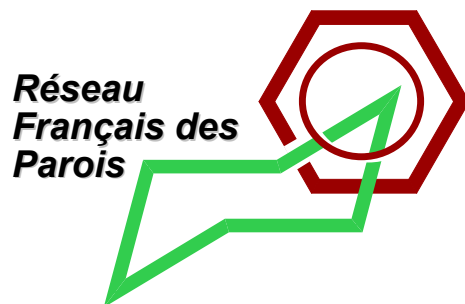




Le Réseau Français des Parois

Composition du Bureau

Président:	Bernard Kurek (INRA, Reims)
Vice-président:	Jean-Paul Joseleau (Université Joseph Fourier, Grenoble)
Secrétaire:	Simon Hawkins (Université de Lille)
Trésorière:	Katia Ruel (CNRS, CERMAV, Grenoble)
Membres du Bureau:	Patrice Lerouge (Université de Rouen) Déborah Goffner (CNRS, CICT, Toulouse) Luc Saulnier (INRA, Nantes) Jean-Pierre Martinant (Biogemma)

Site Web : <http://rfparois.free.fr/>

JOURNEES DU RESEAU FRANÇAIS DES PAROIS
ROUEN 8-9 SEPTEMBRE 2005

PROGRAMME

[CLIQUER SUR LE TITRE POUR ACCEDER AU RESUME](#)

Jeudi 8 septembre

A partir de 9h : **Accueil**

10h **Introduction**

10h30-11h50 **Session 1** / Modérateur : Deborah Goffner

Mouille Grégory, INRA Versailles

Identification of a methyl transferase required for homogalacturonan biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*.

Louvet Romain, EA 3900, Université d'Amiens.

Etude de l'expression des gènes de pectine méthylestérases durant le développement de la silique chez *Arabidopsis thaliana*.

Olivier Lerouxel, Michigan State University

Biosynthèse du xyloglucane: étude de candidats pour l'activité XyG glucan-synthase

Paynel Florence/Chevalier Véronique, UMR 6037 Université de Rouen

Clonage, expression et caractérisation d'une glycosyltransférase : de l'arabette au lin.

11h50-12h30 **Poster**

Repas

14h-15h20 **Session 2** / Modérateur : Luc Saulnier

Chavez Ricardo, UMR 5546 Toulouse

Identification et caractérisation des mutants d'*Arabidopsis thaliana* affectés dans l'expression de gènes d'alpha-L-arabinofuranosidases.

Eudes Aymerick, INRA Versailles

Identification et caractérisation d'une beta-glucuronidase chez *Arabidopsis*

Nguema'ona Eric, UMR 6037 Université de Rouen

La mutation *reb1-1* affecte spécifiquement la structure des xyloglucanes et des AGP mais pas celle des pectines.

Fontaine Anne-Sophie, LEMA, Université du Havre

Use of pyrolysis molecular beam mass spectrometry (Py-MBMS) as a rapid analysis tool to examine changes in cell wall chemistry: example of screening corn plants for differences in secondary cell wall composition

15h20-16h

Pause Café

16h-17h20

Session 3 / Modérateur : Simon Hawkins

Chaubet-Gigot Nicole, UMR 5546 Toulouse

Identification de facteurs de transcription impliqués dans la régulation de l'expression de gènes de biosynthèse des lignines.

Hematy Kian, INRA Versailles

THESEE1, un récepteur kinase membranaire impliqué dans la coordination entre synthèse de cellulose et élongation cellulaire de l'hypocotyle d'*Arabidopsis thaliana*.

Philippe Sully, INRA Nantes

Mise en place des parois au cours du développement du grain de blé.

Gonneau Martine, INRA Versailles

Organisation et dynamique des complexes cellulose synthase chez *Arabidopsis* au cours des stades précoces du développement de la plantule.

17h20-18h

Assemblée générale du RFP

19h

Rassemblement place du vieux marché

19h-20h

Visite de Rouen

20h

Repas centre ville

Vendredi 9 septembre

9h-10h20

Session 4 / Modérateur : Katia Ruel

Lahaye Marc, INRA Nantes

Analyses structurale et moléculaire des parois de tomates à texture contrastée.

Jamet Elisabeth, UMR 5546 Toulouse

Vers une meilleure connaissance des fonctions des parois grâce à la protéomique

Liners Françoise, URBV Université de Namur

Recombinant antibodies as probes for *in situ* localization of carrageenans

Billosta Valérie, CERMAV Grenoble

Modifications ultrastructurales de la paroi des fibres induites par les procédés de fabrication des papiers et leurs effets sur les propriétés mécaniques

10h20-11h20

Pause café et poster

11h20-12h20

Session 5 / Modérateur : Bernard Kurek

Zykwinska Agata, INRA Nantes

Etude *in vitro* des interactions cellulose/xyloglucane/pectines

Barakat Abdellatif, INRA Reims

Dégradation par une xylanase d'un complexe, lignine de synthèse/glucuronoarabinoxylanes : Caractérisation de l'organisation supramoléculaire

A. Day, M. Addi, F. Nolin, T. Lefevre, D. Crônier, A. Habrant, G. Neutelings, B. Chabbert, S. Hawkins

Régulation moléculaire et contribution de différents polymères à la structure de la paroi cellulaire secondaire chez le lin (*Linum usitatissimum*)

12h20-12h30

Clôture

Repas

Liste des posters

Utilisation des modèles de mélange de distribution de probabilités pour la classification de données transcriptome sur les familles AGP et LTP.

C. Maugis, S. Aubourg, J-P. Renou, G. Celeux, M-L. Martin-Magniette

Utilisation d'un double mutant CAD d'Arabidopsis pour déterminer la fonction d'autres CAD d'Arabidopsis et d'arbres

A. Eudes, R. Sibout, B. Pollet, A. Seguin, C. Lapierre, L. Jouanin

Une acyltransférase (HCT) contrôle le flux métabolique vers les phénylpropanoïdes

S. Besseau, L. Hofmann, P. Geoffroy, C. Lapierre, B. pollet, M. Legrand

Effet d'un traitement autoclave sur la composition et la structure des fibres de lin.

S. Alix, S. Marais et C. Morvan

Production et caractérisation de sondes immunochimiques anti-lignines : Etude ultrastructurale des lignines de la paille de blé.

K. Yamauchi, A. Habrant, K. Ruel, B. Chabbert, B. Cathala

Etude topochemique et micro-analytique des parenchymes lignifiés et non-lignifiés d'*Urtica dioica* L. par microscopie électronique (TEM) microdissection à capture LASER (LCM)

G. Angeles, J-P. Joseleau, Ph. Lorimier, A. Lefèvre et K. Ruel

Impact du gène *CCR* sur la formation des parois secondaires d'*Arabidopsis thaliana*

Jimmy Berrio-Sierra, Mohammad Mir Devikvand, Lise Jouanin, Catherine Lapierre et Katia Ruel

Analyse d'images multispectrales en microscopie de fluorescence appliquée à l'identification de l'origine histologique de particules issues de broyage de grain de blé

M.-F. Devaux, B. Bouchet, C. Barron, F. Guillon

Identification et caractérisation d'un mutant d'*Arabidopsis* pour la première O-méthylation des précurseurs des lignines

Cao-Trung Do, Brigitte Pollet, Richard Sibout, Johanne Thévenin, Grégory Mouille Catherine Lapierre, Lise Jouanin

Evolution des caractéristiques chimiques et histologiques des fibres extra-xylémiennes au cours de la maturation du chanvre

D. Crônier, B. Chabbert

Identification et caractérisation d'une peroxydase potentiellement impliquée dans la polymérisation des lignines

Mohammad Mir Derikvand, Nathalie Caulet-Dumont, Brigitte Pollet, Catherine Lapierre, Lise Jouanin

Etudes par RMN du solide des assemblages polysaccharidiques dans un modèle de paroi et dans les parois d'Arabidopsis

Defer D, Silvestre V, Rondeau D, Bizot H, Lahaye M

Etude préliminaire du protéome ciblé pariétal chez le lin.

A. Schaumann, L.Coquet, M.Bardor, C.Rihouey et C. Morvan.

Modification des pectines en présence de cadmium chez le lin (*Linum usitatissimum*)

Olfa Douchiche, Wided Chaibi, Claudine Morvan et Azeddine Driouich

In search of a maize ideotype for cell wall enzymatic degradability using histological and biochemical lignin characterization

Valérie Méchin, Odile Argillier, Françoise Rocher, Yannick Hébert, Isabelle Milan Brigitte Pollet, Yves Barrière et Catherine Lapierre

Des oligosaccharides de type galactoglucomannanes modifient la dynamique pariétale secondaire des éléments trachéaires développés *in vitro* chez *Zinnia elegans*.

Anna Benova, Ranocha Philippe, Alain Jauneau, Barbier Odile, Sabine Guillaumie, Florence Goubet, Zhinong Zhang, Paul Dupree, Desana Lisková, Deborah Goffner, Catherine Digonnet.

Un exemple d'utilisation de la technique des biopuces (« microarray ») à l'étude du transcriptome de peuplier : l'identification de gènes exprimés de manière différentielle entre bois de tension et bois opposé.

Leplé J.-C., Lesage-Descauses M.-C., Laurans F., Saintenac C., Déjardin A. et Pilate G.

Toxicité du cuivre chez le maïs (*Zea mays*, L., var. *aligreen*): Aspects physiologique et structural

A. Jouida, O. Douchiche, S. Ben Saad, A. Driouich, M.H. Ghorbel et W. Chaïbi

Caractérisation d'un promoteur de cellulose synthase spécifique du bois de tension de peuplier

A. Déjardin, F. Laurans, N. Millet, A. Moreau, M.-C. Lesage-Descauses, J.-C. Leplé et G. Pilate

Cartographie des acétyles sur les pectines de betteraves

Marie-Christine Ralet, Juan-Carlos Cabrera, Bernard Quémener, Estelle Bonnin et Jean-François Thibault

Recherche de facteurs de transcription impliqués dans la différenciation des fibres G du bois de tension chez le peuplier : Analyse de l'expression des gènes de la famille LIM.

Dominique Arnaud, Marie-Claude Lesage-Descauses, Nadège Millet, Françoise Laurans, Annabelle Déjardin, Jean-Charles Leplé, Gilles Pilate.

Etude des domaines structuraux des pectines d'écorces de citron.

Beda Marcel Yapou, Marie-Christine Ralet, Estelle Bonnin et Jean-François Thibault

An acetylesterase from *Aspergillus aculeatus* able to deacetylate pectins ABLE

E. Bonnin, S. Daniel, K. Clavurier, J. D. Mikkelsen, J.-F. Thibault

Surfaces modèles de cellulose

Youssef Habibi, Roger Douillard, Véronique Aguié-Béghin

Etude des polysaccharides pariétaux de l'albumen de grain de blé par FT-IR. Attribution spectrale des arabinoxylanes

Paul Robert, Mélanie Marquis, Cécile Barron, Fabienne Guillon, Luc Saulnier

Empreinte enzymatique des arabinoxylanes du grain de blé

José Juan Ordaz-Ortiz, Marie Françoise Devaux and Luc Saulnier

Implication of AGPs-GPI in *Cichorium* somatic embryogenesis

D. Windels, I. Habarugira, A.S. Blervacq, Y. Leroy, J.P. Zanetta, J.C. Michalski, J.L. Hilbert

Reactive Oxygen Species detection in *Arabidopsis* roots by confocal microscopy

Michèle Crèvecoeur, Anne Utz-Pugin, Claude Penel

PeroxiBase: a plant class III peroxidases database

Nenad Bakalovic, Filippo Passardi, Vassilios Ioannidis, Claudia Cosio, Laurent Falquet, Claude Penel, Christophe Dunand

ROS and class III peroxidases : role during elongation

Claude Penel, Christophe Dunand

RESUMES des Communications orales et des posters

[VERS PROGRAMME](#)

[VERS LISTE POSTERS](#)

CLIQUER SUR LE n° DE PAGE POUR ACCEDER AU RESUME

- LES PROTEOGLYCANES VEGETAUX : ROLE DANS LE CONTROLE DE LA MORPHOGENESE CELLULAIRE 11
- EFFET D'UN TRAITEMENT AUTOCLAVE SUR LA COMPOSITION ET LA STRUCTURE DES FIBRES DE LIN 12
- ETUDE TOPOCHIMIQUE ET MICRO-ANALYTIQUE DES PARENCHYMES LIGNIFIES ET NON-LIGNIFIES D'URTICA DIOÏCA L. PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE (TEM) MICRODISSECTION A CATURE LASER (LCM) 14
- RECHERCHE DE FACTEURS DE TRANSCRIPTION IMPLIQUES DANS LA DIFFERENTIATION DES FIBRES G DU BOIS DE TENSION CHEZ LE PEUPLIER : ANALYSE DE L'EXPRESSION DES GENES DE LA FAMILLE LIM 15
- DEGRADATION PAR UNE XYLANASE D'UN COMPLEXE, LIGNINE DE SYNTHESE/GLUCURONOARABINOXYLANES : CARACTERISATION DE L'ORGANISATION SUPRAMOLECULAIRE 16
- DES OLIGOSACCHARIDES DE TYPE GALACTOGLUCOMANNANE MODIFIENT LA DYNAMIQUE PARIETALE SECONDAIRE DES ELEMENTS TRACHEAIRES DEVELOPPES IN VITRO CHEZ ZINNIA ELEGANS 17
- IMPACT DU GENE CCR SUR LA FORMATION DES PAROIS SECONDAIRES D'ARABIDOPSIS THALIANA 18
- MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DE LA PAROI DES FIBRES INDUITES PAR LES PROCEDES DE FABRICATION DES PAPIERS ET LEURS EFFETS SUR LES PROPRIETES MECANIQUES 19
- IMPLICATION OF AGPS DURING SOMATIC EMBRYOGENESIS IN DIFFERENT GENOTYPES OF CHICORY 20
- AN ACETYLESTERASE FROM ASPERGILLUS ACULEATUS ABLE TO DEACETYLATE PECTINS 21
- ANALYSE D'IMAGES MULTISPECTRALES EN MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE APPLIQUEE A L'IDENTIFICATION DE L'ORIGINE HISTOLOGIQUE DE PARTICULES ISSUES DE BROYAGE DE GRAIN DE BLE 22
- EP1 : UNE PROTEINE PARIETALE AUX PROPRIETES REMARQUABLES 23
- IDENTIFICATION DE FACTEURS DE TRANSCRIPTION IMPLIQUES DANS LA REGULATION DE L'EXPRESSION DE GENES DE LA VOIE DE BIOSYNTHESE DES LIGNINES 24

•	IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DES MUTANTS D'ARABIDOPSIS THALIANA AFFECTES DANS L'EXPRESSION DE GENES D'A-L-ARABINOFURANOSIDASES	25
•	EVOLUTION DES CARACTERISTIQUES CHIMIQUES ET HISTOLOGIQUES DES FIBRES EXTRA-XYLEMIENNES AU COURS DE LA MATURATION DU CHANVRE.....	26
•	CARACTERISATION D'UN PROMOTEUR DE CELLULOSE SYNTHASE SPECIFIQUE DU BOIS DE TENSION DE PEUPLIER.....	27
•	IDENTIFICATION ET CARACTERISATION D'UN MUTANT D'ARABIDOPSIS POUR LA PREMIERE O-METHYLATION DES PRECURSEURS DES LIGNINES	28
•	STRUCTURES AND PROPERTIES OF MODIFIED WINE ARABINOGALACTANS	29
•	MODIFICATION DES PECTINES EN PRESENCE DE CADMIUM CHEZ LE LIN (LINUM USITATISSIMUM)	30
•	UTILISATION D'UN DOUBLE MUTANT CAD D'ARABIDOPSIS POUR DETERMINER LA FONCTION D'AUTRES CAD D'ARABIDOPSIS ET D'ARBRES	31
•	IDENTIFICATION ET CARACTERISATION D'UNE BETA-GLUCURONIDASE CHEZ ARABIDOPSIS.....	32
•	USE OF PYROLYSIS MOLECULAR BEAM MASS SPECTROMETRY (PY-MBMS) AS A RAPID ANALYSIS TOOL TO EXAMINE CHANGES IN CELL WALL CHEMISTRY: EXAMPLE OF SCREENING CORN PLANTS FOR DIFFERENCES IN SECONDARY CELL WALL COMPOSITION..	33
•	ORGANISATION ET DYNAMIQUE DES COMPLEXES CELLULOSE SYNTHASE CHEZ ARABIDOPSIS AU COURS DES STADES PRECOCES DU DEVELOPPEMENT DE LA PLANTULE.	34
•	MISE EN PLACE DES PAROIS AU COURS DU DEVELOPPEMENT DU GRAIN DE BLE	35
•	SURFACES MODELES DE CELLULOSE.....	36
•	REGULATION MOLECULAIRE ET CONTRIBUTION DE DIFFERENTS POLYMERES A LA STRUCTURE DE LA PAROI CELLULAIRE SECONDAIRE CHEZ LE LIN (LINUM USITATISSIMUM)	37
•	THESEE : UN RECEPTEUR KINASE MEMBRANAIRE IMPLIQUE DANS LA COORDINATION ENTRE SYNTHESE DE CELLULOSE ET ELONGATION CELLULAIRE DE L'HYPOCOTYLE D'ARABIDOPSIS THALIANA	39
•	VERS UNE MEILLEURE CONNAISSANCE DES FONCTIONS DES PAROIS GRACE A LA PROTEOMIQUE	40
•	TOXICITE DU CUIVRE CHEZ LE MAÏS (ZEA MAYS, L., VAR. ALIGREEN): ASPECTS PHYSIOLOGIQUE ET STRUCTURAL	41
•	ANALYSES STRUCTURALE ET MOLECULAIRE DES PAROIS DE TOMATES A TEXTURE CONTRASTEE.....	42
•	ETUDES PAR RMN DU SOLIDE DES ASSEMBLAGES POLYSACCHARIDIQUES DANS UN MODELE DE PAROI ET DANS LES PAROIS D'ARABIDOPSIS	43
•	UNE ACYLTRANSFERASE (HCT) CONTROLE LE FLUX METABOLIQUE VERS LES PHENYLPROPANOÏDES.....	44

•	UN EXEMPLE D'UTILISATION DE LA TECHNIQUE DES BIOPUCES (« MICROARRAY ») A L'ETUDE DU TRANSCRIPTOME DE PEUPLIER : L'IDENTIFICATION DE GENES EXPRIMES DE MANIERE DIFFERENTIELLE ENTRE BOIS DE TENSION ET BOIS OPPOSE.....	45
•	BIOSYNTHESE DU XYLOGLUCANE: ETUDE DE CANDIDATS POUR L'ACTIVITE XYGLUCAN-SYNTASE	46
•	RECOMBINANT ANTIBODIES AS PROBES FOR IN SITU LOCALIZATION OF CARRAGEENANS	47
•	ETUDE DE L'EXPRESSION DES GENES DE PECTINE METHYLESTERASES DURANT LE DEVELOPPEMENT DE LA SILIQUE CHEZ ARABIDOPSIS THALIANA.....	48
•	IDENTIFICATION ET CARACTERISATION D'UNE PEROXYDASE POTENTIELLEMENT IMPLIQUEE DANS LA POLYMERISATION DES LIGNINES.....	49
•	IDENTIFICATION OF A METHYL TRANSFERASE REQUIRED FOR HOMOGALACTURONAN BIOSYNTHESIS IN ARABIDOPSIS THALIANA.....	50
•	LA MUTATION REB1-1 AFFECTE SPECIFIQUEMENT LA STRUCTURE DES XYLOGLUCANES ET DES AGP MAIS PAS CELLE DES PECTINES.....	51
•	CLONAGE, EXPRESSION ET CARACTERISATION D'UNE GLYCOSYLTRANSFERASE: DE L'ARABETTE AU LIN.....	52
•	CARTOGRAPHIE DES ACETYLES SUR LES PECTINES DE BETTERAVE.....	53
•	ETUDE DES POLYSACCHARIDES PARIETAUX DE L'ALBUMEN DE GRAIN DE BLE PAR FT-IR. ATTRIBUTION SPECTRALE DES ARABINOXYLANES.....	54
•	EMPREINTE ENZYMATIQUE DES ARABINOXYLANES DU GRAIN DE BLE	55
•	CRIBLAGE DE MUTANTS D'ARABIDOPSIS THALIANA AFFECTES DANS LA STRUCTURE DU RHAMNOGALACTURONANE II.....	56
•	IMPLICATION OF AGPS-GPI IN CICHORIUM SOMATIC EMBRYOGENESIS.....	57
•	PRODUCTION ET CARACTERISATION DE SONDES IMMUNOCHIMIQUES ANTI-LIGNINES : ETUDE ULTRASTRUCTURALE DES LIGNINES DE LA PAILLE DE BLE.	58
•	ETUDE DES DOMAINES STRUCTURAUX DES PECTINES D'ECORCES DE CITRON.....	59
•	ETUDE IN VITRO DES INTERACTIONS CELLULOSE/XYLOGLUCANE/PECTINES.....	60
•	UTILISATION DES MODELES DE MELANGE DE DISTRIBUTION DE PROBABILITES POUR LA CLASSIFICATION DE DONNEES TRANSCRIPTOME SUR LES FAMILLES AGP ET LTP.....	61
•	REACTIVE OXYGEN SPECIES DETECTION IN ARABIDOPSIS ROOTS BY CONFOCAL MICROSCOPY	62
•	ROS AND CLASS III PEROXIDASES : ROLE DURING ELONGATION.....	63
•	PEROXIBASE: A PLANT CLASS III PEROXIDASES DATABASE	64

LES PROTEOGLYCANES VEGETAUX : ROLE DANS LE CONTROLE DE LA MORPHOGENESE CELLULAIRE.

Sophie Aboughe Angone¹, Eric Nguema-Ona¹, Patrice Lerouge et Azeddine Driouich¹

UMR CNRS 6037- IFRMP23. Centre Commun de Microscopie Electronique. Université de Rouen - 76821 Mont Saint-Aignan Cedex, France.

Les Arabinogalactane-Protéines (AGPs) sont des protéoglycannes spécifiques des végétaux appartenant à la famille des HRGPs (Hydroxyproline-Rich Glycoproteins). Elles sont localisées principalement dans la paroi, la membrane plasmique et le milieu de culture des suspensions cellulaires [1]. La O-glycosylation de ces protéines a lieu dans le système endomembranaire de sécrétion et se fait principalement sur l'acide aminé hydroxyproline (Hyp). La partie O-glycannique, pondéralement importante (90-99% de la masse), est composée majoritairement de D-galactose et de L-arabinose [1]. Les AGPs ont la particularité de se lier de façon réversible à un antigène synthétique le β -D-glycosyl de yariv permettant ainsi leur localisation, leur isolement et l'étude de leurs fonctions [2]. Les AGPs semblent jouer un rôle non négligeable dans la croissance cellulaire et l'embryogenèse somatique [1]. Elles sont également utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique comme c'est le cas pour la gomme arabique d'*Acacia senegal* [3].

Dans le cadre de nos travaux sur la biosynthèse des protéoglycannes chez les plantes, nous étudions l'effet de la 3,4-Déhydroproline (3,4-DHP) sur la structure et la fonction des AGPs dans les suspensions cellulaires de tabac (bright-yellow 2:BY-2). Une lignée sauvage et une lignée transgénique (exprimant une AGP::GFP) sont employées dans cette étude. La 3,4-DHP est un analogue non métabolisable de l'Hyp qui inhibe la prolyl-hydroxylase et réduit considérablement la O-glycosylation des HRGPs y compris les AGPs [4].

Nous avons ainsi examiné l'effet de la 3,4-DHP 1) sur la viabilité et la morphologie cellulaires par microscopie et 2) sur la composition monosaccharidique et la mobilité électrophorétique des AGPs par chromatographie et électrophorèse. Nos résultats montrent que la morphologie cellulaire ainsi que la structure des AGPs sont fortement modifiées, supportant ainsi que l'importance de la O-glycosylation dans la fonction des HRGPs, telles que les AGPs.

Mots-clefs : Arabinogalactane-Protéines, 3,4-Déhydroproline, Paroi, Plantes

References:

1. Showalter AM (2001) Arabinogalactan-proteins: structure, expression and function. Cell. & Mol. Life Sci. 58: 1399-1417
2. Yariv J, Rapport MM, and Graf L (1962) The interaction of glycosides and saccharides with antibody of the corresponding phenylazoglycosides. Biochem. J. 85: 383-388
3. Majewska-Sawka, Nothnagel EA (2000) the multiple roles of arabinogalactan proteins in plant development. Plant Physiology 122: 3-9
4. Cooper JB, Heuser JE, Varner JE (1994) 3, 4-Dehydroproline inhibits cell wall assembly and cell division in tobacco protoplasts. Plant Physiology 104: 747-752

[!\[\]\(735ceeed4e566aa93749bb6365185b00_img.jpg\) **Retour vers table résumé**](#)

EFFET D'UN TRAITEMENT AUTOCLAVE SUR LA COMPOSITION ET LA STRUCTURE DES FIBRES DE LIN

S. ALIX¹, S. MARAIS¹ et C. MORVAN².

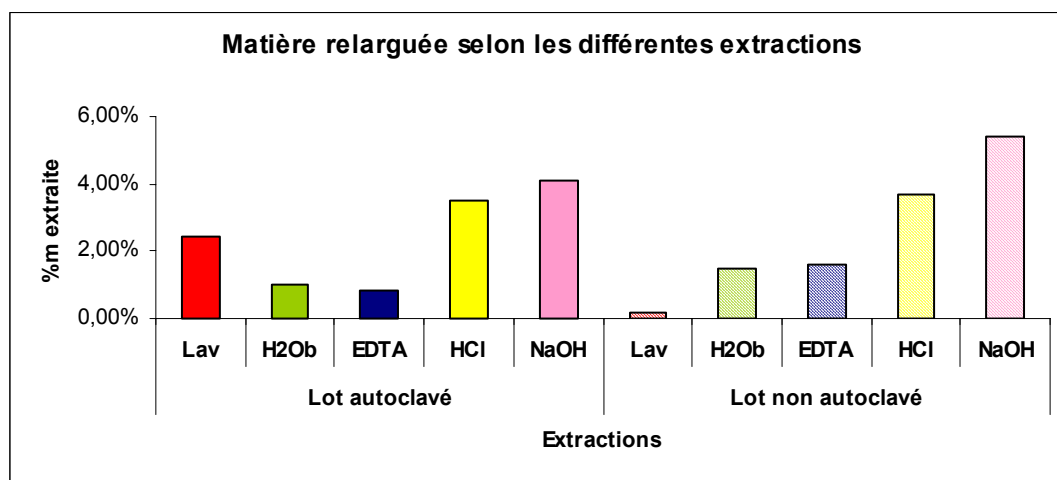
¹ Université de Rouen, UMR 6522, 76821 Mont Saint Aignan Cedex

² Université de Rouen, UMR 6037, 76821 Mont Saint Aignan Cedex

D'après les travaux de Gouanvé *et al* [1], le traitement à l'autoclave sur des fibres de lin, destinées à être utilisées comme renfort dans un matériau composite, permet de diminuer la sorption à l'eau du composite. Pour comprendre le phénomène qui se produit, la composition des fibres qui ont subi ou non le traitement à l'autoclave a été étudiée.

Une série d'extractions successives est effectuée sur un mat de lin selon le protocole d'écrit par Mooney *et al* [2] et Mazumder *et al* [3] : eau (25°C 15 min puis 100°C 3x1h), éthylène diamine tétra-acétique (EDTANa₂ 0,25% 100°C 2x2h), acide chlorhydrique (HCl 0,15M 100°C 2x1h) et soude (NaOH 1,5M + NaBH₄ 0,1M 100°C 1h). Les extraits obtenus sont ensuite analysés après méthanolyse et silylation par chromatographie en phase gazeuse afin de déterminer leur composition osidique [4].

La comparaison des masses de polymères obtenues après chaque extraction montre que le traitement autoclave fragilise de nombreux composés pariétaux, i.e. 2,3% par rapport à un total de 12% de polysaccharides non cellulotiques présents dans les fibres (tableau). Ces composés diffusent facilement dans l'eau à 25°C. La comparaison des rendements d'extraction des fibres traitées et non traitées indique que le traitement autoclave affecte pour moitié des pectines de surface (jusqu'à 40% de leur total) et pour autre moitié des pectines incrustant les micro-fibrilles de cellulose des parois secondaires (représentant environ 15% de leur total).



La bibliographie indique que les pectines de surface (paroi primaire et jonctions intercellulaires) sont constituées majoritairement de rhamnogalacturonanes de type I (RGI) possédant de courtes chaînes de galactose (DP 1 à 3) [4]. Les pectines des parois secondaires se différencient des précédentes par la longueur des chaînes latérales constituées de α -(1-4)-galactose (DP 15 à 30) [5 et 6].

Les résultats de composition osidique confirment que le traitement à l'autoclave favorise l'extraction des deux classes de RGI (à courtes et longues chaînes latérales de galactose).

L'effet de l'autoclave a été également abordé en comparant les taux d'hydratation des fibres. Les résultats obtenus sont en accord avec les résultats de F. Gouanvé [1]. Par ailleurs, un autre paramètre a été étudié : l'effet du mode de séchage des fibres sur leur cinétique de réhydratation. Les fibres ont été séchées selon 5 modes : étuve à 110°C pendant 30 minutes, étuve à 80°C pendant 45 minutes, étuve à 40°C pendant 135 minutes, lyophilisateur pendant 24 heures et micro-ondes pendant 30 minutes.

C'est après le séchage à 110°C que les fibres se réhydratent le moins et le moins rapidement. Cependant, dans l'optique d'une utilisation des fibres dans des matériaux composites, une question se pose : Est-ce que le séchage à 110°C n'altère pas les propriétés mécaniques des fibres ? Les travaux de Baley [7] rapportent l'effet négatif de ce type de séchage. En perspective, l'effet des autres modes de séchage sur les propriétés mécaniques devra être analysé.

- [1] Gouanvé F. *et al* Composite Part A (sous presse).
- [2] Mooney C. *et al* J Biotech 89 (2001) 205-216.
- [3] Mazumder S. *et al* J Agric Food Chem 52 (2004)3556-3562.
- [4] Goubet F. *et al* Carbohydr Polymer 27 (1995) 221-227.
- [5] Girault R. *et al* IntlJ Biol Macromol 21 (1997) 179-188.
- [6] Gorshkova T. *et al* Plant Physiol 110 (1996) 721-729.
- [7] Baley C. *et al* Macromol Symp 222 (2005) 195-201.

[!\[\]\(c3cffc168beb4396c1e1a5a6db5d66b0_img.jpg\) **Retour vers table résumé**](#)

ETUDE TOPOCHIMIQUE ET MICRO-ANALYTIQUE DES PARENCHYMES LIGNIFIES ET NON-LIGNIFIES D'*URTICA DIOÏCA* L. PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE (TEM) MICRODISSECTION A CAPTURE LASER (LCM)

G. Angeles^{1,2}, J-P. Joseleau¹, Ph. Lorimier³, A. Lefèvre¹ et K. Ruel¹

1 Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales (CERMAV, UPR-CNRS 5301), Grenoble ;
2 Instituto de Ecologia, A.C., Xalapa, Veracruz, Mexico ; 3 Département d'Anatomie et Cyto-Pathologie, CHU Grenoble

Il est généralement admis que dans une plante les différents tissus doivent leur spécificité physiologique à leurs parois. Ainsi, les cellules végétales varient par leur forme, leur morphologie et la composition de leur paroi. Dans le xylème secondaire des plantes de la famille des Urticaceae, co-existent des parenchymes lignifiés et non-lignifiés. On ne connaît pas les raisons ni les facteurs qui déterminent cette sélectivité dans la mise en place du processus de lignification. Nous avons voulu analyser les différences de composition et d'organisation de ces deux types de parenchymes. Les données sur l'architecture macromoléculaire et la topochimie des parois sont cependant limitées par les difficultés d'analyser avec précision la composition de chaque type cellulaire par micro-dissection et micro-analyse. En adaptant la technique de micro-dissection à capture laser (LCM) à un matériel végétal particulièrement résistant au niveau des lamelles mitoyennes, nous avons pu séparer et isoler les cellules des parenchymes lignifié et non-lignifié, ainsi que les fibres du xylème d'*Urtica dioïca* afin de les soumettre ensuite à une analyse de leurs teneurs et compositions respectives en polysaccharides. Des quantités de l'ordre de 50 – 70 microgrammes (poids sec) de cellules ont été isolées et extraites pour obtenir les parois sur lesquelles les hydrolyses et la conversion en acétates d'alditols ont été conduites dans un seul tube. Les résultats montrent la prédominance des xylanes dans tous les types cellulaires. La composition en polysaccharides non-cellulosiques est nettement distincte entre le parenchyme non-lignifié et le parenchyme lignifié, ce dernier présentant une assez forte similitude avec la composition des fibres. Cela suggère qu'un environnement hémicellulosique particulier soit requis pour la lignification des parois secondaires. L'étude de la distribution topochimique par immuno-cytochimie en TEM des lignines de différents types dans les cellules du parenchyme lignifié et dans les fibres fait ressortir d'autres similitudes.

[!\[\]\(2020723f97c3fe13d8ecf52b30807736_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

RECHERCHE DE FACTEURS DE TRANSCRIPTION IMPLIQUES DANS LA DIFFÉRENTIATION DES FIBRES G DU BOIS DE TENSION CHEZ LE PEUPLIER : ANALYSE DE L'EXPRESSION DES GENES DE LA FAMILLE LIM.

Dominique Arnaud, Marie-Claude Lesage-Descauses, Nadège Millet, Françoise Laurans, Annabelle Déjardin, Jean-Charles Leplé, Gilles Pilate.

Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, INRA-Orléans, Avenue de la pomme de pin BP 20619 Ardon, F-45166 OLIVET cedex, FRANCE

Lorsqu'un arbre se trouve, suite à une contrainte environnementale, dans une position inclinée par rapport à la verticale, celui-ci réagit et se redresse en formant du bois de réaction. Ce bois, appelé bois de tension chez les angiospermes, est situé sur la partie supérieure des tiges inclinées. Il se caractérise par la présence de fibres particulières à parois très épaisses appelées fibres G et sa formation résulte en partie de l'expression différentielle d'un ensemble de gènes. L'objectif de ce travail consiste en l'identification de facteurs de transcription impliqués dans la différenciation des fibres G du bois de tension.

Parmi les 10 000 clones des banques ESTs de bois de peuplier (*Populus tremula* x *alba*) du projet Lignome (Déjardin et al, 2004), 125 homologues à des facteurs ou cofacteurs de transcription ont été identifiés par alignement de séquences avec les bases de données Swissprot, Transfac, et Genbank. L'étude de leur distribution dans ces banques montre que la famille de facteurs de transcription la plus représentée dans ces différentes parties du bois est la famille LIM avec 37 EST. Six gènes (*Ptlim1* à *6*) de cette famille sont présents dans nos banques. *Ptlim1* est le cluster comportant le plus d'EST (14) provenant en majorité de jeune xylème de bois tendu et de xylème mature. Les séquences des EST correspondant aux gènes *Ptlim1* à *6* ont été complétées et les ADNc pleine longueur ont été obtenus. Dans la banque d'EST populusDB (*Populus tremula* x *tremuloides*, <http://www.populus.db.umu.se/>), les EST homologues à *Ptlim1* sont retrouvés dans le bois de tension et le xylème mature. Les EST homologues à *Ptlim3* et *Ptlim4* sont surtout issues de la zone cambiale. Celles de *Ptlim2* viennent de différents tissus et celles de *Ptlim6* sont également réparties entre la zone cambiale et le bois de tension. *Ptlim5* n'a qu'un seul homologue dans la banque populusDB et provient d'une banque de feuilles. La recherche des gènes LIM dans le génome du peuplier (*Populus trichocarpa*, <http://genome.jgi-psf.org/Poptr1/Poptr1.home.html>) montre qu'il existe au moins 11 modèles de gène de cette famille : *Ptlim1* à *11* respectivement situés sur les chromosomes 10, 8, 1, 14, 14, 2, 10, 2, 12, 15 et 1. Les gènes *Ptlim7* à *11* ne sont pas retrouvés dans les banques d'EST. Les gènes *Ptlim* comportent tous 4 introns sauf *Ptlim2* et *7* qui en contiennent 6. La forte homologie de séquence entre les gènes *Ptlim1* et *3*, *Ptlim2* et *7*, *Ptlim4* et *8*, *Ptlim5* et *6* et *Ptlim9* et *10* indique que ces 5 couples de gènes sont probablement des gènes dupliqués.

Les résultats d'analyse d'expression par RT-PCR semi-quantitative entre les différents organes de peuplier nous montrent que les gènes *Ptlim* ont des profils d'expression très différents. *Ptlim1* et *Ptlim6* sont spécifiques des tissus vasculaires et sont plus fortement exprimés dans le bois. *Ptlim2* est exprimé constitutivement dans tous les organes. *Ptlim3* n'est exprimé que dans le xylème de la racine et la tige. Et *Ptlim4*, aussi exprimé dans le xylème, est surtout exprimé dans les étamines. Les analyses RT-PCR menées sur des échantillons de jeune xylème tendu et opposé d'un arbre incliné pendant 15 jours indiquent que l'expression des gènes *Ptlim1*, *3* et *6* est induite dans le bois tendu tandis que celle de *Ptlim4* est réprimée dans le bois tendu.

L'ensemble de ces données sera complété avec d'autres analyses d'expression RT-PCR sur des échantillons issus d'une part d'une cinétique de formation de bois de tension au cours du temps et d'autre part issus de cellules de bois tendu ou de bois opposé à différents stades de différenciation cellulaire (cambium, jeune xylème, xylème mature).

[▶▶▶ Retour vers table résumé](#)

DEGRADATION PAR UNE XYLANASE D'UN COMPLEXE, LIGNINE DE SYNTHÈSE/GLUCURONARABINOXYLANES : CARACTÉRISATION DE L'ORGANISATION SUPRAMOLÉCULAIRE

A. Barakat^a, H. Winter^b, B. Saake^b, D. Lairez^c, B. Chabbert^a et B. Cathala^a

^a INRA, UMR Fractionnement des AgroRessources et Emballages INRA/URCA, Equipe Paroi et Matériaux Fibreux, CREA, 2 Esp. R. Garros BP 224, 51686 Reims Cedex, France.

^b Federal Research Centre of Forestry and Forest Products, Institute of Wood Chemistry and Chemical Technology of Wood, Hamburg, Germany

^c Laboratoire Léon Brillouin, CEA/CNRS, CEA-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette, France.

Résumé :

Chez les graminées, les hémicelluloses sont représentées par les glucuronarabinoxylanes. Ce sont des chaînes d'unités de D-xylose liées en β -(1 $\rightarrow$ 4), substituées par des résidus d'arabinose et en quantité moins importante des résidus d'acide 4-O-méthyl-glucuronique. Les résidus d'arabinose peuvent être estérifiés par l'acide férulique. Les hémicelluloses de graminées sont réticulées entre elles et avec les lignines directement ou par l'intermédiaire des acides p-hydroxycinnamiques. Ces réticulations conduisent à la mise en place de structures hétérogènes et la formation de complexes lignine-glucuronarabinoxylanes. Ces points de réticulation, les LCCs (Lignine Carbohydrates Complexe), semblent influencer la vitesse et le rendement de dégradation des polysaccharides. Ils peuvent être considérés comme un facteur important limitant la biodégradabilité des polysaccharides pariétaux par les enzymes. Ceci peut avoir des conséquences importantes pour certaines applications technologiques comme la délignification papetière, fermentation des coproduits lignocellulosiques, au bien encore l'incorporation des végétaux dans les sols.

Afin de modéliser la dégradation chimique ou enzymatique des LCCs, nous avons étudié des modèles chimiques, lignine-glucuronarabinoxylanes obtenus par polymérisation de l'alcool coniférylique (monomère des lignines) en présence de glucuronarabinoxylanes (AX) extraits d'avoine. Le complexe formé (AX-DHP = dehydrogénopolymères= lignine de synthèse) durant la synthèse est un colloïde. La chromatographie d'exclusion stérique nous a permis de mettre en évidence la formation des LCCs caractérisés par un pic élué à fortes masses possédant à la fois une signature UV et RI. Ce pic n'est pas présent dans les produits témoins et dans un mélange physique des deux composés. Des essais de dégradation enzymatique de ce complexe par une xylanase ont mis en évidence la résistance des LCCs à l'hydrolyse. Une étude par diffusion de la lumière de ces complexes nous a permis de caractériser la structure supramoléculaire des agrégats formés durant la réaction (Rayon de giration (R_g), Rayon hydrodynamique (R_h), Masse molaire (M_w), la densité, ...).

[▶▶▶ Retour vers programme](#)

[▶▶▶ Retour vers table résumé](#)

DES OLIGOSACCHARIDES DE TYPE GALACTOGLUCOMANNANE MODIFIENT LA DYNAMIQUE PARIETALE SECONDAIRE DES ELEMENTS TRACHEAIRES DEVELOPPES *IN VITRO* CHEZ *ZINNIA ELEGANS*.

Anna Benova[°], Ranocha Philippe, Alain Jauneau, Barbier Odile, Sabine Guillaumie, Florence Goubet*, Zhinong Zhang*, Paul Dupree*, Desana Lisková[°], Deborah Goffner, Catherine Digonnet. UMR-CNRS-UPS 5546, Pole de biotechnologie Végétale, 24 chemin de Borde-rouge, BP 17 Auzeville Tolosane, 31326 Castanet Tolosan, France.

[°] Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovakia

*Department of Biochemistry, Building O, Downing Site, Cambridge CB2 1QW, UK.

Les éléments trachéaires, unités fonctionnelles du xylème dérivées de programmes de différenciation ontogéniques, se mettent en place à des stades de développement précis de la plante. Dans les organes jeunes, le protoxylème présente des éléments trachéaires dont la paroi secondaire offre une ornementation de type annelé ou helicoïdale, permettant un allongement cellulaire. Les éléments trachéaires du métaxylème présentent des épaississements secondaires de type réticulé ou ponctué: ils se mettent en place plus tardivement et deviennent matures quand l'organe a cessé de s'allonger. L'entrée de la cellule pro/cambiale dans un de ces 2 programmes est induite par des signaux inconnus à ce jour et qui agissent comme des aiguilleurs capables d'orienter une cellule dans une voie de différenciation spécifique : protoxylème ou métaxylème.

Nous avons identifié une molécule effectrice, capable de modifier *in vitro* la proportion métaxylème/ protoxylème (MX/PX) et donc susceptible de nous guider dans la compréhension des mécanismes régulateurs de la différenciation vasculaire. Il s'agit d'oligosaccharides de type galactoglucomannane (GGMOs) et extraits de paroi secondaire de *Picea abies* [1]. L'apport exogène de GGMOs (50 µg ml⁻¹) dans le milieu de différenciation de *Zinnia elegans* [2] a permis de générer une culture xylogénique, présentant un taux de cellules viables élevé. Dans cette culture se différencie une population d'éléments trachéaires caractérisée par un pourcentage MX/PX supérieur au témoin. L'utilisation d'anticorps, dirigés contre les 1-4 mannanes, couplée avec les techniques de microscopie électronique à transmission et d'immuno-dot blot [3] nous a permis de détecter la présence de mannanes dans les cellules de *Z. elegans* en culture (cytoplasme et paroi) et l'accumulation de ces composés dans le milieu de culture xylogénique au cours du temps (entre 4 et 6 jours). Une analyse par PACE (polysaccharide analysis using carbohydrate gel electrophoresis) [3] de la structure des polysaccharides, couplée à l'utilisation d'enzymes spécifiques, nous a montré la présence de glucomannanes digestibles au sein de la paroi des cellules de *Z. elegans* se différenciant *in vitro*. Les GGMOs pourraient donc être générés naturellement dans le milieu de différenciation et jouer un rôle physiologique dans l'aiguillage des cellules vers une voie de différenciation particulière. Nous avons réalisé une étude transcriptomique à l'aide de puces à ADN générées à partir des banques élaborées avec les cultures xylogéniques de *Z. elegans* et identifié des gènes d'intérêt exprimés dans une culture induite sous contrôle des GGMOs, gènes clés de la transition protoxylème-métaxylème.

Références :

- [1] Capek P., Kubackova M., Alföldi J., Bilisics L., Liskova D., Kakoniova D. (2000) Galactoglucomannan from the secondary cell wall of *Picea abies* L. Karst. Carbohydr. Res. 332: 635-645.
- [2] Fukuda H, Komamine A. (1980) Establishment of an experimental system for the tracheary element differentiation from single cells isolated from the mesophyll of *Zinnia elegans*. Plant physiol. 52: 57-60.
- [3] Handford M.G., Baldwin T.C., Goubet F., Prime T.A., Miles J., Yu X., Dupree P. (2003) Localisation and characterisation of cell wall mannan polysaccharides in *Arabidopsis thaliana*. Planta 218: 27-36.

[!\[\]\(2b0f02b4a70afa75816b328a8d32ffe7_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

IMPACT DU GENE *CCR* SUR LA FORMATION DES PAROIS SECONDAIRES D'*ARABIDOPSIS THALIANA*

Jimmy BERRIO-SIERRA¹ ; Mohammad MIR DEVIKVAND² ; Lise JOUANIN², Catherine LAPIERRE³ et Katia RUEL¹

¹ Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales, CERMAV, Grenoble ; ² INRA Versailles ; ³ INA-Paris Grignon

La fonction de chacune des macromolécules constitutives dans l'assemblage des parois cellulaires des plantes n'est pas connue avec précision. Dans l'objectif de mieux comprendre le rôle des lignines, les plantes modèles transformées sur un ou plusieurs gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des monolignols constituent un matériel de choix pour la compréhension de la participation des lignines dans l'assemblage des parois. L'utilisation de la microscopie électronique en transmission (MET) permet de déceler les altérations induites par la répression d'un gène sur la formation des parois. Dans les travaux présentés ici, la mutation pour le gène codant la Cinnamoyl CoA Réductase (*CCR*) a donné des plantes caractérisées par un retard de développement et un phénotype nain. L'examen des mutants à des stades de maturité différents prélevés entre la base et le sommet de la tige a révélé des modifications phénotypiques ultrastructurales se traduisant par des parois secondaires incomplètement formées et à la texture lâche, caractéristiques du phénotype *CCR* (Goujon et al., 2003). Il est clair que les conséquences de la transformation se portent sur les vaisseaux dont la déformation traduit une résistance mécanique fortement amoindrie. A l'échelle ultrastructurale il apparaît que non seulement les vaisseaux mais aussi les fibres ont perdu la capacité d'assembler les microfibrilles de cellulose en un ensemble cohérent.

Goujon T, Ferret V, Mila I, Pollet B, Ruel K, Burlat V, Joseleau JP, Barrière Y, Lapierre C, Jouanin L. (2003) Down-regulation of the *AtCCR1* gene in *A. thaliana* : effects on the phenotype, lignins and cell wall degradability. *Planta*, 217: 218-228.

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DE LA PAROI DES FIBRES INDUITES PAR LES PROCEDES DE FABRICATION DES PAPIERS ET LEURS EFFETS SUR LES PROPRIETES MECANIQUES

Valérie BILLOSTA^{1,2} Alain COCHAUX², Jean-Paul JOSELEAU¹ et Katia RUEL¹

¹ Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales, CERMAV (CNRS, UPR 5301), Grenoble ; ² Centre Technique du Papier, CTP, Grenoble

Au cours des traitements papetiers les fibres subissent des transformations destinées à améliorer leur capacité de liaison inter-fibres et certaines de leurs propriétés mécaniques. Cependant, au delà de certaines limites les traitements peuvent endommager la paroi. En particulier, nous avons cherché à caractériser les effets du raffinage mécanique sur la micro-morphologie des fibres. Les effets provoqués par trois intensités de raffinage (4000, 6000 et 8500 rotations PFI) ont fourni trois pâtes kraft de degré Schopper-Riegler (°SR) différents. Les conséquences des raffinages ont été évaluées à travers les variations morphologiques mesurées à l'Analyseur MorFi et étudiées en MET. Les diminutions de largeur et de longueur de fibre, l'augmentation du nombre de coudes (kinks) et d'éléments fins, de même que les ouvertures internes dans l'ultrastructure des parois créent une microfibrillation croissante en fonction de l'intensité de raffinage. Ces modifications micromorphologiques des structures internes et externes sont reliées aux principales propriétés mécaniques mesurées sur les papiers correspondants. Les relations microstructure-propriétés mécaniques sont discutées en fonction des conséquences évaluées par les différents tests papetiers.

Billosta V, Brändström J, Cochaux A, Joseleau J-P, Ruel K. (2005) Ultrastructural organisation of the wood cell wall can explain modifications caused in fibres during the pulping process. Cellulose Chem. Technol., sous presse.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

IMPLICATION OF AGPs DURING SOMATIC EMBRYOGENESIS IN DIFFERENT GENOTYPES OF CHICORY.

Anne-Sophie BLERVACQ*, David WINDELS, Jean-Paul COUILLEROT, Marie-Christine QUILLET, Bruno DELBREIL, Jean-Louis HILBERT

Laboratoire de physiologie de la différenciation végétale, UE 3569-IFR118, Université des Sciences et Technologies de Lille, Bâtiment SN2, F-59650 VILLENEUVE D'ASCQ

Correspondant* : blervacq@univ-lille1.fr

During somatic embryogenesis (SE), differentiated cells dedifferentiate to redirect their genetic program towards an embryogenic pathway. Such cells re-enter in the cell cycle and prepare mitosis. The control of this process involves many proteins such as Arabinogalactan proteins (AGPs). These AGPs are highly glycosylated and rich in hydroxyproline. To study the implication of AGPs during the precocious phase of somatic embryo induction and development, we induced SE in different genotypes of Chicory. The pre-treatment of vitroplants with (ABA+Spermine+glycerol) greatly increases the number of embryos produced in embryogenic genotypes as well as in a few recalcitrant ones. The AGPs released in the culture medium was also monitored. An accumulation is observed since the 3rd day of culture, which corresponds to the first mitosis of reactivated cells. Only embryogenic genotypes were able to release such quantities of AGPs in the medium. These AGPs were analysed and compared between embryogenic and non embryogenic genotypes. If no major qualitative differences was noticed, quantitative aspects led us to suggest their implication during the precocious step of SE. Moreover, the use of □ D-Glc Yariv totally inhibits such a process. According to the fact that the release of AGPs seems to be a pre-requisite for SE processing, we undertook the research of AGPs-GPI as the GPI anchor and/or the AGPs released could be implicated in the SE induction. The use of phospholipase C inhibitors reduced and alters SE. Preliminary results led us to propose that AGPs released in the medium by embryogenic genotypes were AGP-GPI.

[▶▶▶ Retour vers table résumé](#)

AN ACETYLESTERASE FROM Aspergillus aculeatus ABLE TO DEACETYLATE PECTINS

E. Bonnin (1), S. Daniel (1), K. Clavurier (1), J. D. Mikkelsen (2), J.-F. Thibault (1)

(1) Unité de Recherche sur les Polysaccharides, leurs Organisations et Interactions
INRA, BP 71627, 44316 Nantes Cedex 03, France

(2) Danisco Cultor, Langebrogade 1, Copenhagen, Denmark

Pectins are complex plant cell wall polysaccharides characterised by a high content in galacturonic acid (GalA). They may be divided into two structurally different regions: homogalacturonan (HG) or “smooth” region, and rhamnogalacturonan (RG) or “hairy” region, which can be separated by enzymatic tools [1]. The carboxyl group of GalA residues may be methylesterified whereas the secondary alcoholic functions on C-2 and/or C-3 may be *O*-acetylated.

Pectin is used as a gelling agent in many industrial applications, due to its ability to form gels in the presence of Ca^{2+} ions which can cross-link their free carboxylic functions. In planta, the pectic cement holds cells together via calcium ions. The presence of acetyl groups may alter the physicochemical properties of pectin in its industrial uses as well as in planta as it hinders the association capacity of pectins [2]. In cell wall, the pectic network could be disturbed by the presence of acetyl groups [3], which could decrease cell adhesion [4].

Enzymes are usable to elucidate the fine chemical structure of pectins and to specifically modify their structure and functionality. This work deals with a new acetylerase. The enzyme was purified to apparent homogeneity from Ronozyme VP produced by Aspergillus aculeatus. Acetylated homogalacturonan from sugar beet pectin was used as the substrate along the enzyme purification. The enzyme was purified by various chromatography steps and the purified enzyme had a molar mass of 32.4 or 34.5 kDa as determined by SDS-PAGE or gel filtration, respectively.

A series of well characterized substrates was used to investigate its specificity. It was active towards various acetylated pectins and its efficiency was favoured by decreasing the degree of methylation of the substrate. It was able to release acetyl groups from acetylated homogalacturonan, oligogalacturonates as well as rhamnogalacturonan. It was thus defined as a pectin acetylerase, able to act in the “smooth” and the “hairy” regions of pectin.

[1] E. Bonnin, E. Dolo, A. Le Goff, J.-F. Thibault, Characterisation of pectin subunits released by an optimised combination of enzymes, Carbohydr. Res. 337 (2002) 1687-1696

[2] M.-C. Ralet, M.-J. Crépeau, H.C. Buchholt, J.-F. Thibault, Polyelectrolyte behaviour and calcium binding properties of sugar beet pectins differing in their degrees of methylation and acetylation, Biochem. Eng. J. 16 (2003) 191-201.

[3] B.L. Ridley, M.A. O'Neill, D. Mohnen, Pectins : Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling, Phytochem 57 (2001) 929-967.

[4] F. Liners, T. Gaspar, P. Van Cutsem, Acetyl and methyl-esterification of pectins of friable and compact sugar beet calli : consequences for intercellular adhesion, Planta 192 (1994) 545-556.

[!\[\]\(05ebac037cc6375f048d1fb0bccffd53_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

ANALYSE D'IMAGES MULTISPECTRALES EN MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE APPLIQUEE A L'IDENTIFICATION DE L'ORIGINE HISTOLOGIQUE DE PARTICULES ISSUES DE BROyage DE GRAIN DE BLE

M.-F. Devaux¹, B. Bouchet¹, C. Barron², F. Guillon¹

¹INRA – Biopolymères, Interactions, Assemblage - BP 71627, 44316 Nantes, France

²Unité mixte de Recherches Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, INRA-ENSAM-UMII-CIRAD, 2 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

Dans le cas des grains et graines, le devenir des tissus au cours des opérations de broyage, péricarpe, couche à aleurone et albumen amylacé, dépend de leur aptitude à la fragmentation et de leurs propriétés d'adhésion. Des études précédentes ont montré que la microscopie confocale à fluorescence permettait de visualiser différents tissus du grain de blé: péricarpe, tégument séminal et couche à aleurone grâce à leur autofluorescence, c'est à dire sans marquage préalable [1]. L'objectif de cette étude était d'utiliser les propriétés de fluorescence de ces différents tissus pour identifier, par analyse d'images multispectrales, la composition tissulaire des particules après broyage.

Des procédures d'acquisition d'images multispectrales en microscopie confocale à fluorescence et des procédures d'analyse d'images multispectrales ont été mises en oeuvre. Des images de la même scène sont acquises en faisant varier les conditions de fluorescence. L'analyse d'images multispectrales est basée sur la comparaison de profils d'intensité de fluorescence mesurés pour chacun des pixels. Des groupes de pixels peuvent ainsi être calculés, basés sur leurs propriétés de fluorescence. Les techniques de traitement utilisées dans ce travail ont été l'analyse en composantes principales d'images et la classification automatique de pixels.

La comparaison de profils de fluorescence de constituants pariétaux obtenus par spectroscopie de fluorescence et microscopie confocale montre que les conditions d'acquisition du microscope confocal sont adaptées pour étudier les principaux constituants fluorescents des assises externes du grain de blé, notamment la lignine et l'acide férulique.

Une base de référence du comportement de fluorescence des différents tissus du grain a été établie en prenant en compte 5 grains natifs de deux variétés de blé tendre. Des groupes correspondant à la couche à aleurone, au péricarpe et au tégument séminal ont été calculés par analyse d'images multispectrales réalisée sur des coupes de grains entiers. Le classement des pixels dans les groupes permet d'identifier des régions dans l'image correspondant à des comportements de fluorescence identiques. A l'intérieur du péricarpe, il n'a pas été possible d'identifier des groupes spécifiques des cellules longitudinales ou transversales.

Les groupes de fluorescence établis à partir des coupes de grains ont été utilisés pour segmenter des images de fractions de mouture de sons de blé issues d'un diagramme de broyage-tamissage. La provenance de particules de sons a pu être prédite. Pour les plus grosses particules, la morphologie a permis de vérifier la pertinence de la classification. Pour les plus petites, seules les propriétés de fluorescence permettent de déterminer l'origine probable des fragments.

Cette étude montre les potentialités de la microscopie confocale à balayage laser pour identifier la provenance de particules après déstructuration. Le traitement de piles d'images 3D est envisageable pour déterminer de manière plus précise l'adhésion de tissus dans les particules.

(1) Courcoux P, Devaux M-F, Bouchet B. (2002) Simultaneous decomposition of multivariate images using three-way data analysis. Application to the comparison of cereal grains by confocal laser scanning microscopy. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 62, 103-113.

[!\[\]\(8c57b89803f96ec6a85c7bf6d7f021a5_img.jpg\) **Retour vers table résumé**](#)

EP1 : UNE PROTEINE PARIETALE AUX PROPRIETES REMARQUABLES

Carpentier¹ E., Klein-Eude¹ D., Saint-Jean¹ B., Gallet² O., Paris¹ N. et Balangé¹ P.A.

(1) Laboratoire de Glycobiologie et Transports chez les Végétaux, CNRS UMR 6037, IFRMP 23, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan cedex.

(2) Equipe de Recherche sur les Relations Matrice Extracellulaire-Cellules (ERRMECE), Université de Cergy Pontoise, Site de S^t Martin, 2 rue Adolphe Chauvin, 95302 Cergy-Pontoise cedex.

Chez les végétaux, les mécanismes régissant l'adhésion et les interactions cellulaires sont encore très largement méconnus. En revanche, chez les animaux, l'adhésion cellulaire a été très largement étudiée, notamment en ce qui concerne les interactions entre les intégrines et les protéines de la matrice extracellulaire, *via* le motif RGD (Arg-Gly-Asp). Cette liaison peut induire un regroupement de protéines de la matrice au niveau d'un site d'adhésion focale, formant ainsi des points d'adhésion permettant, par exemple, la transduction des signaux [1]. De nombreuses protéines portant un motif RGD sont présentes dans les matrices extracellulaires des animaux, la plus connue et la plus étudiée étant la fibronectine.

Chez les végétaux, des études ont montré que des peptides synthétiques portant un ou plusieurs motifs RGD provoquaient un taux de croissance cellulaire plus élevé que celui de cellules cultivées en conditions standards [2]. De plus, une étude récente a montré que les filaments de Hecht observés après plasmolyse pouvaient être rompus lorsque les cellules étaient cultivées en présence de peptide RGD synthétiques [3]. Il semblerait donc que les cellules végétales soient capables de reconnaître les protéines ayant un motif RGD au sein de leur séquence.

Au laboratoire, nous avons pu isoler deux protéines pariétales de lin possédant un motif RGD et nous avons focalisé notre étude de ce motif sur la protéine EP1, glycoprotéine qui a été caractérisée dans les suspensions de carotte [4]. Afin d'étudier ses propriétés d'adhésion, EP1 a été produite dans les cellules d'insectes Sf9, purifiée puis des tests d'adhésion ont été réalisés. De plus le clonage de son promoteur par *Walking PCR* a permis de découvrir de nombreux motifs dont un impliqué dans la réponse aux infections par les pathogènes, ce qui a été vérifié expérimentalement.

[1] Yamada K.N. et Miyamoto S. (1995) Integrin transmembrane signalling and cytoskeletal control . *Cur. Opin. Cell Biol.*, **7**: 681-689.

[2] Schindler M., Meiners S. et Cheresch D. (1989) RGD-dependent linkage between plant cell wall and plasma membrane: consequences for growth. *J. Cell Biol.*, **108**: 1955-1965.

[3] Senchou V., Weide R., Carrasco A., Bouyssou H., Pont-Lezica R., Govers F. et Canut H. (2004) High affinity recognition of a *Phytophthora* protein by *Arabidopsis* via an RGD motif. *Cell. Mol. Life Sci.*, **61**: 001-008.

[4] van Engelen F., Hartog M., Thomas T., Taylor B., Sturm A., van Kammen A. et de Vries S. (1993) The carrot secreted glycoprotein gene EP1 is expressed in the epidermis and has sequence homology to Brassica S-locus glycoproteins. *Plant J.*, **4**: 855-862.

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

IDENTIFICATION DE FACTEURS DE TRANSCRIPTION IMPLIQUES DANS LA REGULATION DE L'EXPRESSION DE GENES DE LA VOIE DE BIOSYNTHESE DES LIGNINES

Chaubet-Gigot N, Pacquit V, Rech P., Rahantamalala A., Grima-Pettenati J.

UMR 5546, Université Paul Sabatier–CNRS, Pôle de Biotechnologie Végétale, 24 chemin de Borde Rouge, BP 42617 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan, France

Notre équipe s'intéresse à la régulation transcriptionnelle des gènes impliqués dans la biosynthèse des lignines, notamment au niveau des étapes terminales de la biosynthèse des monolignols : cinnamoylCoA réductase (CCR) et alcool cinnamylique deshydrogénase (CAD). L'étude fonctionnelle des régions promotrices des gènes *CCR* et *CAD* d'*Eucalyptus* dans des plantes transgéniques a permis de caractériser des régions régulatrices d'environ 50 pb responsables de leur expression préférentielle dans le xylème et dans les cellules en division [1]. Ces régions contiennent une ou plusieurs séquences consensus pour la fixation de facteurs de transcription de la famille MYB, ainsi que d'autres éléments sans homologie de séquence avec des éléments déjà répertoriés. Ces régions sont capables de lier spécifiquement des protéines nucléaires *in vitro* [1].

Deux approches complémentaires sont développées afin d'identifier, d'une part, les éléments cis-régulateurs des régions promotrices, et d'autre part, les facteurs de transcription ainsi que leurs protéines partenaires. Des constructions contenant les promoteurs mutés dans ces éléments (individuellement ou en combinaisons) et fusionnés au gène rapporteur GUS codant la glucuronidase, ont été introduites dans des plantes de tabac. La mutagenèse entraîne une diminution de l'expression, mais pas une extinction totale, ce qui indique une certaine redondance des éléments cis. L'analyse microscopique de la spécificité tissulaire et cellulaire de l'expression des différentes constructions est en cours. En parallèle, les régions régulatrices mutées ont été testées dans des expériences de gel-retard (EMSA) pour déterminer le rôle de chaque élément dans la fixation de protéines régulatrices *in vitro*. Il semble que tous les éléments soient nécessaires à la fixation optimale de deux complexes majeurs, mais avec une fixation préférentielle d'un des complexes sur les sites Myb, et de l'autre sur les sites non répertoriés.

La stratégie de purification des complexes de transcription est basée sur la capacité des protéines régulatrices à reconnaître *in vitro* les séquences promotrices *CAD* et *CCR*. Un protocole de chromatographie classique a été couplé à une purification spécifique par chromatographie d'affinité-ADN avec la région régulatrice greffée sur une colonne. La fraction éluée est en cours d'analyse par spectrométrie de masse.

Deux facteurs de transcription de la famille MYB, exprimés dans le xylème d'*Eucalyptus* et capables d'interagir *in vitro* avec les régions régulatrices de *CAD* et *CCR*, ont été surexprimés dans des plantes transgéniques. Cette surexpression entraîne une modification de l'expression des gènes de la voie de biosynthèse des lignines, l'un des facteurs MYB jouant un rôle activateur, et l'autre un rôle répresseur. En ce qui concerne l'activateur, l'activation différentielle de certains gènes de la voie entraîne une modification du rapport entre les unités monomériques S et G des lignines. D'autre part, la couche S2 de la paroi secondaire des cellules du xylème est épaissie de 50%, ce qui suggère que ce facteur MYB pourrait également intervenir dans la structuration de la paroi végétale [2]. L'ensemble de ces études devrait permettre une meilleure compréhension des mécanismes qui régulent la biosynthèse des lignines et de la paroi végétale.

[1] Lacombe E, Van Dorsselaere J, Boerjan W, Boudet AM, Grima-Pettenati J (2000) Characterization of cis-elements required for vascular expression of the Cinnamoyl CoA reductase gene and for protein-DNA complex formation, 23, 663-676.

[2] Goicoechea M, Lacombe E, Legay S, Milhaevic S, Rech P, Jauneau A, Lapierre C, Pollet B, Verhaegen D, Chaubet-Gigot N, Grima-Pettenati J (sous presse) Plant J., *EgMYB2*, a new transcriptional activator from *Eucalyptus* xylem, regulates secondary cell wall formation and lignin biosynthesis.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DES MUTANTS D'*ARABIDOPSIS THALIANA* AFFECTES DANS L'EXPRESSION DE GENES D' α -L-ARABINOFURANOSIDASES

R. Chávez, Z. Minic, Ph. Ranocha, A. Freydier, A. Jauneau, L. Jouanin, Y. Barrière, M. Pichon, et D. Goffner.

UMR 5546 CNRS-Univ. Paul Sabatier, "Surfaces cellulaires et signalisation chez les végétaux", 24 chemin de Borde Rouge, B.P. 42617 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan.

Au cours d'une approche de génomique fonctionnelle menée pour identifier des gènes impliqués dans la mise en place de la paroi secondaire lors de la xylogénèse chez *Zinnia elegans*, nous avons isolé une séquence présentant des homologies avec les α -L-arabinofuranosidases. De plus, une approche de protéomique menée en parallèle a permis de montrer qu'au moins une α -L-arabinofuranosidase est abondante dans des hampes florales d'*Arabidopsis*.

Les α -L-arabinofuranosidases catalysent l'hydrolyse des α -L-arabinoses terminaux non réducteurs. Toutefois, il est connu que certaines glycosyl-hydrolases sont capables d'hydrolyser plus d'un type de substrat. Les α -L-arabinofuranosidases végétales sont en réalité des enzymes bifonctionnelles qui cumulent une activité α -L-arabinofuranosidase avec une activité β -D-xylosidase. Chez *Arabidopsis*, il existe deux gènes dont les produits sont désignés dans les bases de données comme " α -L-arabinofuranosidase" et appartiennent à la famille 51 des glycosyl-hydrolases : les gènes At3g10740 (le gène le plus proche de celui de *Zinnia*) et At5g26120.

Nous avons obtenu des mutants insertionnels d'*Arabidopsis* pour chacun de ces deux gènes : *araf1* pour At3g10740 et *araf2* pour At5g26120. Chez chacun de ces mutants, l'activité enzymatique α -L-arabinofuranosidase correspondante n'est plus détectable. A ce jour, l'analyse phénotypique est plus avancée pour *araf1* que pour *araf2*. Quand les plantes sont cultivées en salle de culture, *araf1* est plus petit que les plantes sauvages. De plus, des études d'immunolocalisation à l'aide de l'anticorps LM6 indiquent une accumulation préférentielle des arabinanes dans les cellules des fibres des faisceaux vasculaires et dans les cellules du parenchyme racinaire. De façon inattendue, et sans explication pour l'instant, le cortex des hampes du mutant *araf1* contient des chloroplastes plus grands que ceux d'une plante sauvage. Nous poursuivons actuellement l'analyse phénotypique des deux mutants *araf1* et *araf2*, non seulement d'un point de vue physicochimique (composition des parois, propriétés mécaniques des hampes, FT-IR, ...) mais aussi d'un point de vue physiologique (germination, fonctionnement des stomates, ...) afin de préciser le rôle *in vivo* des α -L-arabinofuranosidases dans la structure et la fonction de la paroi. Ces résultats et ceux obtenus dans le cas de doubles mutants *araf1/araf2* et *araf1/xyl1* (*xyl1* étant un gène codant pour une β -D-xylosidase) seront présentés.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

EVOLUTION DES CARACTERISTIQUES CHIMIQUES ET HISTOLOGIQUES DES FIBRES EXTRA-XYLEMIENNES AU COURS DE LA MATURATION DU CHANVRE

D. Crônier, B. Chabbert

INRA, UMR Fractionnement des AgroRessources et Emballages INRA/URCA, Equipe Parois végétales et Matériaux Fibreux, CREA, 2 Esp.R. Garros, BP 224, 51686 Reims cedex

Au-delà des applications traditionnelles dans le domaine de la papeterie, l'utilisation croissante des fibres externes de la tige de chanvre dans les biomatériaux offre une diversification des usages de cette culture peu exigeante sur le plan agronomique. A l'instar du lin, les fibres de chanvre présentent des propriétés mécaniques remarquables qui reposent sur des caractéristiques morphologiques mais aussi sur l'architecture cellulosique et l'organisation des polymères pariétaux dans la paroi de la fibre [1,2]. En effet, les fibres de lin et de chanvre montrent diverses similitudes: origine botanique, paroi secondaire très épaisse, teneur élevée en cellulose, faible taux de lignine. Plus largement, les parois fortement cellulosiques et peu lignifiées rencontrées dans ces fibres extra-xylémiennes mais aussi dans des fibres xylémiennes (fibre gélatineuse du bois de tension) offrent des structures pariétales et des situations organisationnelles distinctes du modèle apporté par les fibres lignifiées de bois.

Dans le cadre de nos travaux portant sur ces architectures particulières [3,4], nous avons précisé la nature des constituants non cellulosiques des fibres extra xylémiennes de chanvre et leur évolution depuis un stade végétatif jusqu'à maturité de la graine. Le principal indicateur de la maturation des fibres de chanvre réside dans la diminution de la teneur en protéines pariétales. Parallèlement, l'évolution des polymères non-cellulosiques se traduit par un dépôt accentué de (galacto)glucomannanes dans la paroi déjà épaissie. La présence de lignines, principalement associée à la zone mitoyenne, est détectée dès le stade végétatif toutefois les teneurs n'évoluent pas significativement avec le développement du chanvre. Les données obtenues suggèrent que les fibres de chanvre se distinguent sensiblement des parois de lin, ces différences sont à rapprocher des variations structurales de la cellulose [5]

1-Baley, C. Analysis of flax fibres tensile behaviour and analysis of the tensile stiffness increase. *Composites: Part A* 2002, 33, 939-948.

2-Morvan, C.; Andeme-Onzighi, C.; Girault, R.; Himmelsbach, D. S.; Driouich, A.; Akin, D. E. Building flax fibres: more than one brick in the walls. *Plant Physiology and Biochemistry* 2003, 41, 935-944.

3-Pilate, G.; Chabbert, B.; Cathala, B.; Yoshinaga, A.; Leple, J.C.; Laurans, F.; Lapierre, C.; Ruel K. Lignification and tension wood. *Comptes Rendus Biologies*, 2004, 327: 899-901.

4-Day, A.; Ruel, K.; Neutelings, G.; Crônier, D.; David, H.; Hawkins, S.; Chabbert, B. Lignification in the flax stem: evidence for an unusual lignin in bast fibers. *Planta*, 2005, in press.

5-Bonatti, P. M.; Ferrari, C.; Fochoer, B.; Grippo, C.; Torri, G.; Cosentino, C. Histochemical and supramolecular studies in determining quality of hemp fibres for textile applications. *Euphytica*, 2004, 140, 55-64.

[**►►► Retour vers table résumé**](#)

CARACTERISATION D'UN PROMOTEUR DE CELLULOSE SYNTHASE SPECIFIQUE DU BOIS DE TENSION DE PEUPLIER

Déjardin A., Laurans F., Millet N., Moreau A., Lesage-Descauses M.-C., Leplé J.-C. et Pilate G.

INRA Centre d'Orléans, Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Domaine de Limère, BP 20 619 ARDON, 45 166 OLIVET CEDEX

En réaction à des contraintes mécaniques (vent, gravité), le peuplier produit un bois particulier, appelé bois de tension, sur la face supérieure des tiges, lui permettant de réorienter son axe vers la verticale. Par comparaison à des fibres de bois « normal », la paroi des fibres de bois de tension présente sur sa face interne une couche très épaisse, riche en cellulose cristalline, dont les microfibrilles sont pratiquement parallèles à l'axe de la fibre.

Les mécanismes impliqués dans la perception de la contrainte mécanique, la transmission du signal et la modification du programme génétique conduisant à la formation du bois de tension, sont à l'heure actuelle très mal connus [1]. Pour élucider ces mécanismes complexes, nous cherchons à identifier les gènes spécifiquement ou préférentiellement exprimés dans le bois de tension (voir résumé Leplé et al.), ainsi que, pour certains d'entre eux, à cloner leur promoteur, dont l'activité est potentiellement stimulée lors du stress mécanique. Chez le tremble (*Populus tremuloides*) Wu et collaborateurs ont montré qu'un gène de cellulose synthase est spécifiquement exprimé dans le xylème secondaire [2]; Introduit dans le tabac, le promoteur du gène, fusionné au gène rapporteur GUS, est actif uniquement sur la face supérieure des tiges, dans le xylème et les fibres de phloème tendus [2]. Le promoteur de ce gène a été cloné par PCR chez *Populus tremula* x *P. tremuloides*, à partir de la séquence publiée chez le tremble (AF197911). Sa séquence (900 pb) est pratiquement identique sauf pour une zone de 30 pb. Aucune zone régulatrice n'a pu être clairement identifiée. A partir du vecteur pCambia, ce promoteur fusionné au gène rapporteur GUS a été introduit dans des peupliers transgéniques (clone femelle de *Populus tremula* x *P. alba*, 717-1-B4). Trois lignées indépendantes ont été inclinées pendant 10 jours avant prélèvement pour des tests de coloration GUS. Le promoteur s'exprime fortement dans le xylème en cours de différenciation dans le bois de tension, mais non dans les toutes premières cellules de xylème issues du cambium. L'expression du promoteur n'est pas détectée dans les arbres restés droits. De par la localisation de son expression, il est très vraisemblable que ce gène de cellulose synthase soit impliqué dans la production de cellulose cristalline dans la paroi des fibres de bois de tension.

Dans le but de déterminer sur ce promoteur la zone régulatrice impliquée dans la réponse au stress mécanique, trois délétions de promoteur (622 pb, 419 pb et 238 pb) fusionnées au gène GUS ont été introduites dans des peupliers transgéniques. Le promoteur complet fusionné au gène GUS a également été introduit chez *Arabidopsis* pour suivre son activité en système hétérologue. L'analyse de ces plants sera présentée et les perspectives de ce travail seront discutées.

Références

1- Pilate G., Déjardin A., Laurans F. and Leplé J.-C. (2004) Tension wood as a model for functional genomics of wood formation. *New Phytologist* 164 : 63-72.

2- Wu L., Joshi C.P., Chiang V.L. (2000). A xylem-specific cellulose synthase gene from aspen (*Populus tremuloides*) is responsive to mechanical stress. *Plant Journal* 22(6):495-502.

[!\[\]\(3d12067139d6a2b0989a839672a8beec_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

IDENTIFICATION ET CARACTERISATION D'UN MUTANT D'*ARABIDOPSIS* POUR LA PREMIERE *O*-METHYLATION DES PRECURSEURS DES LIGNINES

Cao-Trung Do¹, Brigitte Pollet², Richard Sibout³, Johanne Thévenin¹, Grégory Mouille¹, Catherine Lapierre², Lise Jouanin¹

¹Biologie cellulaire, INRA, 78026 Versailles cedex, France

²Chimie biologique, INRA-INA PG, 78850 Thiverval-Grignon, France

³Laurentian forestry centre, PO Box 3800, Québec G1V 4C7, Canada

La première *O*-méthylation en position 3 du cycle aromatique des précurseurs des lignines est réalisée par la caféoyl CoA 3-*O*-méthyltransférase (CCoAOMT-1) qui ajoute un groupement CH₃ au caféoyl CoA pour le transformer en féruloyl CoA. Cette enzyme est codée par le gène At4g34050 chez *Arabidopsis thaliana*. Ce gène est fortement exprimé dans les tiges et les racines. Des expériences d'immunolocalisation et d'expression du gène *gus* sous le contrôle du promoteur du gène *CCoAOMT-1* montrent une expression spécifique des tissus lignifiés (xylème et fibres interfasciculaires).

Un mutant nul pour la CCoAOMT-1 a été identifié dans la collection SALK de mutants d'insertion par ADN-T et caractérisé. Ce mutant à l'état homozygote présente une croissance semblable au sauvage en serre. Les conséquences de cette mutation sur la quantité et la qualité des lignines seront présentées.

[!\[\]\(60e47655fb197d54441c05dfe4d601ea_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

STRUCTURES AND PROPERTIES OF MODIFIED WINE ARABINOGLACTANS

VICENS Anyisia, WILLIAMS Pascale, VERNHET Aude and DOCO Thierry

Institut National de la Recherche Agronomique,

Joint Research Unit « Sciences for Enology »,

Equipe Technologies Intégratives,

2 place Viala, F-34060 Montpellier Cedex 1

doco@ensam.inra.fr

Polysaccharides are a main group of macromolecules in wine. Grape polysaccharides arise from degradation of native polysaccharides originating from grape berry cell walls, and they include arabinogalactan-proteins (AGPs) and arabinogalactans (AGs) [1,2]. AGPs are localized in soluble form within the cell walls and thus are easily extracted during pressing of grape berries [3]. AGs are side chains of the RG-I backbone arising from degradation of the hairy region of pectins by pectinases. In wine, AGPs and AGs are present at concentrations from approximately 100 to 450 mg/L for red wines and from 50 to 250 mg/L for white wines [1,2]. Arabinogalactans of wines can be mainly characterized by arabinose to galactose ratio. This ratio appears different according to the type of wine making, 0.8 for a red wine, 0.4 for a white wine and 0.2 for an arabinogalactan isolated from a Champagne wine [4]. AGPs and AGs have interesting physico-chemical properties (charge, viscosity, Mw...), AGPs and AGs like other polysaccharides, play a role in the quality and the final stability of wine. In particular, an AGP isolated from a red wine has been shown to inhibit protein haze [5]. An AG was shown to reduce self-aggregation of tannins in model wine solutions [6]. The modifications of the polysaccharide structures can induce modifications of the colloidal equilibrium of wines, and thus of their organoleptic perception. These equilibriums are very significant for the quality of the finale wine.

In a first approach, the modification by dearabynosylation of an AGPs from a red wine made it possible to obtain two new AGPs. The structure from these two AGPs is determined by methylation. The study of interaction between arabinogalactans (natives and modified) and tanins permit to highlight different behaviours with respect to these tanins. AGPs modified cause precipitation of tanins. AGP having arabinose to galactose ratio of 0.4 (similar to arabinogalactan of a white wine) has a particular behaviour with the appearance of precipitate visible with the naked eye after 24 h.

The phenomenon is a complex phenomenon, and the mechanisms of interaction between these polysaccharides or others polysaccharides coming from the cell walls of grape berry and tanins remains to be explained. The knowledge of the native and/or modified polysaccharides makes it possible to consider bio-mimetic system making it to model these interactions

1. Pellerin, P., S. Vidal, P. Williams, and J.-M. Brillouet. Characterization of five type II arabinogalactan-protein complexes from red wine with increasing uronic acid content. *Carbohydr. Res.* 277:135-143 (1995).
2. Pellerin, P., and J.-C. Cabanis. Les glucides. *In: Œnologie: fondements scientifiques et technologiques*. F. C (Ed.). pp 40-92. Lavoisier, Tech & Doc, Londres, Paris, New York (1998).
3. Vidal, S., T. Doco, M. Moutounet, and P. Pellerin. Soluble polysaccharide content at initial time of experimental must preparation. *Am. J. Enol. Vitic.* 51:115-121 (2000).
4. Doco, T and P. Williams. Purification and structural caracteization of an type II arabinogalactan-proteins from wine. Submitted to *Am. J. Enol. Vitic* (2005).
5. Waters, E.J., W. Wallace, M.E. Tate, and P.J. Williams. Isolation and partial characterization of a natural haze protective factor from wine. *J. Agric. Food Chem.* 41:724-730 (1993).
6. Riou, V., A. Vernhet, T. Doco, and M. Moutounet. Aggregation of grape seed tannins in model wine - effect of wine polysaccharides. *Food hydrocolloids* 16:17-23 (2002).

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

MODIFICATION DES PECTINES EN PRESENCE DE CADMIUM CHEZ LE LIN (*Linum usitatissimum*)

DOUCHICHE Olfa^{1,2}, CHAIBI Wided², MORVAN Claudine¹ et DRIOUICH Azeddine¹

1 UMR CNRS-Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan cedex

2 Laboratoire de Physiologie Végétale département de Biologie, faculté des Sciences de Tunis

La paroi chez les végétaux est formée par un réseau de microfibrilles de cellulose baignant dans une matrice de pectines et d'hémicelluloses. Les pectines jouent un rôle majeur dans le contrôle de la structure et la forme de la paroi lors du développement ; en particulier, elles ont la propriété de fixer les cations participant ainsi à la régulation des échanges entre la cellule et son environnement.

Nous avons cherché l'effet du cadmium sur la synthèse des pectines et leur répartition dans les différents tissus de l'hypocotyle de lin (âgé de 18j, cultivé à 25°C à la lumière continue), en utilisant deux approches: la microscopie et la biochimie.

La microscopie couplée à l'immunomarquage par « l'anti-PGA/RGI* » montre que le cadmium entraîne un enrichissement en épitopes pectiques des tissus :

- externes représentés par l'épiderme et les jonctions épidermiques
- internes représentés par la paroi primaire des fibres et leurs jonctions ainsi que les jonctions du xylème.

A l'aide d'une approche biochimique, nous avons cherché à quantifier ces tendances dans les mêmes tissus. Pour ce faire, les parois des tissus externes et internes de l'hypocotyle ont été séparées par tamisage puis analysées.

Les résultats de l'extraction par l'acide trifluoro-acétique (hydrolyse les polysaccharides matriciels) confirment ceux de la microscopie.

Les deux approches suggèrent qu'en présence de Cd, l'hypocotyle de lin synthétise plus de pectines dans les parois de l'épiderme, des fibres et du xylème. Les pectines pourraient intervenir dans le piégeage du Cd dans la paroi.

Les extractions séquentielles (eau bouillante, EDTA, NaOH et H₂SO₄) permettent de préciser sur quel type de pectines le Cd réagit. Les résultats montrent qu'en présence de Cd les acides uroniques extractibles par NaOH et par EDTA augmentent respectivement dans les tissus externes et dans les tissus internes.

**anti-PGA/RGI : est un anticorps dirigé contre les blocs d'acides polygalacturoniques (PGA) et les séquences rhamnogalacturonanes type I (RGI) des pectines.*

[▶▶▶ Retour vers table résumé](#)

UTILISATION D'UN DOUBLE MUTANT CAD D'ARABIDOPSIS POUR DETERMINER LA FONCTION D'AUTRES CAD D'ARABIDOPSIS ET D'ARBRES

Aymerick Eudes¹, Richard Sibout², Brigitte Pollet³, Armand Seguin², Catherine Lapierre³, Lise Jouanin¹

¹ Biologie cellulaire, INRA, 78026 Versailles cedex, France

² Laurentian forestry center, PO Box 3800, Québec G1V 4C7, Canada

³ Chimie biologique, INRA-INA PG, 78850 Thiverval-Grignon, France

Les lignines des angiospermes sont composées essentiellement d'unités guaïacyl (G) et syringyl (S). Ces unités sont dérivées des alcools coniférylique et sinapique également appelés monolignols. La cinnamyl alcool déhydrogénase (CAD), la dernière enzyme de la voie de biosynthèse des monolignols, est responsable de la réduction des cinnamaldéhydes en alcools cinnamiques. Les *CAD* forment des familles mutigéniques chez les plantes, avec par exemple 9 gènes *CAD* dans le génome d'*Arabidopsis* [1]. Le profil d'expression de 2 d'entre eux (*AtCAD-C* et *-D*) suggère un rôle important des enzymes codées par ces gènes dans la lignification des tiges [2].

Un double mutant (*Atcad CD*) possède une activité CAD quasi nulle dans la tige avec des conséquences importantes au niveau de la lignification : une forte réduction de la quantité des lignines (50%) et une importante incorporation des précurseurs, les cinnamaldéhydes à la place des alcools cinnamiques [3].

Ce mutant a été utilisé pour étudier la capacité d'autres CAD à lui restaurer un phénotype normal de lignification. Différents gènes *CAD* (*Arabidopsis*, peuplier, pin) ont été clonés sous le contrôle du promoteur du gène *AtCAD-D* et introduit dans le double mutant. La composition des lignines de lignées « complémentées » exprimant le transgène a été déterminée. Les résultats suggèrent différentes capacités de ces CAD à produire des lignines de type G et S.

1. Goujon T, Sibout R, Eudes A, MacKay J, Jouanin L. Genes involved in the biosynthesis of lignin precursors in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol Biochem* 41 (2003) 677-687.

2. Sibout R, Eudes A, Pollet B, Goujon T, Mila I, Granier F, Séguin A, Lapierre C, Jouanin L. Expression pattern of two paralogs encoding cinnamyl alcohol dehydrogenases in *Arabidopsis*. Isolation and characterization of the corresponding mutants. *Plant Physiol* 132 (2003) 848-840.

3. Sibout R, Eudes A, Mouille G, Pollet B, Lapierre C, Jouanin L, Séguin A. Routing of the sinapyl and coniferyl alcohol pathways through the last reduction step in *Arabidopsis* using a CAD double mutant. *Plant Cell* (2005) sous presse.

[!\[\]\(c2ecea60f1990c304f36f34e0bfaef4d_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

IDENTIFICATION ET CARACTERISATION D'UNE BETA-GLUCURONIDASE CHEZ ARABIDOPSIS

Aymerick Eudes¹, Zoran Minic¹, Christophe Rihouey², Patrice Lerouge², Eric Nguema-Ona³, Azzedine Driouch³, Lise Jouanin¹

¹Biologie cellulaire, INRA, 78026 Versailles cedex

²Faculté des Sciences, UMR6037 CNRS, Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan

³Plate forme Imagerie cellulaire, Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan

Les beta-glucuronidases sont des glycosyl hydrolases catalysant l'hydrolyse d'un composé lié à un acide glucuronique. Une beta-glucuronidase (AtGUS) est présente chez Arabidopsis et cette activité peut être détectée comme colorant en bleu les tissus et plus particulièrement les vaisseaux en présence du substrat X-Gluc à pH acide. Cette activité a été purifiée à homogénéité et identifiée par séquençage en spectrométrie MS-MS. Elle correspond au gène At5g07830 qui possède un signal d'excrétion. Ce gène est exprimé de manière quasi constitutive dans les différents organes d'*Arabidopsis*.

Un mutant nul pour ce gène a été identifié dans la collection de mutants d'insertion par ADN-T du SALK Institute. Il ne présente plus d'activité GUS endogène et ne semble pas avoir de phénotype particulier en serre.

Des lignées possédant le gène *gus* de *E.coli* sous le contrôle du promoteur du gène At5g07830 expriment l'activité GUS dans les vaisseaux à pH neutre. Des lignées surexprimant le gène *AtGUS* sous le contrôle du promoteur 35S doublé ont également été obtenues et sont utilisées par identifier le substrat *in planta* de cette beta-glucuronidase.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

USE OF PYROLYSIS MOLECULAR BEAM MASS SPECTROMETRY (PY-MBMS) AS A RAPID ANALYSIS TOOL TO EXAMINE CHANGES IN CELL WALL CHEMISTRY: EXAMPLE OF SCREENING CORN PLANTS FOR DIFFERENCES IN SECONDARY CELL WALL COMPOSITION.

Anne-Sophie Fontaine¹, S.R. Thomas², W. Vermerris³, J.M. Danger¹, N.C. Carpita⁴, M.F. Davis².

¹Laboratoire d'Ecotoxicologie des Milieux Aquatiques, Université du Havre, 22 rue P. Lebon, 76600 Le Havre, France

email: asfontaine@alumni.purdue.edu

²National Bioenergy Center, National Renewable Energy Laboratory, 1617 Cole Blvd., Golden, CO 80401, USA

email: steven_thomas@nrel.gov ; mark_davis@nrel.gov

³Departments of Agronomy and Agricultural & Biological Engineering, Laboratory of Renewable Resources Engineering, Purdue University, West Lafayette, IN 47907-2054, USA

⁴Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, West Lafayette, IN 47907-2054, USA

Pyrolysis molecular beam mass spectrometry (Py-MBMS) is a powerful analytical tool that can rapidly monitor the relative chemical composition of cell walls from large numbers of samples. It is particularly well suited to monitoring relative amounts of monolignols in lignin, but is also useful for carbohydrate analysis. We describe the principles of this technique and show its advantages and complementarities compared to Near Infrared Spectrometry (NIR) in a mutant screening process.

A population of segregating sequence-tagged Mu-insertions W22 maize inbred lines have been used to identify cell-wall relevant genes of interest. Py-MBMS has been developed as a high throughput method to identify mutations affecting maize secondary wall composition in this population. The mass spectra collected are used as a fingerprint to define each individual. Coupling these data with multivariate statistical analysis tools allows identification of unusual samples using principal component analysis (PCA). Different groups of mutants can be characterized by their principal component loadings. Py-MBMS provides a reliable, inexpensive and time saving analytical tool for large-scale rapid chemical analysis of complex chemical systems.

*Funding by the US National Science Foundation-Plant Genome Research Program.

▶▶▶ Retour vers programme

▶▶▶ Retour vers table résumé

ORGANISATION ET DYNAMIQUE DES COMPLEXES CELLULOSE SYNTHASE CHEZ ARABIDOPSIS AU COURS DES STADES PRECOCES DU DEVELOPPEMENT DE LA PLANTULE.

T. Desprez, M. Juraniec, S. Vernhettes, S. Pelletier, H. Höfte & M Gonneau

Laboratoire de Biologie Cellulaire, INRA-Versailles-Grignon, route de St Cyr,
78026 Versailles-Cedex, France

gonneau@versailles.inra.fr

Le dépôt des microfibrilles de cellulose et leur orientation contrôlent la croissance anisotropique de la cellule et définissent sa forme. Chez les plantes supérieures, il est admis que 36 chaînes de β ,1-4 glucose s'associent pour former une microfibrille. Les rosettes site de synthèse de la cellulose, sont des complexes macromoléculaires situés au niveau de la membrane plasmique et constitués de six globules comprenant chacun six sous unités catalytiques de cellulose synthase (CesA). La composition globale en CesA des rosettes et leur organisation restent inconnues mais semblent soumises à une régulation très complexe [1]. Chez Arabidopsis, la famille des CesA comprend 10 membres, certains impliqués dans la synthèse de la paroi primaire, d'autres de la paroi secondaire. Des approches génétiques ont également mis en évidence l'implication d'autres partenaires comme une endo- β -1,4-glucanase membranaire KOR, mais les détails des mécanismes de dépôt et de cristallisation de la cellulose restent à élucider.

Des mutants d'Arabidopsis partiellement ou totalement déficients pour les activités cellulose synthase *AtCesA1*, *AtCesA3* et *AtCesA6* présentent une déficience en cellulose et un défaut de croissance au niveau de la racine et de l'hypocotyle de plantules cultivées à l'obscurité, indiquant que ces isoformes sont nécessaires à la synthèse de cellulose au niveau de la paroi primaire.

De plus des mutations affectant les sous unités *AtCesA3* et *AtCesA6* confèrent aux plantules une résistance à l'herbicide isoxaben, inhibiteur de la synthèse de cellulose [2].

Nous avons obtenu des anticorps dirigés contre les domaines N-terminaux des isoformes *AtCesA3* et *AtCesA6* et spécifiques de chacune d'elle. Des analyses en Western blot, en contexte sauvage ou mutant, montrent que ces deux sous unités sont présentes dès 24 h après le début de la germination et que leur accumulation est coordonnée.

L'organisation des complexes cellulose synthase analysée par co-immunoprécipitation, montre que *AtCesA3* et *AtCesA6* sont engagées dans un même complexe auquel n'appartient pas la protéine KOR. Les données concernant la dynamique de ces complexes et la stabilité des protéines, obtenues par des approches de type "pulse-chase", en présence ou non d'inhibiteurs de synthèse de cellulose et dans différents contextes génétiques seront également discutées.

Références.

[1] M. Doblin, I. Kurek, D. Jacob-Wilk, D. Delmer (2002) Cellulose biosynthesis in plants : from genes to rosettes. *Plant Cell Physiol.* 43:1407-1420

[2] T. Desprez, S. Vernhettes, M. Fagard, G. Refregier, T Desnos, E. Aletti, N. Py, S Pelletier, H. Höfte (2002) Resistance against herbicide isoxaben and cellulose deficiency caused by distinct mutations in same cellulose synthase isoform CESA6 *Plant Physiol.* 128:482-490

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

MISE EN PLACE DES PAROIS AU COURS DU DEVELOPPEMENT DU GRAIN DE BLE

Philippe S.¹, Saulnier L.¹, Robert P.¹, Barron C.² and Guillon F.¹

¹INRA – Biopolymères, Interactions, Assemblage - BP 71627, 44316 Nantes, France

²Unité mixte de Recherches Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, INRA-ENSAM-UMRI-CIRAD, 2 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

Les parois cellulaires des grains de céréale ont un impact sur les technologies d'utilisation du grain et sur la qualité des produits céréaliers. Arabinoxylanes (AX) et beta(1-4,1-3)Glucanes, constituants majoritaires des parois de l'albumen de blé, présentent une hétérogénéité structurale qui influent sur les propriétés fonctionnelles de ces macromolécules. Notre objectif est d'identifier les étapes clés de la mise en place de ces polysaccharides et d'étudier la distribution des différents motifs structuraux liés à ces polymères. Nous nous intéressons en particulier à 1) la cinétique de synthèse et la distribution des beta(1-4,1-3)Glucanes et AX 2) l'apparition et la localisation des différents motifs structuraux liés aux AX : substitution des unités xylosyles par l'arabinose et la féruloylation des AX. Huit stades de développement du grain de blé (*triticum aestivum*, variété Récital) ont été retenus depuis l'étape de cellularisation jusqu'à l'étape de dessiccation (45 à 750°C/Jour après anthèse). Pour aborder ces différentes questions, nous avons développé des techniques d'immunohistochimie et de microspectrométrie Infra Rouge (IR) et RAMAN.

Pour l'approche immunohistochimique, cinq anticorps ont été utilisés. Trois anticorps monoclonaux reconnaissent les beta(1-4,1-3)Glucanes (anti-beta(1-4,1-3)Glucanes), les beta(1-3)Glucanes (anti-beta(1-3)Glucanes) et les séquences de xylose non substituées ou modérément substituées (anti-AX1). Deux sérums polyclonaux reconnaissent l'un, les résidus contigus de xylose non substitué (anti-X3) et l'autre, l'arabinose estérifié par l'acide férulique (anti-AraFer). Au stade 45°C/J, les parois en cours de formation sont principalement constituées de beta(1-3)Glucanes. Les beta(1-4,1-3)Glucanes sont détectés à partir du stade 72°C/J. Les résultats d'immunomarquages avec les anticorps anti-X3 et anti-AX1 sont proches et révèlent l'apparition des AX à partir du stade 245°C/J. Dès ce stade, les AX sont féruloylés. Des vésicules de sécrétion golgiennes sont marquées par l'anticorps anti-AraFer, indiquant que la féruloylation est cytoplasmique. A partir du stade 245°C/J, pour tous les anticorps utilisés, les parois des cellules à aleurone sont plus marquées que les parois des cellules de l'albumen amylacé. Au sein de l'albumen amylacé, une hétérogénéité du marquage est observée : un marquage plus intense est observé pour les parois des cellules centrales.

Les spectres IR ont été acquis grâce à un microspectromètre FT (résolution 4cm⁻¹, plage: 4000 à 750cm⁻¹). Les acquisitions sont réalisées sur des zones (8 par grains) de 80µm x 80µm. L'identification des pics liés aux molécules qui nous intéressent est réalisée grâce à une bibliothèque de spectres d'oligo-, de poly-saccharides, et de mélanges modèles de parois. Des différences intra-grains (selon les zones d'un même grain) et inter-grains (selon les stades) sont mises en évidence dans les signatures spectrales des parois. Les spectres révèlent la présence essentiellement de beta(1-4,1-3)Glucanes et d'ArabinoGalactanes-Protéines (AGP) dans les parois de l'albumen avant le stade 245°C/J. A partir de ce stade, les AX sont également détectés. Pour toutes ces molécules pariétales, un comportement spectral différent est observé entre la zone centrale et les zones périphériques de l'albumen amylacé. La zone centrale comporterait plus de beta(1-4,1-3)Glucanes, moins d'AGP, et moins d'AX que les zones périphériques. Les AX des zones périphériques apparaissent plus substitués que ceux de la zone centrale. Les mêmes zones d'acquisitions ont été explorées en microspectroRaman avec une meilleure résolution spatiale (3µm x 3µm). Les données spectrales sont en cours de traitement.

La mise en place des parois au sein du grain de blé apparaît spatio-temporellement contrôlée. L'étape suivante est de rechercher les gènes candidats de biosynthèse de ces polysaccharides pariétaux.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

SURFACES MODELES DE CELLULOSE

Youssef HABIBI, , Roger DOUILLARD, Véronique AGUIÉ-BÉGHIN

UMR FARE (INRA / URCA) Reims-France

Email: Youssef.Habibi@reims.inra.fr

La paroi végétale est un empilement de plusieurs couches constituées de microfibrilles de cellulose, d'hémicelluloses, de pectines et/ou de lignine dont les proportions dépendent de l'organisme producteur du tissu. Ces constituants de la paroi interagissent fortement entre eux et des propriétés physico-chimiques très variées découlent de ce composite. Ces propriétés gouvernent également la réactivité tant chimique qu'enzymatique. C'est pourquoi plusieurs auteurs se sont penchés, ces dernières années, sur l'étude des interactions entre la cellulose et les autres macromolécules pariétales. Mais devant l'impossibilité de quantifier ces interactions sur des micro fibrilles de cellulose « natives », les auteurs ont eu recours à des modèles de cellulose. Modèles élaborés essentiellement à partir de dérivés solubles de cellulose, en utilisant plusieurs techniques en l'occurrence la technique de Langmuir-Blodgett, spin coating... Des résultats intéressants ont été obtenus mais ces modèles restent malgré tout non représentatifs de l'état natif de la cellulose car ni la morphologie, ni l'ordre cristallin de la cellulose n'est préservé ce qui rend les comparaisons avec l'état natif parfois hasardeuses.

A l' échelle ultrastructurale de la paroi secondaire les microfibrilles de cellulose sont disposées de façon parallèle les unes par rapport aux autres et en hélices par rapport à l'axe de la cellule. L'ensemble est disposé en strates successives et concentriques pour lesquelles le sens d'enroulement des hélices peut changer d'une strate à l'autre. Notre démarche vise à reconstituer cette ultrastruturure multistratifiée en élaborant les plans de microfibrilles à partir de monocristaux de cellulose. Ces monocristaux, issus de cellulose par hydrolyse acide, présentent l'avantage d'avoir l'état cristallin et la morphologie de la cellulose native ainsi qu'une surface spécifique importante et très bien caractérisée, contrairement aux autres sources de cellulose. Pour ces raisons, ces objets nanométriques, qui présentent de plus des caractéristiques géométriques homogènes, peuvent être considérés comme des composés modèles pour certaines études impliquant la cellulose.

Nous avons donc utilisé ces monocristaux pour préparer des surfaces moléculaires modèles de cellulose en utilisant la technique de Langmuir-Blodgett. Ces surfaces ont été caractérisées par plusieurs techniques dont la microscopie de force atomique (AFM), XPS (X-ray Photoelectron spectroscopy), l' ellipsométrie...

▶▶▶ Retour vers table résumé

REGULATION MOLECULAIRE ET CONTRIBUTION DE DIFFERENTS POLYMERES A LA STRUCTURE DE LA PAROI CELLULAIRE SECONDAIRE CHEZ LE LIN (*LINUM USITATISSIMUM*)

A. Day¹, M. Addi¹, F. Nolin^{1,2}, T. Lefevre¹, D. Crônier², A. Habrant², G. Neutelings¹, B. Chabbert², S. Hawkins¹

¹Laboratoire de Physiologie des Parois Végétales, UPRES EA 3568 USC-INRA, UFR de Biologie, USTL, 59655 Villeneuve d'Ascq cedex, France

²INRA Parois Végétales et Matériaux Fibreux, UMR FARE, BP 224, 51686 Reims, France

Les fibres periphloémiennes (bast fibers) du lin (*Linum usitatissimum*) possèdent un nombre de qualités (finesse, résistances aux tensions et à l'usure, nervosité...) apprécié par les industries textiles et dans le domaine des bio-polymères [1].

La qualité de ces fibres dépend de leur *longueur*, mais également de la *structure* et la *composition* de leur épaisse paroi secondaire qui représente environ 90 % de la section transversale de la fibre.

Chimiquement, les fibres de lin se distinguent principalement par leur teneur élevée en cellulose cristalline (65–80 % à maturité) [2] et une quantité faible de lignine [3]. Ces caractères les rapprochent aux fibres externes de la tige du chanvre [4] et les fibres gélatineuses (« fibres G ») du bois de tension [5]. Ainsi ces 3 exemples de fibres végétales présentent une structure pariétale distincte des parois fortement lignifiées typiques du bois.

Afin d'approfondir nos connaissances concernant i) la régulation moléculaire de la mise en place de ce type particulier de paroi secondaire et ii) la contribution de différents polymères pariétaux à l'élaboration de leur architecture tri-dimensionnelle, nous utilisons une approche de génomique inverse associée à des analyses chimiques et physio-chimiques des plantes de lin modifiée génétiquement pour perturber le métabolisme pariétal. Nous présenterons, comme illustration de notre approche, les analyses de plantes sous-exprimant un « gène de lignification », le *Caffeoyl CoenzymeA-O-methyltransferase* (*CCoA-OMT*). La sous-expression de ce gène se traduit par une diminution dans la teneur en lignine associée à des modifications importantes de la structure pariétale.

Nous discuterons également de nos travaux visant autres gènes associés au métabolisme pariétal chez le lin.

1. Baley, C. (2002). Analysis of the flax fibres tensile behaviour and analysis of the tensile stiffness increase. *Compos Part A-Appl Sci Manuf*, 33(7): 939-948.
2. Morvan, C., Andème-Onzighi, C., Girault, R., Himmelsbach, D.S., Driouich A. and Akin, D.E. (2003). Building flax fibres: more than one brick in the walls. *Plant Physiol. Biochem.* 41: 935 – 944.
3. Day, A., Ruel, K., Neutelings, G., Crônier, D., David, H., Hawkins, S. and Chabbert, B. (2005). Evidence for an unusual lignin in flax bast fibers. *Planta* (sous presse).
4. Bonatti, P.M., Ferrari, C., Focher, B., Grippo, C., Torri, G., Cosentino, C. (2004). Histochemical and supramolecular studies in determining quality of hemp fibres for textile applications. *Euphytica* 140: 55-64.
5. Pilate, G., Chabbert, B., Cathala, B., Yoshinaga, A., Leple, J.C., Laurans, F., Lapierre, C., Ruel, K. (2004). Lignification and tension wood. *Comptes Rendues Biologies.* 327: 899-901.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

THESEE : UN RECEPTEUR KINASE MEMBRANAIRE IMPLIQUE DANS LA COORDINATION ENTRE SYNTHÈSE DE CELLULOSE ET ELONGATION CELLULAIRE DE L'HYPOCOTYLE D'*ARABIDOPSIS THALIANA*

Kian Hématy, Pierre-Etienne Sado et Herman Höfte.

Laboratoire de Biologie Cellulaire, Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA centre de Versailles

La croissance des plantes nécessite une coordination entre la synthèse des composés pariétaux (principalement la cellulose) et leurs modifications pour permettre l'élongation cellulaire. Cette coordination doit nécessiter un retro-contrôle en provenance de la paroi via des senseurs pariétaux. Malgré les évidences d'un tel retro-contrôle au cours du développement [1], les mécanismes moléculaires impliqués restent inconnus.

Pour étudier ces phénomènes, nous utilisons comme modèle la croissance à l'obscurité de l'hypocotyle d'*Arabidopsis thaliana* [2]. L'analyse de la croissance au niveau cellulaire met en évidence deux phases [3] : une phase de croissance lente durant laquelle une épaisse paroi polylamellée est déposée, suivie d'une accélération de croissance durant laquelle la paroi s'affine due à remodelage intensif des polymères pariétaux. Nous avons remarqué qu'une déficience en cellulose (chez des mutants ou induites par des herbicides) inhibe cette accélération de croissance. L'analyse du transcriptome de l'hypocotyle nous a permis d'identifier un certain nombre de gènes dérégulés pendant cette phase (Pelletier *et al.*, en préparation).

L'inhibition de croissance en contexte de déficience en cellulose implique un processus actif puisque l'isolement de 3 mutations (*thésée1-1,2,3*) atténue le défaut de croissance du mutant cellulose déficient *procuste1* (*prc*), [4, 5], sans restaurer sa quantité de cellulose. L'identification de *the1* par clonage positionnel indique les allèles suppresseurs présentent un changement d'acide aminé au niveau du domaine extracellulaire de THE1 : un nouveau type de récepteur Ser/Thr kinase. Le mutant d'insertion dans *THE1* présente également une atténuation de l'inhibition de croissance causée par inhibiteur de synthèse de cellulose isoxaben. *THE1* est exprimé dans la zone de croissance de différents organes et est induit par différents stress. THE1 est insérée dans la membrane plasmique, le domaine kinase présente un mécanisme d'autophosphorylation *in vitro* et THE1 est phosphorylé *in vivo* à au moins 2 sites mutuellement exclusifs à son extrémité carboxy-terminale [6]. Le génome d'*Arabidopsis* contient 16 autres récepteurs kinase avec un domaine extracellulaire similaire, certains avec un profil d'expression comparable.

Références :

- (1) Pilling and Höfte (2003) Current Opinion in Plant Biology
- (2) Gendreau *et al.* (1997) Plant Physiology
- (3) Réfrégier *et al.* (2004) Plant Physiology
- (4) Desnos *et al.* (1996) Development
- (5) Fagard *et al.* (2000) Plant Cell
- (6) Nühse *et al.* (2004) Plant Cell

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

VERS UNE MEILLEURE CONNAISSANCE DES FONCTIONS DES PAROIS GRACE A LA PROTEOMIQUE

ELISABETH JAMET, GEORGES BOUDART,
LEÏLA FEIZ, IRSHAD MUHAMMAD, HERVE CANUT, RAFAEL PONT-LEZICA

Surfaces cellulaires et signalisation chez les végétaux – UMR 5546 CNRS/UPS
Pôle de Biotechnologie Végétale – 24 chemin de Borderouge – BP 42617 AUZEVILLE
31326 CASTANET TOLOSAN – FRANCE
jamet@scsv.ups-tlse.fr

Les parois des cellules végétales jouent des rôles majeurs au cours de la croissance et du développement ainsi qu'en réponse aux stress biotiques et abiotiques. Les protéines pariétales sont des constituants essentiels des parois. Elles contribuent à leur structuration, elles peuvent modifier les constituants pariétaux, et participer à la signalisation et aux interactions avec les protéines de la membrane plasmique. La connaissance des protéines pariétales a été freinée par les difficultés rencontrées pour leur extraction puisqu'elles sont dispersées dans une matrice polysaccharidique insoluble avec laquelle elles interagissent. La mise au point de protocoles adaptés a récemment permis d'isoler des protéines labiles ou faiblement associées aux parois [1-3]. Sont encore en cours de développement, des méthodes de protéomique comparative et d'extraction de protéines fortement associées aux parois. Grâce au séquençage complet du génome d'*Arabidopsis thaliana* ainsi qu'aux progrès de la spectrométrie de masse et de la bioinformatique, la protéomique a apporté pour la première fois une description globale des protéines pariétales dans différentes situations physiologiques [1-4]. Une banque de données rassemblant 290 protéines pariétales identifiées par de telles approches et réparties en 8 classes fonctionnelles a été construite. Seulement 11 protéines sont communes aux protéomes de suspension cellulaire, de rosettes et d'hypocotyles étiolés. Chaque protéome présente donc un profil spécifique en partie du fait de l'existence de familles multigéniques. Environ la moitié de ces protéines correspond à des fonctions attendues dans les parois, telles les hydrolases et les peroxydases. Les autres protéines montrent l'existence de nouvelles fonctions non encore décrites. Par exemple, la présence de nombreuses protéases suggère l'importance du renouvellement des protéines pariétales et/ou la possibilité de libérer des signaux peptidiques. Certaines lectines sont présentes dans tous les extraits pariétaux analysés, ce qui suggère des rôles essentiels non encore élucidés pour ces protéines. Enfin, environ 10% des protéines identifiées n'ont pas de fonction connue, ce qui suggère de nouveaux rôles pour les parois.

- [1] G Borderies, E Jamet, C Lafitte, M Rossignol, A Jauneau, G Boudart, B Montsarrat, MT Esquerré-Tugayé, A Boudet, R Pont-Lezica (2003) Proteomics of loosely bound cell wall proteins of *Arabidopsis thaliana* cell suspension cultures: a critical analysis. Electrophoresis 24, 3421-3432.
- [2] G Boudart, E Jamet, M Rossignol, C Lafitte, G Borderies, A Jauneau, MT Esquerré-Tugayé, R Pont-Lezica (2005) Cell wall proteins in apoplastic fluids of *Arabidopsis thaliana* rosettes: identification by mass spectrometry and bioinformatics. Proteomics 5, 212-221.
- [3] S Charmont, E Jamet, R Pont-Lezica, H Canut (2005) Proteomic analysis of secreted proteins from *Arabidopsis thaliana* seedlings: improved recovery following removal of phenolic compounds. Phytochem 66, 453-461.
- [4] E Jamet (2004) Bioinformatics as a critical prerequisite to transcriptome and proteome studies. J Exp Bot 55, 1977-1979.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

TOXICITE DU CUIVRE CHEZ LE MAÏS (*ZEA MAYS*, L., VAR. ALIGREEN): ASPECTS PHYSIOLOGIQUE ET STRUCTURAL

Jouida A.⁽¹⁾, Douchiche O.^(1,2), Ben Saad S.⁽³⁾, Driouich A.⁽²⁾, Ghorbel M.H.⁽¹⁾ et Chaïbi W.⁽¹⁾

(1) Unité de Recherche Nutrition et Métabolisme Azotés et Protéines de Stress, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis. Tunisie.

(2) UMR CNRS – Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan cedex.

(3) Unité de Botanique Fondamentale et Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis. Tunisie.

La pollution par les métaux lourds est considérée comme l'un des problèmes environnementaux les plus sérieux car elle est à l'origine de la diminution de la diversité biologique.

Le cuivre, bien qu'il soit un micro-élément essentiel quant il est fourni à faibles concentrations, peut devenir toxique à fortes concentrations. Sa prédominance parmi les métaux lourds dans les produits agricoles est à l'origine de l'intérêt particulier qui lui est accordé en tant qu'élément toxique de l'environnement.

Dans le présent travail nous avons étudié l'effet de ce métal sur le développement du maïs, une monocotylédone en C₄ d'un grand intérêt économique et industriel.

Des plantules âgées d'une semaine et cultivées sur une solution nutritive, sont traitées, pour une durée de 12 jours, par le cuivre ajouté à la solution nutritive sous forme de CuSO₄ à des concentrations croissantes de (0, 10, 20, 30, 50 et 100µM).

Les cultures hydroponiques sont conduites sous un plafond lumineux de lampes à mercure ; la photopériode est de 16L/8D ; la température est de 25°C/20°C et l'humidité relative est de 70%.

Les fortes concentrations de cuivre provoquent une inhibition de la croissance pondérale qui se traduit essentiellement par une réduction de l'élongation racinaire et de l'expansion foliaire.

L'examen de la répartition du cuivre accumulé entre la partie aérienne et racinaire montre que quelque soit la concentration du milieu nutritif en cuivre, le système racinaire accumule la plus grande partie de la quantité absorbée.

L'étude de la structure anatomique de la racine et des feuilles montre une lignification précoce des parois cellulaires de l'endoderme au niveau de la racine et celles de la gaine fasciculaire au niveau des feuilles. Cette lignification aurait un rôle dans le blocage du transport du cuivre vers le cylindre central au niveau des racines et vers le mésophylle au niveau des feuilles.

L'augmentation de l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase, l'enzyme clé de la chaîne de biosynthèse des lignines, a permis de confirmer cette augmentation de la lignification.

Enfin, la mesure de l'activité de la gaïacol peroxydase montre une stimulation progressive des peroxydases totales solubles au niveau des tissus racinaires et foliaires traduisant la mise en place d'un état de stress oxydant. Le maximum de cette activité est enregistrée au niveau du système racinaire.

[!\[\]\(05ab75db06f7ffe5326875a1ed37bbba_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

ANALYSES STRUCTURALE ET MOLECULAIRE DES PAROIS DE TOMATES A TEXTURE CONTRASTEE

¹Lahaye, M, ¹Quemener B, ¹Devaux MF, ²Marty I, ¹Robert P, ³Bertrand D, ⁴Navez B, ⁵Causse M

¹INRA-BIA, ³UMR INRA-ENITIAA, rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes, ²UMR SQPOV, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon, cedex 9, ⁴CTIFL, Centre de St Rémy de Provence, Route de Mollégès, 13210 St Rémy de Provence, ⁵GAFL, Domaine Saint-Maurice, BP 94, 84143 Monftavet cedex

La texture des fruits charnus joue un rôle important sur les préférences des consommateurs. Elle a rarement été prise en compte dans l'amélioration variétale axée généralement sur la résistance aux pathogènes et l'adaptation des fruits aux itinéraires post-récoltes. La texture résulte d'un ensemble de facteurs mal connus à différentes échelles qui impliquent la turgescence cellulaire et les propriétés mécaniques des parois. Afin d'identifier la contribution des parois à la perception sensorielle de la texture, les parois de fruits de tomates commerciales à texture contrastée (farineuse, juteuse)[1] ou issus de lignées quasi-isogéniques pour des marqueurs de textures (QTL) ont fait l'objet d'études structurales par méthodes spectroscopiques (IR, RMN) et le couplage de méthodes enzymatiques et chromatographiques. Les résultats mettent en avant les chaînes latérales galactane et arabinane des pectines avec la farinosité et la jutosité et les glucuronoxylanes pour la fermeté. Des liens forts avec des QTL ont été identifiés pour ces structures pariétales. L'expression de gènes codant pour des galactosidases pariétales impliquées dans la maturation des fruits n'a pas montré de relation claire avec les caractéristiques chimiques des parois. Les résultats sont discutés par rapport aux contributions possibles de ces différentes structures pariétales aux propriétés mécaniques des parois.

[1] Devaux et al. (2005) Mechanical breakdown and cell wall structure of mealy tomato pericarp. Postharvest. Biol. Technol. (accepté)

[▶▶▶ Retour vers programme](#)

[▶▶▶ Retour vers posters résumé](#)

ETUDES PAR RMN DU SOLIDE DES ASSEMBLAGES POLYSACCHARIDIQUES DANS UN MODELE DE PAROI ET DANS LES PAROIS D'ARABIDOPSIS

Defer D, Silvestre V, Rondeau D, Bizot H, Lahaye M

INRA-BIA, rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes

Les interactions et les rôles de la cellulose, des hémicelluloses et des pectines dans les parois primaires végétales restent méconnus. Nous avons étudié la construction et la topologie de ces réseaux interpénétrés par RMN du solide à partir de différents types de préparations pariétales. Un modèle de paroi reconstruit à partir de cellulose bactérienne de *Acetobacter xylinus* (ATCC 53524) ainsi que différentes préparations de parois d'*Arabidopsis thaliana* ont été utilisés. Ces travaux se sont focalisés sur le réseau cellulose-hémicelluloses connu pour être impliqué dans la résistance mécanique des parois et gouverné par des liaisons hydrogène. Le rôle des pectines sur l'assemblage de ce réseau a aussi été abordé à partir du mutant *Arabidopsis QUASIMODO 1* (*qua1*) affecté dans la synthèse de ces polysaccharides et montrant un défaut d'adhésion cellulaire.

L'étude par RMN d'un composite de cellulose bactérienne appauvrie en ^{13}C et de xyloglucanes de tamarin a été réalisée pour mettre en évidence des associations entre les deux polysaccharides. La mesure des temps de relaxation T_1 des protons et la décomposition des spectres CP-MAS RMN ^{13}C ont permis de prouver l'existence d'au moins deux types d'association entre la cellulose et le xyloglucane.

Le réseau cellulose-hémicelluloses de hampes d'*Arabidopsis* sauvage et *qua1* a été étudié par CP-MAS et SPE-MAS RMN ^{13}C de façon à détecter les modifications structurales et dynamiques apportées par la déficience en pectines. Des expériences de relaxométrie et de diffusion par RMN ont aussi été réalisées pour évaluer l'effet du rôle des pectines sur la micro-géométrie et la porosité du réseau cellulose-hémicelluloses.

[!\[\]\(469fe3264811c530cbfecc2f0e3bf98a_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

UNE ACYLTRANSFERASE (HCT) CONTROLE LE FLUX METABOLIQUE VERS LES PHENYLPROPANOÏDES

S. Besseau¹, L. Hoffmann¹, P. Geoffroy¹, C. Lapierre², B. Pollet² and M. Legrand¹

¹Institut de Biologie Moléculaire des Plantes du CNRS, Strasbourg, France,

²Laboratoire de Chimie Biologique, INRA/INA, Thiverval-Grignon, France

Le métabolisme des phénylpropanoïdes est spécifique des plantes et est à l'origine d'une grande variété de produits tels que les stilbènes, les coumarines, les flavonoïdes et les monolignols qui sont les précurseurs de la lignine (Figure 1). Récemment il a été démontré que l'hydroxylation en position 3 du cycle aromatique nécessitait la synthèse des esters p-coumaroyl- shikimate et quinate et que celle-ci était assurée par une acyltransférase utilisant le p-coumaroylCoA pour substrat (p-coumaroylCoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyltransférase ou HCT).

Les cDNA ont été clonés chez le Tabac et Arabidopsis et les propriétés cinétiques et les spécificités de substrats d'HCT ont été étudiées en utilisant l'enzyme recombinante produite chez *E. coli* (1). La fonction de l'enzyme *in vivo* a été démontrée en analysant l'impact de la répression d'HCT par RNA interférence (RNAi) chez *N. benthamiana* et Arabidopsis (2). Les plantes réprimées ont un développement très affecté et l'analyse de leur lignine par des méthodes histochimiques et chimiques a mis en évidence d'importantes modifications affectant la quantité et la nature de la lignine. La composition phénolique des tissus réprimés a été analysée par HPLC et a révélé un bouleversement complet, démontrant ainsi le rôle clé joué par HCT dans la régulation de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes.

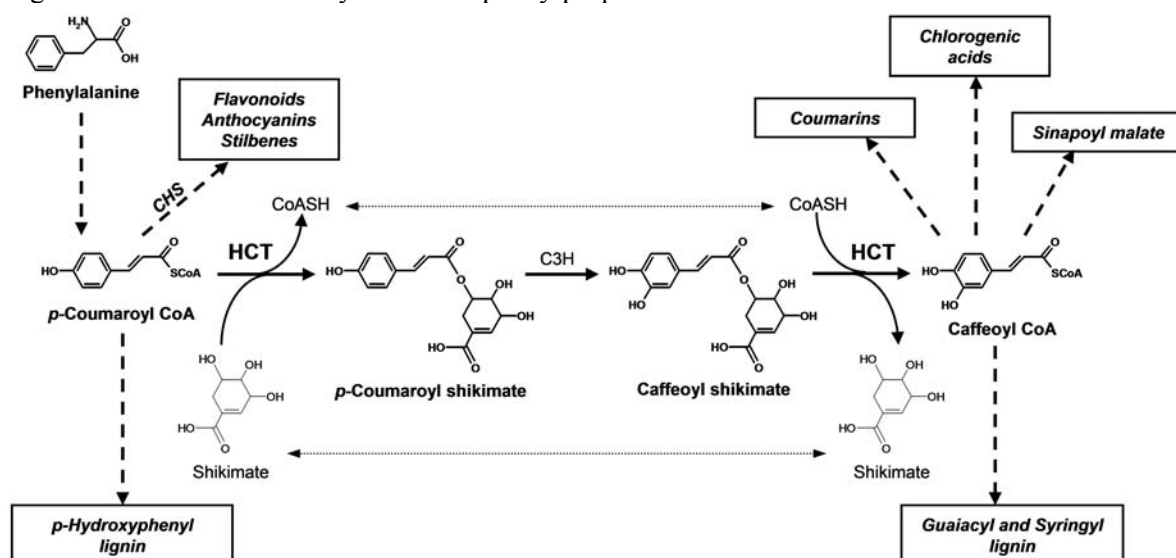


Fig. 1 : Rôle de HCT dans le métabolisme des phénylpropanoïdes

Références :

1. Hoffmann L, Maury S, Martz F, Geoffroy P, Legrand M (2003) Purification, cloning and properties of an acyltransferase controlling shikimate and quinate ester intermediates in phenylpropanoid metabolism. *J. Biol. Chem.* 278: 95-103
2. Hoffmann L, Besseau S, Geoffroy P, Ritzenthaler C, Meyer D, Lapierre C, Pollet B, Legrand M (2004). Silencing of hydroxycinnamoyl-coenzyme A shikimate/quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Cell* 16: 1446-1465

►►► [Retour vers table résumé](#)

UN EXEMPLE D'UTILISATION DE LA TECHNIQUE DES BIOPUCES (« MICROARRAY ») A L'ETUDE DU TRANSCRIPTOME DE PEUPLIER : L'IDENTIFICATION DE GENES EXPRIMES DE MANIERE DIFFERENTIELLE ENTRE BOIS DE TENSION ET BOIS OPPOSE.

Leplé J.-C., Lesage-Descauses M.-C., Laurans F., Saintenac C., Déjardin A. et Pilate G.

INRA Centre d'Orléans, Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Domaine de Limère, BP20619 ARDON, 45166 OLIVET CEDEX

Le bois de tension est un tissu particulier qui se forme sur la face supérieure des tiges inclinées et des branches. Il se distingue du bois opposé (situé sur la face opposée) par la présence de fibres moins lignifiées, enrichies en cellulose, avec un angle des microfibrilles de cellulose très resserré sur l'axe de la fibre [1]. La formation de ce tissu constitue un modèle intéressant pour l'étude de la formation du bois [2].

Afin d'identifier des gènes impliqués dans la mise en place des composants biochimiques et ultrastructuraux spécifiques du bois de tension nous avons produit récemment plus de 10 000 ESTs issues de bois de tension et de bois opposé [3]. L'analyse statistique a permis de mettre en évidence, parmi les gènes les plus fortement exprimés, des gènes exprimés spécifiquement ou préférentiellement dans le bois de tension, en particulier une famille de gènes codant pour des « fasciclin-like AGP » [4]. Pour compléter cette approche, nous avons développé la technique des biopuces de manière à acquérir également des données d'expression pour des gènes plus faiblement exprimés.

Une biopuce de première génération portant les 10 000 ADNc séquencés a été réalisée. Nous avons utilisé cette biopuce pour rechercher des gènes s'exprimant de manière différentielle entre les tissus de bois de tension et de bois opposé. Nous présenterons les résultats d'expression obtenus et discuterons des différentes approches envisagées pour caractériser la fonction de ces gènes.

Références

- 1- Pilate G., Chabbert B., Cathala B., Yoshinaga A., Leplé J.-C., Laurans F., Lapierre C., Ruel K. (2004) Lignification and tension wood. *C. R. Biol.* 2004 327: 889-901.
- 2- Pilate G., Dejardin A., Laurans F. and Leplé J.-C. (2004) Tension wood as a model for functional genomics of wood formation. *New Phytologist* 164 : 63-72.
- 3- Dejardin A., Leplé J.-C., Lesage-Descauses M.-C., Costa G. and Pilate G. (2004) Expressed sequence tags from poplar wood tissues – a comparative analysis from multiple libraries. *Plant Biology* 6: 55-64.
- 4 - Lafarguette F., Leplé J.-C., Déjardin A., Laurans F., Costa G., Lesage-Descauses M.-C. and Pilate G. (2004) Poplar genes encoding fasciclin-like arabinogalactan proteins are highly expressed in tension wood. *New Phytologist* 164: 107-121.

[►►► Retour vers table résumé](#)

BIOSYNTHESE DU XYLOGLUCANE: ETUDE DE CANDIDATS POUR L'ACTIVITE XYG GLUCAN-SYNTASE

Olivier Lerouxel, Jean-Christophe Cocuron, Aaron Liepman, Curtis Wilkerson and Kenneth Keegstra

Michigan State University, MSU-DOE Plant Research Lab, East Lansing MI 48824

The hemicellulosic polysaccharide xyloglucan (XyG) is a key polymer in primary plant cell walls that imparts both strength and dynamic features, respectively, by cross-linking cellulose microfibrils and by being modified before cell expansion. Despite its central role in plant cell wall dynamics XyG biosynthesis is not fully understood. The major gap, as for almost all the plant polysaccharides, remains the identification of the enzymes that synthesize the polysaccharide backbone. In the case of XyG example, with a β ,1-4 Glc backbone this requires the activity of a glucan synthase (GS) activity [1].

Tackling the identification of the XyG GS, we have taken advantage of the ability of *Nasturtium* (*Tropaeolum majus*) seeds to synthesize huge quantities of storage XyG to develop a genomic approach. A *Nasturtium* cDNA library was produced, and the sequence of 10,000 ESTs has been determined. This analysis revealed several ESTs with sequence similarity to *Arabidopsis* genes involved in XyG biosynthesis. Interestingly, a *Nasturtium* homolog to Cellulose synthase-like C4 from *Arabidopsis thaliana* was identified several times in this *Nasturtium* cDNA library. Thus we conclude that the CslC genes are strong candidates for encoding XyG GS activity.

Several strategies are being pursued to assess the involvement of Csl C4 gene in XG biosynthesis. Firstly, heterologous expression of TmCslC4 and AtCslC4 has been carried out in BY2 cells, and Golgi-rich microsomes fraction of transgenic lines has been analyzed for increased in GS activity. Moreover, the cell wall of the various BY2 cell lines has been analyzed for modifications in their monosaccharide content. Results for these analyses will be presented.

[1] Dhugga (2001) Curr. Opin. Plant Biol., **4**, 488-93

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

RECOMBINANT ANTIBODIES AS PROBES FOR *IN SITU* LOCALIZATION OF CARRAGEENANS

LINERS¹ Françoise, HELBERT² William and VAN CUTSEM¹ Pierre

¹Unité de Recherche en Biologie Cellulaire Végétale (URBV), University of Namur, rue de Bruxelles 61, 5000 Namur, Belgium

²UMR 7139 CNRS-Goëmar-UPMC « Végétaux Marins et Biomolécules », Station Biologique de Roscoff, Pl. G. Teissier 29, 680 Roscoff, France

francoise.liners@fundp.ac.be

Carrageenans, the major sulphated polysaccharides of red seaweeds (*Rhodophyceae*) consist of repeating disaccharide units of 3-linked beta-D-galactopyranose (Galp) and 4-linked α -D-galactopyranose. Mainly found in the cell wall and/or intercellular space of red algae, they are thought to play a role as water reservoir to prevent desiccation and to give the seaweed the flexible structure required to accommodate mechanical stresses encountered in the marine environment. Although it is well known that some seaweed genera biosynthesize different carrageenan types in their alternating life stage, the physiological significance of such variations in the composition of the extracellular matrix is still unclear and the process of carrageenan biosynthesis is itself far from being understood [1].

Whereas immunological probes have largely proven their efficiency to analyse temporal and developmental variations occurring in the composition of cell wall polysaccharides of higher plants [2], their application in the algal field is still very limited. We have therefore isolated, by phage display, a scFv recombinant antibody called B3 directed against a helical conformation of carrageenan chains and showing a preference for α -carrageenans in ELISA assays [3].

We demonstrate here the ability of this probe to localize carrageenans *in situ*, within seaweed tissues. Immunofluorescence labelings were performed on several red algae species using a three-step labelling procedure including B3 soluble scFv, mouse anti-cmyc tag secondary antibodies and Alexa 488 anti-mouse tertiary antibodies. A heavy labeling was observed on cell walls and, when present, also on the matrix found between cells of some species. *Chondrus* gametophyte (containing iota chains) was strongly recognized by B3 scFv whereas sporophytic tissues rich in λ -carrageenans were not. Pre-treatment of tissue sections by a recombinant iota-carrageenase led to a disappearance of wall recognition by the antibodies, assessing again the preference of this probe for λ -carrageenans *in situ*.

- [1] van de Velde, F., De Ruiter, G.A. (2002) Carrageenan. In Steinbüchel, A., DeBaets, S., VanDamme, E.J. (eds), Biopolymers Vol 6: Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp. 245-274
- [2] Willats, W.G., Knox, J.P. (2003) Molecules in context: probes for cell wall analysis. In: Rose, J.K.C., (ed) Annual Plant Reviews, vol 8, The plant cell wall. Blackwell publishing Ltd, Oxford, pp 92-110
- [3] Liners, F., Helbert, W., Van Cutsem, P. (2005) Production and characterization of a phage-display recombinant antibody against carrageenans: evidence for the recognition of a secondary structure of carrageenan chains present in red algae tissues. Glycobiology, Accepted.

The authors gratefully acknowledge the MRC (Cambridge, UK) for providing the phage display library and to Mrs C. Devignon (Unité Interfacultaire de Microscopie Electronique, University of Namur, Belgium) for her assistance in light microscopy. This work was supported by the Région Wallonne (DGTRE), Belgium.

[**►►► Retour vers programme**](#)

[**►►► Retour vers table résumé**](#)

ETUDE DE L'EXPRESSION DES GENES DE PECTINE METHYLESTERASES DURANT LE DEVELOPPEMENT DE LA SILIQUE CHEZ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Louvet R¹, Cavel E¹, Gutierrez L¹, Guénin S², Roger D¹, Gillet F¹, Pelloux J¹ et Guérineau F¹

¹ Groupe de génomique Fonctionnelle des Plantes, EA3900, Faculté des Sciences,

² Centre de Ressources Régionales en Biologie Moléculaire,

Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint Leu, 80039 Amiens

Chez les végétaux la paroi est un compartiment essentiel qui confère à la plante ses propriétés structurales. Elle se compose principalement de polysaccharides (majoritairement cellulose, hémicellulose et pectines) et de protéines. Chez les dicotylédones, les pectines représentent 35% du poids sec [1]. Ces dernières jouent un rôle important dans la modulation de l'élasticité pariétale par l'intermédiaire de l'action de pectine méthylesterases (PMEs EC3.1.1.11). En effet, les PME déméthylestérifient *in muro* les pectines, permettant ainsi une rigidification (par formation de ponts calciques inter pectine) ou un relâchement (en facilitant l'action des polygalacturonases) de la paroi [2]. Ainsi, l'implication des PME a pu être montrée dans plusieurs mécanismes comme la différenciation cambiale [3], l'élongation cellulaire [4] ou encore la microsporogénèse [5]... La compréhension de la fonction des PME sur l'élasticité de la paroi implique une connaissance globale de l'expression de ces gènes. Nous nous sommes concentrés sur l'étude de l'expression de la famille PME (66 membres) lors du développement de la silique chez *Arabidopsis*. Pour ce faire, 7 stades de développement de la silique, un stade bourgeon floral et un contrôle végétatif ont été définis et une étude complète d'expression des PME a été réalisée par RT PCR quantitative en temps réel. Parallèlement, des plantes contenant des constructions promoteur::GUS (gène de la glucuronidase) ont été produites afin d'affiner la localisation de l'expression.

Une analyse phylogénétique nous a permis de classer les 66 gènes de PME en 4 sous-familles. Ce résultat confirme les études antérieures qui regroupaient les PME ne possédant pas de partie PRO. L'étude des profils d'expression au cours du développement de la silique nous a permis de classer les gènes PME en 4 catégories : peu ou pas exprimés, bouton floral, silique, ubiquitaire. La corrélation entre les profils d'expression et la similarité des séquences n'a pu être mise en évidence de manière répétitive. Les résultats obtenus grâce à l'analyse des plantes promoteur::GUS confirment toujours les profils d'expression observés et apportent des indications précises sur la localisation de l'expression. Par exemple, le gène codant pour une PME et localisé au niveau du locus At5g49180, est exprimé, d'après les données de PCR en temps réel, dans les stades précoces du développement de la silique. La construction promoteurAt5g49180::GUS quand à elle, localise l'expression dans les embryons de graines à ces mêmes stades.

L'objectif suivant est d'utiliser une approche de génétique reverse et des techniques d'analyse structurale des pectines pour mieux comprendre les rôles et les mécanismes d'action des PME, en particulier lors du développement de la silique.

[1] Cosgrove D. Plant cell walls: Wall-associated kinases and cell expansion. *Curr Biol*. 2001; 11(14): R558-R559

[2] Willats WG, Orfila C, Limberg G, Buchholt HC, van Alebeek GJ, Voragen AG, Marcus SE, Christensen TM, Mikkelsen JD, Murray BS, Knox JP. Modulation of the degree and pattern of methyl-esterification of pectic homogalacturonan in plant cell walls. Implications for pectin methyl esterase action, matrix properties, and cell adhesion. *J Biol Chem*. 2001;276(22):19404-13

[3] Micheli F, Sundberg B, Goldberg R, Richard L. Radial distribution pattern of pectin methylesterases across the cambial region of hybrid aspen at activity and dormancy. *Plant Physiol*. 2000;124(1):191-9

[4] Bordenave M, and Goldberg R. Purification and characterization of pectin methylesterases from mung bean hypocotyl cell walls. *Phytochemistry* 1993; 33(5):, 999-1003

[5] Lacoux J, Duval I, Dupre P, Gutierrez L, Lesueur S, Roger D, Laine E. Activity of a flax pectin methylesterase promoter in transgenic tobacco pollen. *J Plant Physiol*. 2003;160(8):977-9

[!\[\]\(fc266e8395171e6214f6cc713c879479_img.jpg\) Retour vers programme;](#) ●●●● [!\[\]\(b6b982c5856622095346b2d24cfd6312_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

IDENTIFICATION ET CARACTERISATION D'UNE PEROXYDASE POTENTIELLEMENT IMPLIQUEE DANS LA POLYMERISATION DES LIGNINES

Mohammad Mir Derikvand¹, Nathalie Caulet-Dumont¹, Brigitte Pollet², Catherine Lapierre², Lise Jouanin¹

¹Biologie cellulaire, INRA, 78026 Versailles cedex, France

²Chimie biologique, INRA-INA PG, 78850 Thiverval-Grignon, France

Les peroxydases sont des enzymes capables d'oxyder un grand nombre de substrats en présence de H₂O₂. Elles sont en particulier impliquées dans la polymérisation des lignines. Les peroxydases forment une grande famille multigénique chez *Arabidopsis* avec 73 gènes [1].

Une peroxydase a été identifiée par MS-MALDI-TOF dans un gel 2D réalisé à partir d'extraits de protéines glycosylées de tiges d'*Arabidopsis*. Cette peroxydase correspond au gène At3g49120. Ce gène est fortement exprimé dans les tiges florales d'*Arabidopsis*.

Un mutant nul a été identifié dans la collection de mutants par insertion d'ADN-T de Versailles. Des extraits bruts de protéines pariétales de tiges de ce mutant obtenu à l'état homozygote présentent une activité peroxydase réduite d'environ 20% par rapport à *Arabidopsis* sauvage.

Le cDNA de cette peroxydase sous le contrôle du promoteur 35S du CaMV a été utilisé pour compléter le mutant. Les lignées complémentées surexpriment cette peroxydase. L'impact sur la lignification de la dérégulation de cette peroxydase sera présenté.

1. Tognolli M, Penel C, Greppin H, Simon P. Analysis and expression of the class III peroxidase large gene family in *Arabidopsis thaliana*. Gene 288 (2002) 129-138.

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

IDENTIFICATION OF A METHYL TRANSFERASE REQUIRED FOR HOMOGALACTURONAN BIOSYNTHESIS IN *ARABIDOPSIS THALIANA*.

Mouille G.¹, Ralet M.C.³, Eland C.⁴, Marchant A., McCartney L.^{1,2}, Effroy D.¹, Saidi, O.¹ and Höfte H.¹

¹Laboratoire de Biologie Cellulaire, Institut Jean-Pierre Bourgin INRA de Versailles, 78026 VERSAILLES, FRANCE.

²Centre for Plant Science, University of Leeds, LEEDS, UK.

³Unité de Recherche sur les polysaccharides, INRA URPOI BP 71627 - 44316 NANTES Cedex 03

⁴Umeå Plant Sciences Center, Department of Forest Genetics and Plant Physiology, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), 901 83 UMEÅ, SWEDEN

The biosynthesis of pectins in the cell wall probably requires the action of several hundred glycosyl-transferases. However, only a few mutants showing an alteration of pectin biosynthesis have been identified so far. Among these, the *quasimodo 1 (qual)* mutant shows a 25% reduction in galacturonic acid content. This phenotype is the result of the alteration of a gene encoding a family 8 glycosyl-transferase probably acting in the synthesis of the homogalacturonan chain of pectin [1]. Another mutant altered in a gene encoding a GT8 has been isolated. Unfortunately this mutant does not show a clear cell wall modification of pectin [2]. We choosed an alternative strategy to reverse genetics for the isolation of mutants, with a similar phenotype to *qual*, by the use of FTIR microspectroscopy.

The analysis of about a hundred *Arabidopsis* dwarf mutants by Mid-Infrared microspectroscopy and their classification according to the method developped by Mouille et al., [3] enabled us to identify mutants showing similar cell wall alterations. We will show the characterization of these mutants both at a morphological and cytological level. The alterations of the plant cell wall have been studied by immunocytochemistry using anti-pectin monoclonal antibodies and fine structural analysis of the pectins.

One of these mutants is affected in a gene encoding a putative methyl transferase. Cell wall analysis shows that this gene is required for normal homogalacturonan biosynthesis. We are currently investigating the hypothesis that this gene is a pectin methyl transferase the action of which is coupled to the GalA-transferase encoded by *QUA1*.

(1) Bouton S., et al. (2002). *QUASIMODO1* encodes putative membrane bound glycosyl transferase required for normal pectin synthesis and cell adhesion in *Arabidopsis*. The Plant Cell. Vol. 14, 2577-90

(2) Lao, N. et al., (2003) Mutation of a Family 8 glycosyltransferase gene alters cell wall carbohydrate composition and causes a humidity-sensitive semi-sterile dwarf phenotype in *Arabidopsis*. Plant Mol. Biol. 53, 687-701

(3) Mouille G. et al., (2003). Classification and identification of *Arabidopsis* cell wall mutants using Fourier Transform InfraRed (FT-IR) microspectroscopy Plant Journal Vol. 35, 394-404

[**►►► Retour vers programme**](#)

[**►►► Retour vers table résumé**](#)

LA MUTATION *REB1-1* AFFECTE SPECIFIQUEMENT LA STRUCTURE DES XYLOGLUCANES ET DES AGP MAIS PAS CELLE DES PECTINES.

Eric Nguema-Ona¹, Christine Andème-Onzighi¹, Sophie Aboughe¹, Muriel Bardor¹, Tadashi Ishii², Patrice Lerouge¹ and Azeddine Driouich¹

¹ UMR CNRS 6037, IFRMP 23, Université de Rouen. 76 821 Mont Saint Aignan, Cedex. France.
² Forestry and Forest Products Research Institute, P. O. Box 16, Tsukuba Norin Kenkyu Danchi-nai, Ibaraki 305,

Abstract. The root epidermal bulger1-1 (*reb1-1*) mutant of *Arabidopsis thaliana* is characterized by a reduced elongation rate of the primary root and by the bulging of root trichoblast cells. *REB1/RHD1* gene belongs to a family of UDP-glucose 4-epimerase involved in the synthesis of D-galactose. In a previous study, we have shown that certain arabinogalactan-protein (AGP) epitopes are not expressed in bulging trichoblasts of the mutant (Andème-Onzighi et al., 2002, *Planta* 215: 949-958). In this study, using a combination of microscopical and biochemical methods, we have investigated the occurrence and structure of three major galactose-containing polysaccharides namely xyloglucan (XyG), rhamnogalacturonan I (RG I) and rhamnogalacturonan II (RG II) in the mutant root cell walls. Our immunocytochemical data show that swollen trichoblasts are not stained with the mAb antibody CCRCM1 specific for (1-2)-alpha-L-fucosyl (1-2)-beta-D-galactosyl side chains of XyG, while they are stained with anti-XG antibodies specific for XyG backbone. In addition, the analysis of the cell wall hemicellulosic fraction demonstrates that the *reb1* mutant synthesizes two structurally different XyGs. One is structurally similar to that found in the wild-type and the other is devoid of galactosylated and fucosylated side-chains. Like with anti-XG antibodies, root epidermal cells of both wild-type and *reb1-1* are stained with two anti-pectin antibodies namely anti-RG II and anti-bupleuran 2IIC an (specific for an epitope consisting of (1-3,6)-beta-D-galactosyl residues carrying glucuronic or 4-O- methylglucuronic acids). In contrast, the mAb LM5 specific for RG I-galactans does not stain epidermal cells of the root elongation zone in both wild-type and *reb1-1*. In addition, structural analysis of pectic polymers has not revealed any major change in the structure of RG I and RG II polysaccharides isolated from *reb1-1* root cells as compared to the wild-type. These findings demonstrate that the *reb1-1* mutation affects specifically the structure of XyG and AGP, but not pectic polysaccharides.

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

CLONAGE, EXPRESSION ET CARACTERISATION D'UNE GLYCOSYLTRANSFERASE: DE L'ARABETTE AU LIN

Paynel Florence, Chevalier Véronique, Bruyant Philippe, Kiefer-Meyer Marie-Christine, Klein Dominique, Pagny Sophie, Gomord Véronique, Morvan Claudine.

UMR CNRS 6037 Glycobiologie et Transports chez les Végétaux, IFRMP 23, UFR des Sciences, Université de ROUEN, 76821 MONT SAINT AIGNAN Cedex

florence.paynel@univ-rouen.fr ; veronique.chevalier@etu.univ-rouen.fr

Nous nous attachons à comprendre le rôle de la paroi dans la croissance de la plante, notamment par l'étude du métabolisme des polysaccharides pectiques. Les pectines sont des composés complexes représentant une part importante des polysaccharides pariétaux. Leur synthèse nécessite de nombreuses glycosyltransférases. Cependant, l'identification et la caractérisation de ces enzymes sont difficiles, tant du point de vue biochimique que moléculaire. Le matériel végétal utilisé est le lin (*Linum usitatissimum*), une plante cultivée pour la production d'huile (lin « oléagineux ») ou pour la production de fibres cellulosiques (lin « textile »).

Le séquençage complet du génome du lin n'étant pas réalisé, nous avons effectué une étude préliminaire chez une plante modèle dont le génome a été entièrement séquencé: l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*).

A partir d'étude *in silico* de banques de données (CAZY,...), des gènes d'*A. thaliana*, codant potentiellement des glycosyltransférases, ont été sélectionnés. Dans un premier temps, grâce à des amorces spécifiques, un premier ADNc complet (1124pb) codant une protéine membranaire de type II caractéristique des glycosyltransférases a été obtenu. La séquence de 367 acides aminés présente un domaine transmembranaire (TM) en NH₂ terminal, ainsi que 3 sites potentiels de N-glycosylation (après la région TM) et le motif DXD, caractéristique des glycosyltransférases utilisant les UDP-oses comme donneurs. Par la technique de RT-PCR, un clone a été obtenu à partir d'une préparation d'ARN totaux d'*A. thaliana*. Après expression dans les cellules d'insecte *Sf9*, des tests d'activité enzymatique ont été réalisés sur la protéine produite. L'utilisation de différents UDP-oses donneurs et nombreux sucres accepteurs a mis en évidence une activité xylosyltransférase potentielle sur le fucose. Ces résultats suggèrent une intervention de l'enzyme dans la synthèse de chaînes latérales de rhamnogalacturonane II.

Parallèlement au travail réalisé sur *A. thaliana*, par comparaison de la séquence de ce gène avec des séquences de banques d'EST de tomate, de luzerne et d'oignon, des amorces dégénérées ont été déterminées pour cribler des ARN totaux de lin. L'utilisation de la technique de RACE-PCR a permis l'obtention d'un ADNc complet de 1071 pb. La production de la protéine correspondante, par les cellules d'insecte *Sf9*, est en cours et sera suivie de mesures d'activité glycosyltransférase. De plus, l'effet de l'âge de la plante et des conditions de culture sur l'expression de ce gène a été étudié dans les différents organes de lin afin d'appréhender le rôle de ce gène dans le développement de la plante.

[▶▶▶ Retour vers programme](#)

[▶▶▶ Retour vers table résumé](#)

CARTOGRAPHIE DES ACÉTYLES SUR LES PECTINES DE BETTERAVE

Marie-Christine RALET, Juan-Carlos CABRERA, Bernard QUÉMÉNER, Estelle BONNIN et Jean-François THIBAUT

INRA - Unité de Recherche Biopolymères, Interactions, Assemblages (BIA), rue de la Géraudière, BP 71627, F-44316 Nantes cedex 03, France

Les pectines constituent un groupe d'hétéropolysaccharides chargés. Elles sont essentiellement localisées dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des cellules végétales. Leur structure est souvent idéalisée par la succession de zones dites "lisses" constituées d'homogalacturonanes (HG) et de zones dites "hérissées" riches en rhamnogalacturonanes ramifiés (RG-I). Les acides galacturoniques peuvent être estérifiées en C-6 par du méthanol. Les pectines jouent un rôle capital dans l'architecture de la paroi primaire, principalement du fait de leur capacité à s'associer par l'intermédiaire d'ions calcium. Cette capacité d'interaction est d'ailleurs mise à profit : les pectines constituent en effet l'un des principaux agents gélifiants utilisés en agro-alimentaire.

Les pectines de betterave ne sont pas utilisables en l'état car certaines de leurs particularités structurales (estérification de fonctions alcools par de l'acide acétique entre autres) empêchent leur gélification. La « fonctionnalisation » des pectines de betterave passe donc par une déacétylation. Nous avons récemment isolé une pectin acetyl esterase (PAE) susceptible de déacétyler les pectines de betterave [1]. La caractérisation de cette enzyme nécessite une bonne connaissance de la structure du substrat et particulièrement (i) de la répartition des acétyles entre domaines HG et domaines RG-I et (ii) de la position des substituants acétyles (C-2 et/ou C-3 de l'acide galacturonique). Différents oligogalacturonates partiellement méthylés et acétylés ont été générés par action d'une PME fongique et d'une endo-polygalacturonase (PGI ou PGII) sur des pectines de betterave, puis purifiés par chromatographie d'échange d'ions. La répartition des acétyles entre domaines HG et domaines RG-I a pu être établie. Le séquençage des différents oligogalacturonates a été réalisé par spectrométrie de masse-électrospray-trappe d'ions. Certains ions fils obtenus par les techniques de refragmentation MSⁿ ont permis de positionner les substituants acétyles en C-2 ou en C-3 des acides galacturoniques [2]. Une cartographie des domaines HG des pectines de betterave incluant (i) le degré de polymérisation de ces domaines [3, 4], (ii) les groupements acétyles (en C-2 ou C-3), (iii) les groupements méthyles, a pu être établie [5]. Outre l'avancée des connaissances structurales sur les pectines de betterave et le mode d'action des différentes PG, la cartographie des domaines HG sera d'une grande aide pour l'étude du mode d'action de la PAE en vue de fonctionnaliser les pectines de betterave.

[1] Bonnin, E., Daniel, S., Clavurier, K., Mikkelsen, J.D., Thibault, J.-F., 2005. An acetylcysteine from *Aspergillus aculeatus* able to deacetylate pectins. Réseau Français des Parois, Rouen.

[2] Quémener, B., Cabrera, J.C., Ralet, M.-C., Bonnin, E., Thibault, J.-F., 2003. Assignment of acetyl groups to O-2 and/or O-3 of pectic oligogalacturonides using negative electrospray ionization ion trap mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 38, 641-648.

[3] Thibault, J.-F., Renard, C.M.G.C., Axelos, M.A.V., Roger, P., Crepeau, M.-J., 1993. Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid-hydrolysis. *Carbohydr. Res.* 238, 271-286.

[4] Bonnin, E., Dolo, E., Le Goff, A., Thibault, J.-F., 2002. Characterization of pectin subunits released by an optimised combination of enzymes. *Carbohydr. Res.* 337, 1687-1696.

[5] Ralet, M.-C., Cabrera, J.C., Bonnin, E., Quémener, B., Hellin, P., Thibault, J.-F., 2005. Mapping sugar beet pectin acetylation pattern. *Phytochem.* Accepted for publication.

[!\[\]\(482e2a8aae538884c893658a4dc9dc6e_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

ETUDE DES POLYSACCHARIDES PARIETAUX DE L'ALBUMEN DE GRAIN DE BLE PAR FT-IR. ATTRIBUTION SPECTRALE DES ARABINOXYLANES

Paul Robert¹, Mélanie Marquis¹, Cécile Barron², Fabienne Guillon¹, Luc Saulnier¹

¹INRA – Unité de Recherches Biopolymères, Interactions et Assemblages, BP 71627 – 44316 Nantes Cedex, France.

²Unité mixte de Recherches Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, INRA-ENSAM-UMII-CIRAD, 2 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

La spectroscopie infra-rouge est connue pour être une méthode pertinente pour étudier les propriétés physico-chimiques et conformationnelles des polysaccharides [1-2]. Alors qu'une attribution précise dans la région 1200-800 cm⁻¹ range demeure délicate, des applications ont été développées pour étudier les parois cellulaires des plantes qui contiennent une grande variété de macromolécules[3]. La méthode présente l'avantage d'être rapide et sensible. De plus les méthodes vibrationnelles permettent l'étude des polysaccharides dans différents états physiques.

Les spectres infra rouge à transformée de Fourier (FR-IR) des arabinoxylanes de l'albumen amylicé de grain de blé ont été analysés. Nous disposons d'un jeu d'arabinoxylanes présentant des variations dans le rapport arabinose sur xylose et de xylo-oligosaccharides comprenant des unités xylosyles mono et di-substituées par des unités arabinose. La substitution du squelette d'unités xylosyles a été plus particulièrement examinée dans la région 1000-800 cm⁻¹. Nous avons pour cela travaillé à partir des spectres en dérivée seconde. La région spectrale 920-1020 cm⁻¹ révèle deux bandes d'absorption à 984 et 958 cm⁻¹, dont les intensités varient selon le degré de substitution. Tandis que l'intensité de la bande à 958 cm⁻¹ augmente avec le degré de substitution, celle à 984 cm⁻¹ diminue. Les données spectrales des xylo-oligosaccharides indiquent que ces changements peuvent être attribués à la substitution du squelette xylane par des unités arabinose, et que la bande à 958 cm⁻¹ reflète la présence d'unités xylose di-substituées. Une analyse en composantes principales des spectres FT-IR de mélanges d'arabinoxylanes, de (1-3)(1-4) α glucanes et d'arabinogalactanes indique qu'il est possible d'évaluer la teneur et le degré de substitution des arabinoxylanes dans des mélanges aussi complexes que les parois cellulaires de l'albumen de grain de blé.

(1) Wilson, R. H.; Smith, A. C.; Kacurakova, M.; Saunders, P. K.; Wellner, N.; Waldron, K. W. The mechanical properties and molecular dynamics of plant cell wall polysaccharides studied by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Plant Physiology* **2000**, *124*, 397-405.

(2) Kacurakova, M.; Wilson, R. H. Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. *Carbohydrate Polymers* **2001**, *44*, 291-303.

(3) Maureen C. McCann, M. B., Dimitra Milioni, Pierre Sado, Nicola J. Stacey, Gareth Catchpole, Marianne Defernez, Nicholas C. Carpita, Herman Hofte, Peter Ulvskov, Reginald H. Wilson, Keith Roberts Approaches to understanding the functional architecture of the plant cell wall. *Phytochemistry* **2001**, *57*, 811-821

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

EMPREINTE ENZYMATIQUE DES ARABINOXYLANES DU GRAIN DE BLE

José Juan Ordaz-Ortiz, Marie Françoise Devaux and Luc Saulnier

INRA – Biopolymères, Interactions, Assemblage - BP 71627, 44316 Nantes, France

Les arabinoxylanes sont les principaux polysaccharides des parois du grain de blé et sont responsables d'importants effets technologiques. Dans l'albumen de blé, les AX sont partiellement hydro-solubles (30%; WE-AX) et ont rapport arabinose sur xylose (A/X) moyen d'environ 0.5. D'importantes variations de la structure des AX ont été décrites, aussi bien pour les fractions solubles que pour les fractions insolubles (WU-AX) dont le rapport A/X moyen est légèrement supérieur (0.6) (1). Des preuves du contrôle essentiellement génétique des variations de la structure des WE-AX ont été établies, et un QTL responsable des variations du rapport A/X a été trouvé sur le chromosome 1B L du blé (2;3).

Dans ce contexte, il est important de développer une méthode fonctionnant à la fois sur la farine et sur le grain et capable de cribler les variations structurales de l'ensemble des AX (WE-AX et WU-AX) de l'albumen. Une empreinte enzymatique a été obtenue sur des tissus isolés du grain de blé, des farines et des grains entiers broyés en utilisant une endoxylanase de *Trichoderma viride*. Les produits de dégradation de l'endoxylanase ont été séparés et identifiés par chromatographie d'échanges d'anions. Une collection de 20 variétés de blés Français, présentant une large gamme de viscosité, a été étudiée et des techniques d'analyses multidimensionnelles (Analyse en Composantes Principales et Analyse Canonique des Corrélations) ont été appliquées pour exploiter les données chromatographiques. Il a ainsi été possible d'établir un classement des différentes variétés sur la base des caractéristiques structurales des AX. Le même classement a été obtenu à partir de farine ou de grains entiers broyés ce qui indique que la méthode est spécifique des tissus de l'albumen. Cette méthode d'empreinte enzymatique sera appliquée sur des collections de blés cartographiés afin d'établir des QTL liés aux variations de structure des AX. Cette approche est une première étape pour l'identification des gènes impliqués dans la biosynthèse de ces macromolécules complexes.

- (1) Ordaz-Ortiz, J. J.; Saulnier, L. Structural variability of arabinoxylans from wheat flour. Comparison of water-extractable and xylanase-extractable arabinoxylans. *Journal of Cereal Science* **2005**, 42, 119-125.
- (2) Martinant, J. P.; Cadalen, T.; Billot, A.; Chartier, S.; Leroy, P.; Bernard, M.; Saulnier, L.; Branlard, G. Genetic analysis of water extractable arabinoxylans in bread wheat endosperm. *Theoretical and Applied Genetics* **1998**, 97, 1069-1075.
- (3) Martinant, J. P.; Billot, A.; Bouguennec, A.; Charmet, G.; Saulnier, L.; Branlard, G. Genetic and environmental variations in water-extractable arabinoxylans content and flour extract viscosity. *Journal of Cereal Science* **1999**, 30, 45-48.

[**►►► Retour vers table résumé**](#)

CRIBLAGE DE MUTANTS D'*ARABIDOPSIS THALIANA* AFFECTES DANS LA STRUCTURE DU RHAMNOGALACTURONANE II.

Séveno^{1,2}, M., Tilly¹, N., Rihouey¹, C., Delmas³, F., Chevalier³, C., Lerouge¹, P.

(1) Laboratoire de Glycobiologie et Transports chez les végétaux, Unité Mixte de Recherche 6037, Institut Fédératif de Recherche Multidisciplinaire sur les Peptides 23, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan cedex, France.

(2) MEDICAGO INC., 1020, route de l'Eglise, Sainte Foy G1V 3V9, Québec, Canada.

(3) Unité Mixte de Recherche 619 de Physiologie et Biotechnologie Végétales, Institut de Biologie Végétale Moléculaire, Centre de Recherche Institut National de la Recherche Agronomique-Bordeaux, boîte postale 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France.

Le Rhamnogalacturonane II (RG II), polysaccharide hautement conservé dans de nombreuses espèces végétales, est un méga-oligosaccharide pectique complexe. Ce polymère est présent principalement dans la paroi sous une forme dimérisée *via* une liaison diester de borate. Or, il a été montré que la dimérisation du RG II serait un processus fondamental dans la croissance de la plante (O'Neill *et al.*, 2001). Pouvoir disposer de mutants affectés au niveau de la structure de RG II est une des voies les plus attractives d'étude des fonctions physiologiques de ce polymère pariétal complexe. Cependant, l'étude du RG II est délicate puisqu'il ne représente que 4 % des composés pariétaux et qu'il possède une structure très complexe. Dans ce contexte, notre objectif consiste à mettre en oeuvre et valider un protocole de criblage de mutants présentant des défauts de structure du RG II à partir de feuilles d'*Arabidopsis thaliana*. Après purification du RG II, une analyse structurale par spectrométrie de masse (ESI, Q-TRAP) permet de définir une « empreinte acide » des plantes sauvages et mutantes.

O'Neill, M.A., Eberhard, S., Albersheim, P., Darvill, A.G. (2001) Requirement borate cross-linking of the cell wall rhamnogalacturonan II for *Arabidopsis* growth. *Science*. **294**, 846-849.

[!\[\]\(5ac3086483c0adb44d83d000c5b59c1b_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

IMPLICATION OF AGPs-GPI IN *Cichorium* SOMATIC EMBRYOGENESIS

**WINDELS D.¹, HABARUGIRA I.¹, BLERVACQ A.S.¹, LEROY Y.², ZANETTA J.P.²,
MICHALSKI J.C.², HILBERT J.L.¹.**

1 Laboratoire de Physiologie de la Différenciation Végétale UPRES EA3569-IFR118, USTL Bâtiment SN2, 59655 Villeneuve d'Ascq (France)

2 Laboratoire de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, UMR 8576 du CNRS, USTL bâtiment C9 59655 Villeneuve d'Ascq (France)

Somatic embryogenesis (SE) is an alternative to method for studying early zygotic embryogenesis mechanisms. The facility of production and the accessibility of somatic embryos permitted a better to understand the different steps of this process and the function of different proteins. Arabinogalactan proteins (AGPs) have been shown to be necessary to express SE in an interspecific *Cichorium* hybrid (Chapman & al, 2000), like in carrot system. AGPs belong to the HRGP family (Hydroxyproline rich glycoprotein), and are formed by a hydroxyproline-rich core protein (1 to 10% of the glycoprotein) which is O-glycosylated by arabinose and galactose (90 to 99%). AGPs are classified in two categories called “classical” and “no classical” AGPs. Classical AGPs are often described to be AGP-GPIs.

To clarify putative relationships between the secretion of AGPs in the culture medium and the embryogenic potential, we focused on new halfsib genotypes derived from an East-european population designated as Koospol. In this population, K59 is high embryogenic genotype and K28 and C15 are less embryogenic genotypes. In order to understand the roles and nature of AGPs during SE expression, AGPs secreted was compared between different genotypes and after treatment of Phospholipase C inhibitor (PLC).

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

PRODUCTION ET CARACTERISATION DE SONDES IMMUNOCHIMIQUES ANTI-LIGNINES : ETUDE ULTRASTRUCTURALE DES LIGNINES DE LA PAILLE DE BLE.

K. Yamauchi^a, A. Habrant^a, K. Ruel^b, B. Chabbert^a, B. Cathala^a

^aINRA, UMR Fractionnement des AgroRessources et Emballages INRA/URCA, Equipe Parois végétales et Matériaux Fibreux, CREA, 2 Esp.R. Garros, BP 224, 51686 Reims cedex

^bCERMAV, UPR 5301, CNRS, BP 53, 38041 Grenoble cedex 9

En raison de leur spécificité et leur sensibilité, les approches immunocytochimiques basées sur l'utilisation d'anticorps spécifiques des macromolécules pariétales, ont largement contribué à la compréhension de l'architecture des parois. Le développement d'anticorps anti-lignines a ainsi permis des avancées significatives dans le domaine de l'évaluation *in situ* des lignines. Cette démarche est en effet basée sur l'utilisation d'anticorps polyclonaux dirigés contre des modèles de lignines (dehydropolymères, DHPs) variant entre eux par leur composition monomérique et/ou la proportion des différentes liaisons, et s'affranchit alors des contaminants polysaccharidiques associés aux préparations de lignine à partir du végétal.

Afin de préciser et d'améliorer la sélectivité de ces anticorps nous avons engagé une stratégie basée sur le fractionnement d'un sérum polyclonal anti-lignines par chromatographie d'affinité. Cette approche repose sur la synthèse de motifs structuraux des lignines fonctionnalisés en vue de leur greffage sur un support chromatographique. A partir d'un sérum révélant la plupart des parois lignifiées, une fraction, retenue sur colonne d'affinité portant un motif de lignine (phénol monométhoxylé) a été isolée. Appliquée à des coupes semi-fines de paille de blé, cette fraction purifiée montre une variation spatiale du marquage des parois de parenchyme par rapport au serum initial. Des tests d'inhibition compétitive sont réalisés sur coupes en présence de différents motifs structuraux afin de valider la démarche.

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

ETUDE DES DOMAINES STRUCTURAUX DES PECTINES D'ECORCES DE CITRON

Beda Marcel YAPO, Marie-Christine RALET, Estelle BONNIN et Jean-François THIBAUT

INRA-Unité de Recherche Biopolymères, Interactions, Assemblages (BIA), rue de la Géraudière, BP-71627, F-44316 Nantes cedex 03, France

Les pectines constituent un groupe d'hétéropolysaccharides chargés. Elles sont essentiellement localisées dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des cellules végétales. Leur structure est souvent idéalisée par une alternance de régions dites "lisses" constituées d'homogalacturonanes (HG) et de régions "hérissées" riches en rhamnogalacturonanes ramifiés de type-I (RG-I). Les pectines jouent un rôle capital dans l'architecture de la paroi primaire, principalement du fait de leur capacité à s'associer par l'intermédiaire d'ions calcium. Cependant leur modèle structural reste encore très controversé. Deux principaux modèles structuraux sont proposés dans la littérature. Un premier modèle suggère une succession de HG et de RG-I formant une chaîne continue [1] et un second propose une chaîne principale constituée de RG-I sur laquelle les HG seraient fixés en chaînes latérales [2].

L'étude des paramètres macromoléculaires des zones HG et RG-I isolées pourrait donc déboucher sur l'élaboration d'un modèle structural fiable. Dans l'étude présente, les pectines d'écorces de citron ont été extraites séquentiellement en fonction de leur mode "d'accrochage" dans la paroi par l'eau, l'oxalate de potassium, l'acide chlorhydrique et l'hydroxyde de sodium. La répartition des acides galacturoniques (GalA) dans les différentes fractions sont respectivement de 11, 32, 45, 7% de la teneur initiale en GalA des écorces. Les HG ont été isolées par voie acide diluée suivant la méthode [2]. En effet, par différence de sensibilité des liaisons glycosidiques ($\text{GalA-GalA} > \text{Gal-Rha} > \text{Rha-GalA} > \text{sucres neutres}$) [2, 3] en milieu acide dilué, les RG-I sont rapidement hydrolysés et solubilisés sous forme d'oligosaccharides tandis que les HG s'insolubilisent stables et intacts. La caractérisation macromoléculaire des HG a montré que les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) étaient similaires indépendamment du type d'extractant. De plus, les indices de polydispersité (I_p) conséquemment similaires étaient proches de l'unité et dénotaient une homogénéité de masses des HG. Les zones HG des pectines de citron seraient donc de longueur similaire quelle que soit leur localisation dans la paroi.

[1] Schols, H.A., Voragen, A.G.J. (1996). Complex Pectins : Structure elucidation using enzymes. Dans : Pectins and pectinases, Visser, J. & Voragen, A.G.J. eds., Elsevier, pp. 3-19.

[2] Vicken, J.P., Schols, H.A., Oomen, R.J.F.J., McCann, M.C., Ulaskov, P., & Voragen, A.G.J. (2003). If homogalacturonans were a side chain of rhamnogalacturonan-I. Implication for cell wall architecture, *Plant Physiology*, 132, 1781-1789.

[3] Thibault, J.-F., Renard, C.M.G.C., Axelos, M.A.V., Roger, P., & Crépeau, M.-J. (1993). Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid hydrolysis. *Carbohydrate Research*, 238, 271-286.

[4] Renard, C.M.G.C., Crépeau, M.-J., & Thibault, J.-F. (1993). Structure of the repeating units in the rhamnogalacturonic backbone of apple, beet and citrus pectins. *Carbohydrate Research* 275, 155-165.

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

ETUDE *IN VITRO* DES INTERACTIONS CELLULOSE/XYLOGLUCANE/PECTINES

**Agata ZYKWINSKA, Marie-Christine RALET, Catherine GARNIER, Jean-Louis DOUBLIER
et Jean-François THIBAUT**

INRA – Unité de Recherche Biopolymères, Interactions, Assemblages (BIA), rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes Cedex 03, France

La paroi primaire des plantes supérieures est essentiellement composée de trois types de polysaccharides: pectines, cellulose et hémicelluloses. Le modèle pariétal le plus largement utilisé [1] est basé sur une structure de type multi-réseaux qui propose l'existence de trois domaines indépendants mais interactifs: (i) réseau cellulose/hémicelluloses, (ii) réseau pectique, (iii) réseau de protéines structurales. Nous étudions les interactions potentielles entre certains de ces réseaux. Pour cela, des «composites» mimant la paroi primaire sont créés *in vitro* par assemblage des polysaccharides constitutifs.

Des essais d'interaction *in vitro* entre des pectines ou certains de leurs domaines constitutifs et la cellulose microcristalline Avicel ou la cellulose issue de paroi primaire de betterave [2] ont été réalisés. Pour cela, les isothermes d'adsorption, exprimant la masse de polysaccharide adsorbé par la masse de cellulose (q_e) en fonction de la concentration libre en polysaccharide (C_e), ont été construits. L'adsorption de xyloglucane, hémicellulose connue pour son interaction spécifique avec la cellulose, nous a servi de référence [3, 4]. Aucune interaction entre les pectines pauvres en chaînes latérales et les celluloses n'a pu être mise en évidence. Les pectines riches en chaînes latérales ainsi que des chaînes latérales isolées se sont par contre révélées capables de s'adsorber sur les celluloses, et ce à des degrés divers selon le type de chaîne latérale (arabinane, galactane) et l'origine de la cellulose. Ainsi l'hypothèse de l'existence d'interactions non-covalentes entre les pectines, et plus précisément leurs chaînes latérales, et la cellulose, a pu être formulée. L'origine de la cellulose, sa cristallinité, la taille latérale des microfibrilles etc., semblent d'être des facteurs pouvant influencer l'interaction observée *in vitro*.

- (1) Carpita, N. C. and Gibeaut, D. M. (1993) Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of walls during growth. *Plant J.* 3: 1-30
- (2) Heux, L., Dinand, E. and Vignon, M. R. (1999) Structural aspects in ultrathin cellulose microfibrils followed by ^{13}C CP-MAS NMR. *Carbohydr. Polym.* 40: 115-124
- (3) Hayashi, T., Marsden, M. P. F. and Delmar, D. P. (1987) Pea xyloglucan and cellulose. V. Xyloglucan-cellulose interactions *in vitro* and *in vivo*. *Plant Physiol.* 83: 384-389
- (4) Vincken, J. P., Keizer, A., Beldman, G. and Voragen, A. G. J. (1995) Fractionation of xyloglucan fragments and their interaction with cellulose. *Plant Physiol.* 108: 1579-1585

[**▶▶▶ Retour vers programme**](#)

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

Utilisation des modèles de mélange de distribution de probabilités pour la classification de données transcriptome sur les familles AGP et LTP.

Maugis Cathy¹, Aubourg Sébastien², Renou Jean-Pierre², Celeux Gilles¹
& Martin-Magniette Marie Laure^{2,3}.

1 : Département de Mathématiques Paris XI-Orsay, Inria Futurs, 91 405 Orsay Cedex

2 : URGV (UMR INRA-CNRS-UEVE) 2, rue Gaston Crémieux, CP 5708, 91057 Evry Cedex

3 : UMR ENGREF/INA-PG/INRA Mathématique et Informatique Appliquées, 16 rue Claude Bernard, 75005 Paris

Les caractéristiques qualitatives et compositionnelles d'une séquence protéique, sous pression de sélection, sont en relation avec sa fonction biologique. Par conséquent la mise en relation des données structurales sur les gènes d'une même famille avec leurs profils de transcription devrait permettre de préciser le rôle respectif de chacun des gènes de la famille étudiée. Nous nous sommes intéressés à cette question pour les 'Arabinogalactan-proteins' (AGP) et les 'Lipid transfer proteins' (LTP). En effet les AGP et les LTP représentent deux grandes familles de gènes codant pour des protéines excrétées et impliquées dans de nombreux processus du développement, des communications inter-cellulaires et/ou des réponses aux stress biotiques et abiotiques, cependant les fonctions biologiques exactes des différents membres de ces familles sont encore largement méconnues. Pour les données structurales, nous avons conduit une annotation expertisée et exhaustive de ces deux familles partiellement chevauchante chez *Arabidopsis thaliana* à l'aide de l'outil FLAGdb++ (1): 113 gènes LTP et 58 gènes AGP ont été ainsi identifiés. Chaque gène a été annoté du point de vue de sa structure intron-exon, des séquences transcrites associées et des caractéristiques de la protéine déduite (adressage cellulaire, ancrage GPI, motifs conservés...). Pour les deux familles, une classification basée sur des comparaisons de séquences et des données bibliographiques a été réalisée.

Pour les profils de transcription, nous avons utilisé des données d'expression obtenues avec les puces CATMA (2 ; 3) qui comprennent 24576 sondes spécifiques obtenues grâce au logiciel SPADS (4), incluant 44 sondes AGP et 78 sondes LTP. Parmi les 900 hybridations réalisées à l'URGV en collaboration avec des laboratoires partenaires INRA, CNRS ou CEA, nous avons considéré des hybridations concernant différents organes, des conditions du développement ou des conditions de stress.

Ces données transcriptomes (multidimensionnelles) ont été traitées par un modèle de mélange de lois gaussiennes dans le but d'extraire des groupes de gènes biologiquement intéressants (logiciel mixmod : 5). Une des originalités de ce travail fut la prise en compte d'informations complémentaires telles que les données structurales et la préexistence d'un groupe de gènes non différenciellement exprimés. De ces études ressortent notamment des petits groupes de gènes entre LTP et AGP, qu'il serait intéressant d'étudier plus précisément.

1 Samson F., *et al* 2004. FLAGdb⁺⁺ : a database for the functional analysis of the Arabidopsis genome. *Nucleic Acids Res.* 32, D347-D350.

2 Crowe ML. *et al.* 2003 CATMA: a complete Arabidopsis GST database. *Nucleic Acids Res* 31: 156-158

3 Hilson P. *et al.* 2004. Versatile gene-specific sequence tags for Arabidopsis functional genomics: transcript profiling and reverse genetics applications. *Genome Res.* Oct;14(10B):2176-89.

4 Thareau, V. *et al.* 2003. Automatic design of gene-specific sequence tags for genome-wide functional studies. *Bioinformatics*, 19, 2191-2198.

5 Mixmod software(2005) <http://www-math.univ-fcomte.fr/mixmod/index.php>

[▶▶▶ Retour vers table résumé](#)

Reactive Oxygen Species detection in *Arabidopsis* roots by confocal microscopy

Michèle CREVECOEUR*, Anne UTZ-PUGIN and Claude PENEL

Laboratory of Plant Physiology, University of Geneva, 30 Quai Ernest- Ansermet

1211 Geneva 4, CH

* email: Michele.Crevecoeur@bota.unige.ch

Cell extension during elongation growth is mediated by an irreversible extensibility of growth-limiting cell walls. Several enzymatic or nonenzymatic mechanisms have been proposed to explain wall loosening during extension growth of plant organs. Cell wall loosening has been regarded as a process mainly catalyzed by expansins (Cosgrove, 2001). Another alternative proposes nonenzymatic processes involving reactive oxygen species (ROS) and different results support this view. Elongating tissues usually produce ROS that are necessary for the cell growth process (Rodriguez et al., 2002; Schopfer et al., 2002). On the other hand, there are experimental evidences showing that apoplastic peroxidases can produce ROS in presence of appropriate reducing molecules (Liszkay et al., 2003). Results also indicate that these enzymes can induce cell wall loosening and regulate growth by elongation (see Passardi et al., 2004).

Our objective is to show that peroxidases are involved in ROS production in cell walls. A new fluorescent indicator of ROS, hydroxyphenyl fluorescein (HPF), was used. *In vitro*, HPF was shown to be converted to fluorescein either by hydrogen peroxide in presence of peroxidases or by hydroxyl radicals. To detect ROS *in vivo*, *Arabidopsis* roots from young plantlets were incubated in presence of HPF. They were then imaged in buffer with a Leica SP2 confocal microscope, using the 488 nm excitation line of an argon laser and the 506-586 nm emission lines. The fluorescence was detected preferentially in cell walls of the root elongating region, that exhibit the highest peroxidase activity. The fluorescence was greatly reduced in roots incubated in HPF with salicylhydroxamic acid (SHAM) and potassium cyanide (KCN), two substances known to inhibit peroxidase activity. A similar effect was observed in roots treated with potassium iodide (KI), a known H₂O₂ scavenger. These preliminary results indicate that HPF can be used to detect ROS *in vivo* and *in vitro*. They also indicate that the fluorescence imaged in *Arabidopsis* roots incubated in HPF is mainly due to peroxidases and hydrogen peroxide.

References

Cosgrove, Plant Physiol. 125: 131- 134, 2001.

Liszkay et al., Planta 217: 658-667, 2003.

Passardi et al., Trends in Plant Science, 9 : 534-540, 2004.

Rodriguez et al., Plant Physiol. 129: 1627-1632, 2002.

Schopfer et al., Planta, 214 : 821-828, 2002.

[!\[\]\(0d8dbecab417365fecc7101facf6c8bb_img.jpg\) Retour vers table résumé](#)

ROS and class III peroxidases : role during elongation

Claude Penel and Christophe Dunand

¹Laboratory of Plant Physiology, University of Geneva, Quai Ernest-Ansermet 30, CH-1211 Geneva 4, Switzerland. ²Swiss Institute of Bioinformatics, CH-1066 Epalinges/Lausanne, Switzerland.

During the elongation, changes are tightly associated to cell wall loosening and cross-linking. The balance between these two antagonistic processes can be precisely controlled by the antagonistic activities of the peroxidases. Indeed, they are able to build a rigid wall and stop elongation by oxidizing cell wall compounds or they can make wall more flexible by regulating the local concentration of H₂O₂ or by generating radical oxygen species (ROS) which breaks cell wall bonds (Passardi et al., 2004). Indirectly, peroxidases can also control the cell elongation through their auxin oxidase activity. IAA can be oxidized following two separated mechanisms: a conventional hydrogen peroxide-dependent pathway and a second one hydrogen peroxide-independent that required oxygen. The second mechanism is catalyzed by plant peroxidases, which are highly specific IAA oxygenases (Savitsky et al., 1999) and release ROS (Kawano, 2003)

The length of the roots was measured on one week dark/light-grown seedlings after various treatments related to peroxidase activity and ROS concentration (benzoate, SHAM, ASC, TIBA, AVG, H₂O₂, IAA, umbelliferone, esculetine, Mn-DFA, DPI, KI). A relation can be observed between the modification of the root elongation and the level of peroxidase activity. For the treatment showing the most significant root length variation, 3'-(p-hydroxyphenyl) fluorescein (HPF) was used to detect various reactive oxygen species.

Keywords: Plant peroxidase, root elongation, reactive oxygen species (ROS), auxin

- Kawano T (2003) Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. *Plant Cell Rep* 21: 829-837
- Passardi F, Longet D, Penel C, Dunand C (2004) The plant peroxidase multigenic family in rice and its evolution in green plants. *Phytochemistry* 65: 1879-1893
- Savitsky PA, Gazaryan IG, Tishkov VI, Lagrimini LM, Ruzgas T, Gorton L (1999) Oxidation of indole-3-acetic acid by dioxygen catalysed by plant peroxidases: specificity for the enzyme structure. *Biochem J* 340: 579-583

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)

PeroxiBase: a plant class III peroxidases database

Nenad Bakalovic¹, Filippo Passardi¹, Vassilios Ioannidis², Claudia Cosio¹, Laurent Falquet², Claude Penel¹ and Christophe Dunand¹

¹Laboratory of Plant Physiology, University of Geneva, Quai Ernest-Ansermet 30, CH-1211 Geneva 4, Switzerland. ²Swiss Institute of Bioinformatics, CH-1066 Epalinges/Lausanne, Switzerland.

Genome and EST projects are continually in expansion from model plant species (*Arabidopsis* or rice) or exotic plant species such as basal Angiosperms. Class III plant peroxidases constitute an omnipresent and highly conserved multigenic family in higher plants. The copy number of peroxidase genes has evolved from few sequence in green algae to 138 in *Oryza sativa*. The investigation of the wide range of available peroxidase sequences should provide a global image of the class III family through the whole plant kingdom and should allow obtaining a new vision of the plant evolution. Our PeroxiBase is further destined to become an interactive, easy-to-use and powerful tool for plant scientists that might want to look for orthologous genes, common regulations or more detailed information about any class III peroxidase. The cross-checking between sequence similarities, transcripts localization and regulations will provide a better understanding of the function of each isoform.

A peroxidase consensus sequence obtained by profile/HMM techniques was used as a query in BLAST searches to obtain an exhaustive collection of orthologous sequences. Based on these collected sequences (ESTs and genomics), each one was controlled manually before being incorporated in the database together with information about its regulation and expression. In addition to the 551 peroxidase sequences indexed in Swiss-Prot/TrEMBL, our PeroxiBase currently contains over 1500 independent sequences. This large and interactive database devoted exclusively to the class III plant peroxidases is available at <http://peroxidase.isb-sib.ch>.

Keywords: Plant peroxidase, database, evolution

[**▶▶▶ Retour vers table résumé**](#)