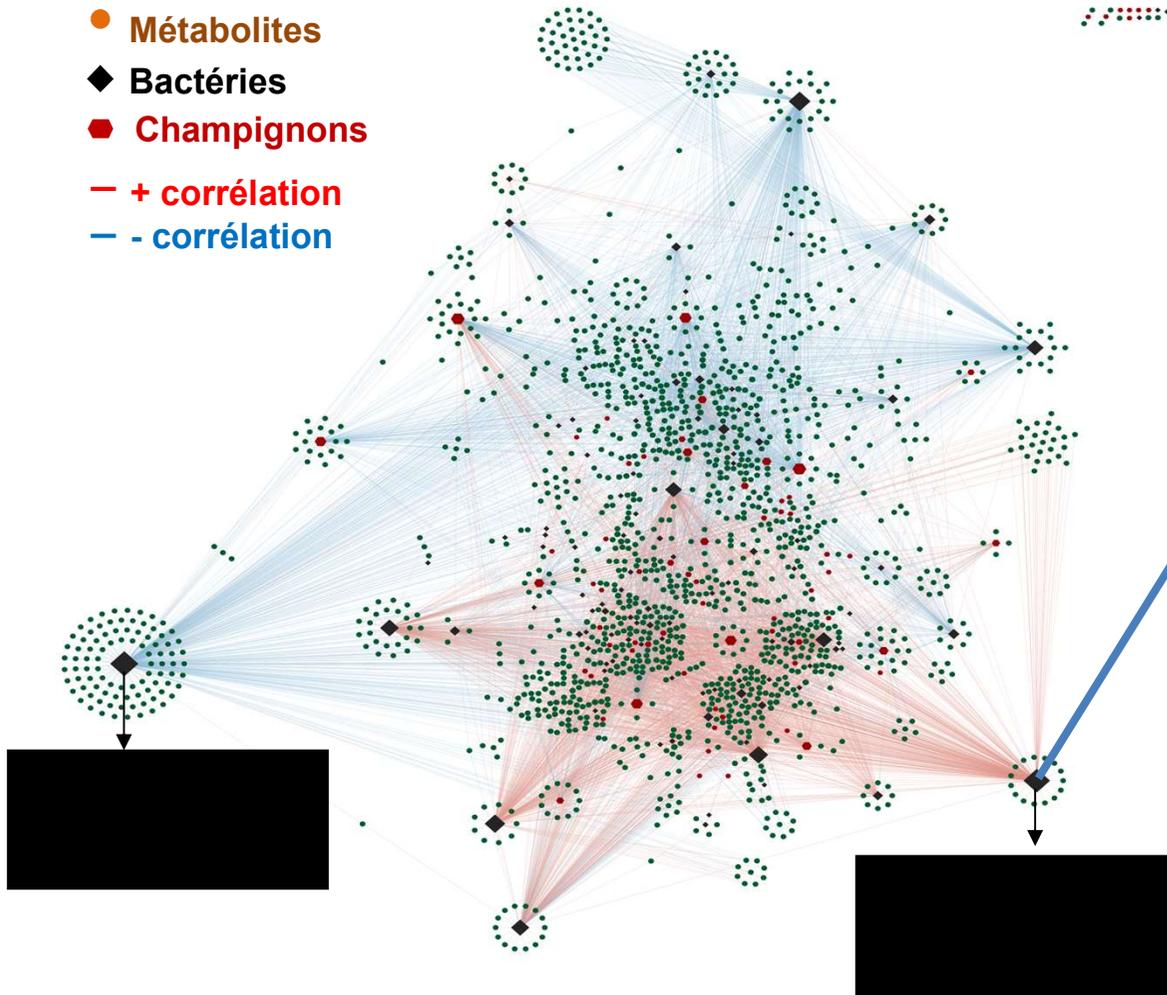


Réseau basé sur une corrélation de Spearman  
(corrélation > |0.5|)

Comparaison deux à deux: corrélation microorganismes-  
microorganismes et microorganismes-métabolites

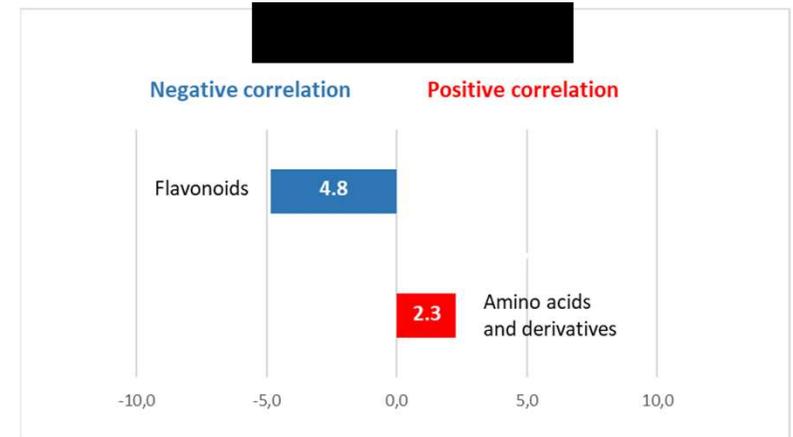
# Inférence de réseaux de corrélations multi-niveaux pour prédire les potentielles interactions entre métabolome et microbiome de la spermosphère

- Métabolites
- ◆ Bactéries
- Champignons
- + corrélation
- - corrélation



**Hypothèse : les métabolites façonnent le microbiome de la spermosphère & réciproquement**

Enrichissement de familles de métabolites ( $p < 0.05$ )

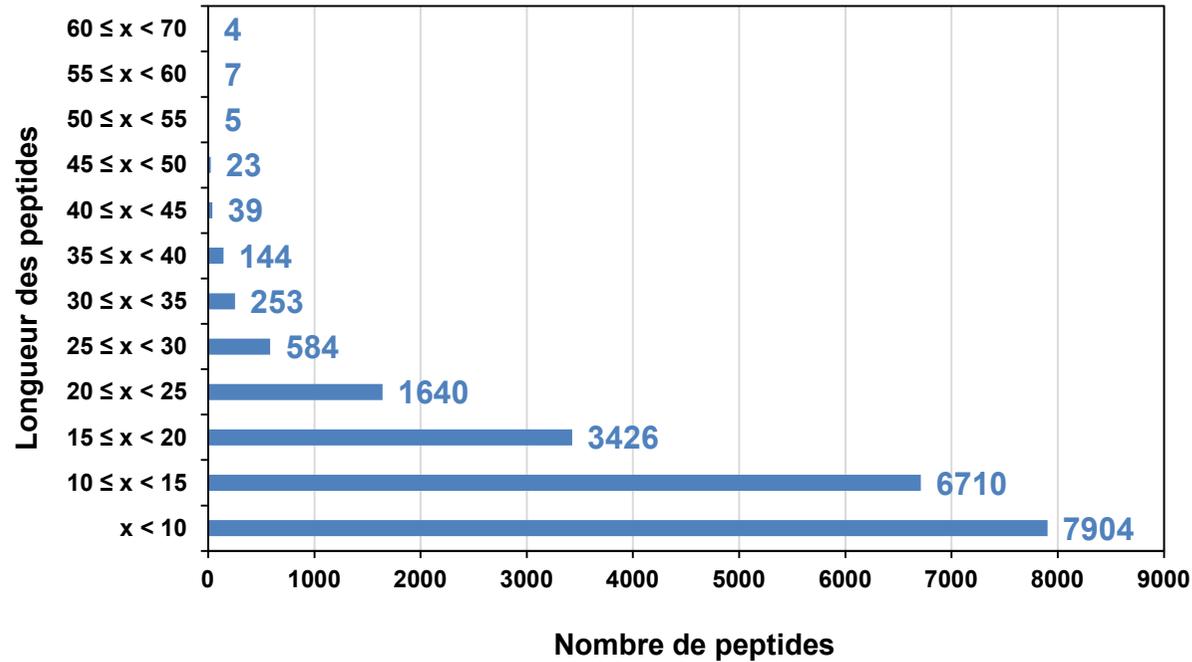


Réseau basé sur une corrélation de Spearman  
(corrélation  $> |0.5|$ )

Comparaison deux à deux: corrélation microorganismes-  
microorganismes et microorganismes-métabolites

# Peptidome de la spermosphère de haricot & ses applications

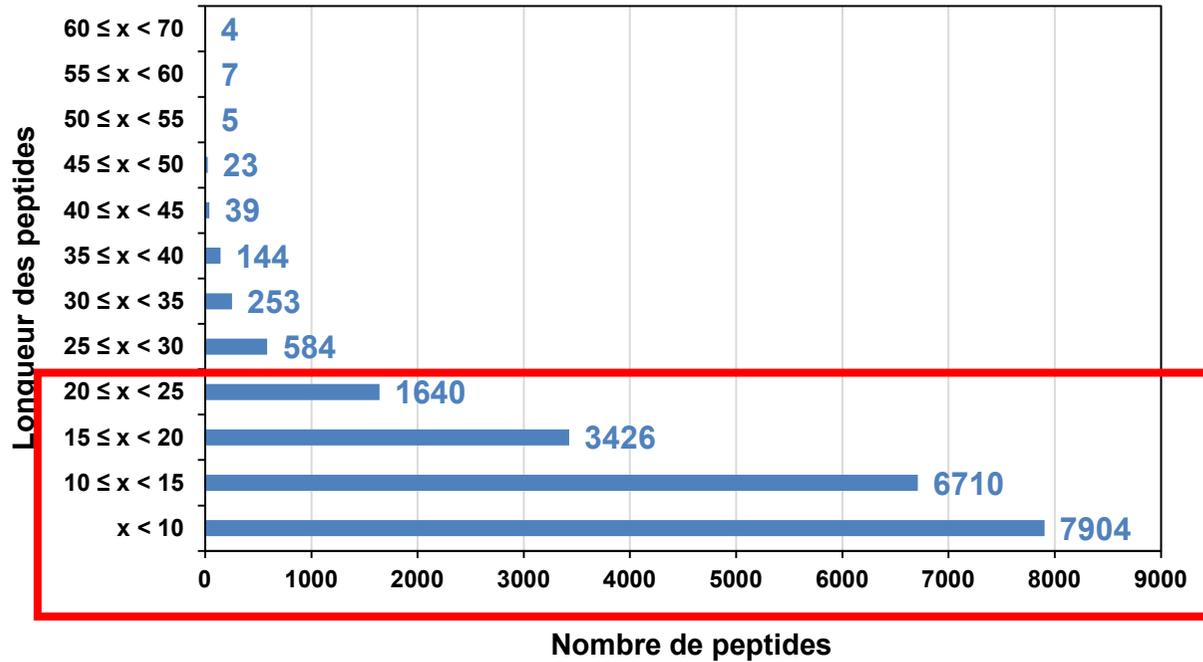
Distribution des peptides identifiés en fonction de leur longueur



- **20.739 peptides identifiés dans la spermosphère**  
(proviennent de 740 protéines)
- **Caractéristiques**
  - Length : 5 – 67 amino acids
  - Mass: 345 – 7716 Da

# Peptidome de la spermosphère de haricot & ses applications

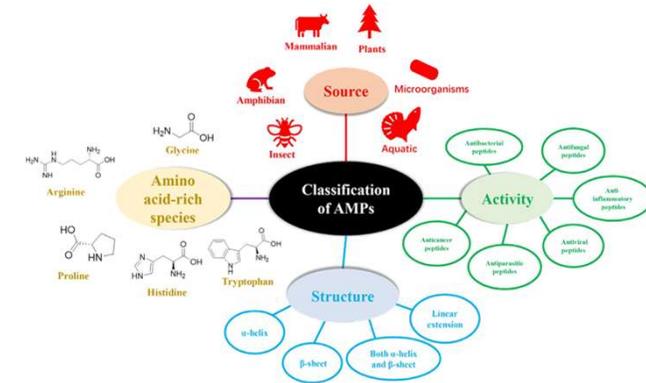
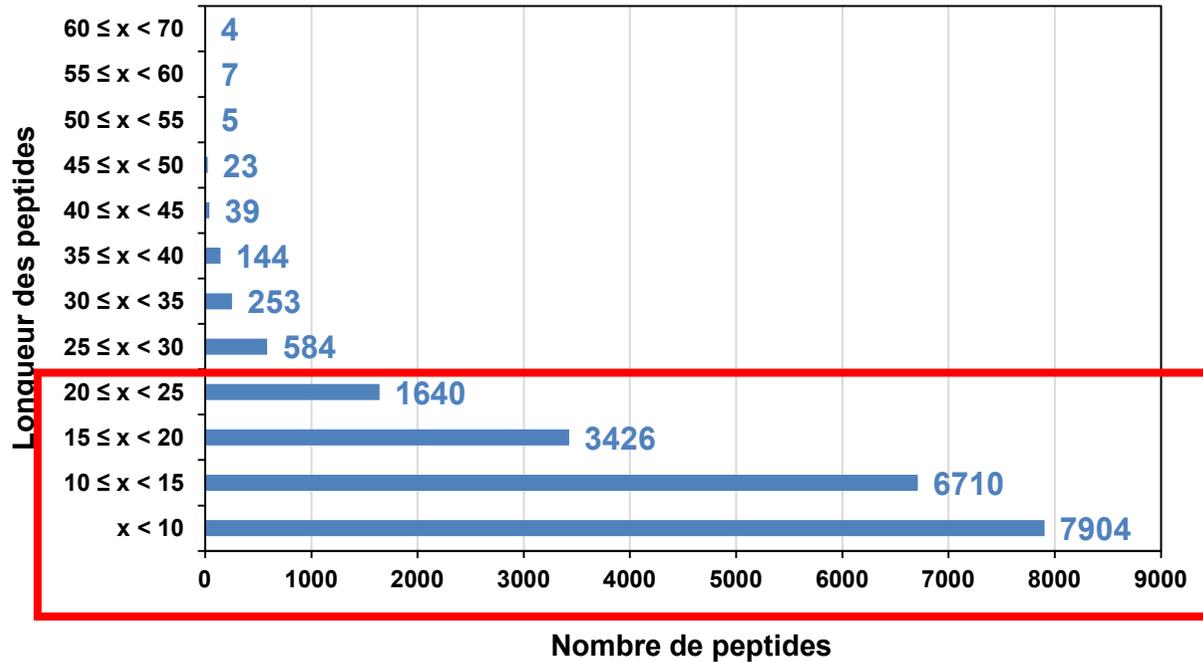
Distribution des peptides identifiés en fonction de leur longueur



- **20.739 peptides identifiés dans la spermosphère**  
(proviennent de 740 protéines)
- **Caractéristiques**
  - Length : 5 – 67 amino acids
  - Mass: 345 – 7716 Da

# Peptidome de la spermosphère de haricot & ses applications

Distribution des peptides identifiés en fonction de leur longueur



Comment identifier les peptides antimicrobiens dans ce peptidome?



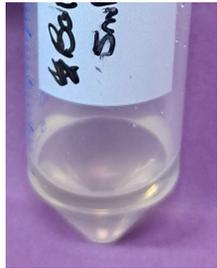
- **20.739 peptides identifiés dans la spermosphère**  
(proviennent de 740 proteins)
- **Caracteristiques**
  - Length : 5 – 67 amino acids
  - Mass: 345 – 7716 Da



S. Peng (IJPB)

# Mise en evidence d'une activité anti-fongique pour un peptide sélectionné (WK: 17 AA)

Modèle: *Botrytis cinerea*, champignon nécrotrophe responsable de la pourriture grise



Acide 4-phénylbutyrique (4-PBA)

**PATENTED**



Témoin



WK 100  $\mu$ M



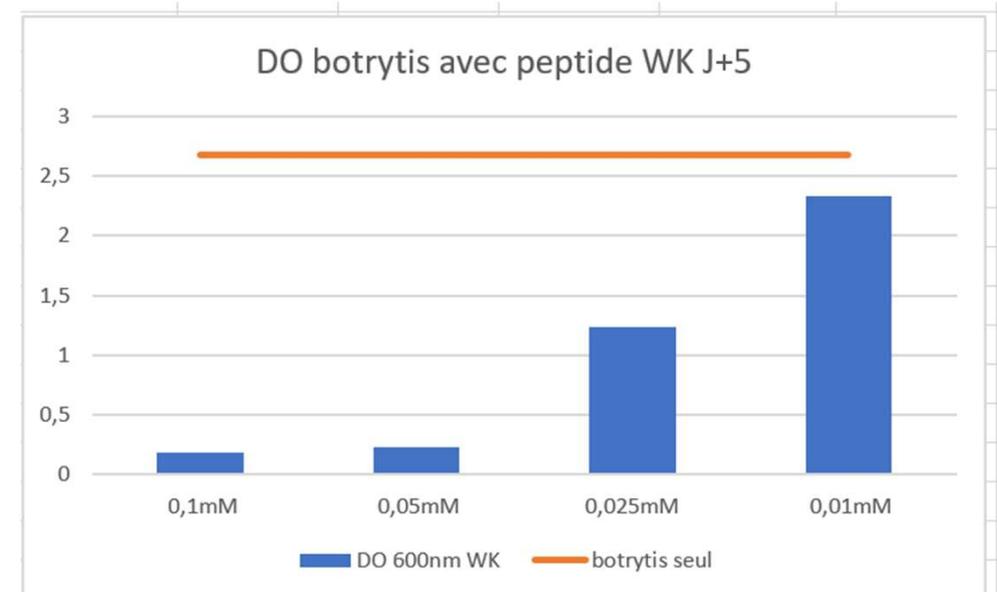
WK 50  $\mu$ M



WK 25  $\mu$ M



WK 10  $\mu$ M



# Mise en evidence d'une activité anti-fongique pour un peptide sélectionné (WK: 17 AA)



Modèle: *Botrytis cinerea*, champignon nécrotrophe responsable de la pourriture grise

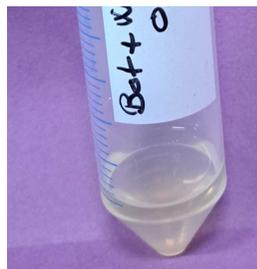


Acide 4-phénylbutyrique (4-PBA)

**PATENTED**



Témoin



WK 100  $\mu$ M



WK 50  $\mu$ M

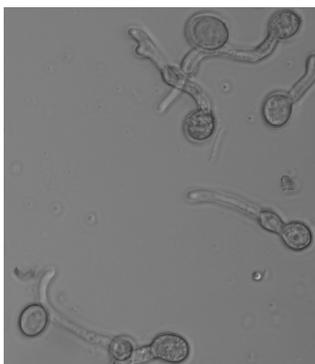


WK 25  $\mu$ M



WK 10  $\mu$ M

## Test de germination de spores (16h) – *Botrytis cinerea*



4-PBA (IC<sub>50</sub>)

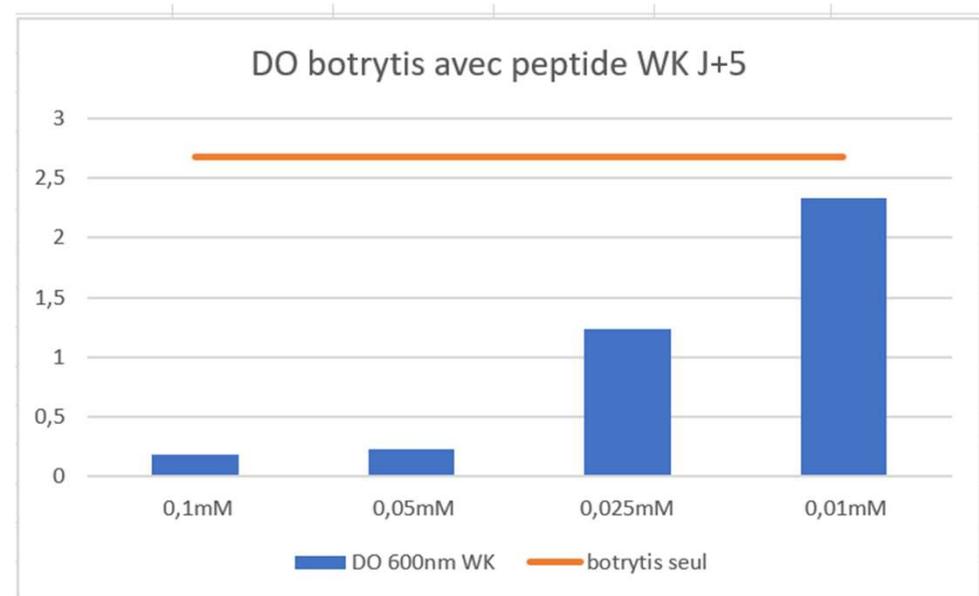
**PATENTED**

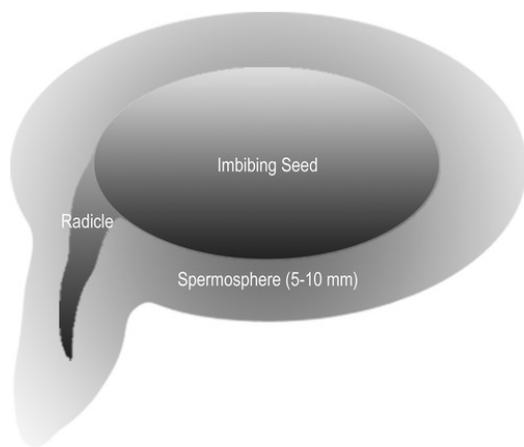


Témoin



WK 50  $\mu$ M





## Conclusions

- **La graine serait capable de moduler son microbiote durant la germination en exsudant une grande diversité de molécules dans la spermosphère.**
- **La composition de la spermosphère est hautement dynamique et sélective pour le microbiote.**
- **La spermosphère est un objet d'étude pertinent pour identifier et caractériser des substances naturelles pour protéger les graines et les plantes contre les agents pathogènes.**

# Remerciements



**M. Corso (IJPB)**



**L. Rajjou (IJPB)**



**B. Collet IJPB**



**S. Boutet (IJPB)**



**F. Perreau (IJPB)**



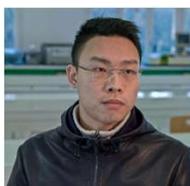
**T. François IJPB**



**C. Saccaram (IJPB)**



**C. Brosse (IJPB)**



**S. Peng (IJPB)**



**ProteoGen**



AgroParisTech



université  
PARIS-SACLAY

INRAE

SPS  
Saclay Plant Sciences

METABIODIVEX

# Remerciements



**M. Corso (IJPB)**

**L. Rajjou (IJPB)**

**B. Collet IJPB**



**S. Boutet (IJPB)**



**F. Perreau (IJPB)**



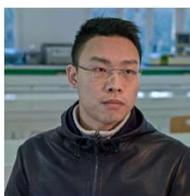
**T. François IJPB**



**C. Saccaram (IJPB)**



**C. Brosse (IJPB)**



**S. Peng (IJPB)**

## PARTENAIRES ACADEMIQUES

-  Institut de Recherche en Horticulture et Semences (Angers)
-  Institut Jean-Pierre Bourgin (Versailles)
-  Génétique Diversité Ecophysiologie des Céréales (Clermont Fd)
-  Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (Rennes)
-  Institut des Sciences des Plantes - Paris-Saclay (Paris)
-  Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure (Paris)
-  Micro et Nanomedicine translationnelle (Angers)
-  Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (Avignon)
-  Science Action Développement - Activités Produits Territoires (Paris)
-  Institut de Recherche en Propriété Intellectuelle (Paris)
-  Clermont Recherche Management (Clermont Fd))

## ASSOCIATIONS

-  UNION FRANÇAISE DES SEMENCIERS  
Union Française des semenciers
-  AFAIA  
Syndicat professionnel du marché d'intrant agricole
-  IBMA  
International Biocontrol manufacturer association

-  GEVES  
Groupe d'Etude et de contrôle des Variétés Et des Semences



## SECTEUR PRIVE

-  iMEAN
-  FRAYSSINET
-  KAPSERA
-  MilliDrop



@SUCSEED\_Project



**SUCSEED**  
@SUCSEED\_Project #InnovAgri  
SUCSEED project funded by FP9-CIFR - French ANR / Seeds as vectors of alternative solutions to pesticides / Seed Biology / Microbiome / Seed Tech / Regulation  
Joined September 2020  
122 Following 51 Followers



AgroParisTech



université  
PARIS-SACLAY

INRAE

SPS  
Saclay Plant Sciences

METABIODIVEX