

## LOCALISATION *IN SITU* D'UNE XYLANASE AU COURS DE L'HYDROLYSE DU SON DE BLE

Johnny BEAUGRAND<sup>1</sup>, Danièle REIS<sup>2</sup>, Fabienne GUILLON<sup>3</sup>, Brigitte CHABBERT<sup>1</sup> et Philippe DEBEIRE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA-UMR-FARE, BP316, 8, rue Gabriel Voisin, 51688 Reims Cedex 02

<sup>2</sup> Laboratoire de Pathologie végétale INA-Paris-Grignon, 16, rue Claude Bernard, 75232 Paris Cedex 05

<sup>3</sup> INRA-URPOI, BP 71627, rue de la Geraudière, 44316 Nantes

beaugran@reims.inra.fr

Le son de blé (*Triticum aestivum*) est un co-produit de l'agriculture riche en arabinoxylyanes (AX), environ 40% de la matière sèche du son désamidonné, et représente une ressource renouvelable abondante mais insuffisamment exploitée. La bioconversion enzymatique de ces co-produits offre une voie attractive et alternative aux méthodes chimiques polluantes, habituellement employées pour la saccharification des lignocelluloses. Le son de blé est la partie la plus externe du grain, et comprend des couches tissulaires d'origine botanique distincte: le péricarpe, la testa, la bande hyaline et la couche à aleurone (CA). Les travaux antérieurs effectués au laboratoire ont montré que l'action d'une  $\beta$ -(1→4)-endoxylyanase sur le son de blé solubilise 50% des AX. De plus, l'efficacité de la xylanase sur les couches du son est liée à leur hétérogénéité histologique et biochimique<sup>1</sup>. Afin de préciser les modalités de l'action *in situ* de l'enzyme sur les AX, la dégradation des enveloppes externes du grain de blé par la xylanase a été appréhendée par une étude immunocytochimique. Pour cela, nous avons marqué du son témoin et traité à la xylanase par deux anticorps polyclonaux: contre la xylanase et envers des séquences non substitués de  $\beta$ (1→4)-xylopyranose (AX faiblement substitués). Parallèlement, l'évolution structurale des assises tissulaires a été approchée par l'examen de la distribution des polysaccharides pariétaux (PATAg) en MET et l'observation de la présence des composés phénoliques en MO (autofluorescence UV). En absence de xylanase, seules la CA et la bande hyaline présentent un fort marquage des AX alors que l'ensemble des structures pariétales du son sont fluorescentes sous lumière UV. Après 30 min de traitement à la xylanase, l'enzyme est uniquement localisée dans les parois des cellules de la CA, sur la face albumen. Le marquage des AX et l'autofluorescence des parois ont disparu dans cette zone. A 75 min de traitement enzymatique, l'enzyme a progressé dans les parois de la CA et commence l'hydrolyse des AX de la bande hyaline. Les parois périclinales de l'aleurone sont fortement déstructurées à l'exception de la couche interne, proche du lumen des CA. Après 24h, la CA a complètement disparu; des vestiges de la bande hyaline sont encore observables. A l'inverse, la morphologie du péricarpe et de la testa n'est pas altérée et aucun marquage de la xylanase n'est détecté. L'ensemble de ces observations suggère une diffusion hétérogène de la xylanase dans le son. En outre, la localisation préférentielle de l'enzyme a pu être reliée à la dégradation des AX faiblement substitués, en accord avec ses caractéristiques cinétiques.

<sup>1</sup> S Benamrouche, D Cronier, P Debeire & B Chabbert. Journal of Cereal Science, **36** (2002) 253-260.