DEVELOPPEMENT D'UN SERUM POLYCLONAL A L'ENCONTRE D'UN MOTIF FERULOYLE DES ARABINOXYLANES.

PHILIPPE Sully¹, CHEVALIER Thérèse¹, HELARY Laurent¹, SAULNIER Luc¹,
UTILLE Jean-Pierre², QUILLIEN Laurence³ et GUILLON Fabienne^{1*}

[1] URPOI-INRA, [2] URPVI-INRA, BP 71627, 44316 Nantes Cedex 03

[3] CERMAV, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 09

* guillon@nantes.inra.fr

L'acide férulique et dans une moindre mesure, l'acide para-coumarique sont les principaux acides phénoliques présents dans les parois de céréales. Selon les variétés de blé, de 0,63 à 1,39 mg d'acide férulique sont présents par gramme d'hétéroxyanes. Ils se présentent sous forme estérifiée aux arabinoxylanes (au niveau de la position O5 des résidus arabinose).

De multiples fonctions sont attribuées aux acides phénoliques. Ils pourraient être impliqués dans les propriétés mécaniques de la paroi, d'adhésion cellulaire et de défense à l'encontre de phytopathogènes. Au cours du développement du grain, ils pourraient contribuer au contrôle de l'expansion cellulaire, et ainsi à la définition de la forme et taille des cellules. Ce contrôle s'effectuerait à travers notamment la formation de dimères sous l'action de peroxydases endogènes.

Nous proposons de mieux comprendre le rôle de l'acide férulique au sein de la paroi de l'albumen du grain de blé en relation avec le développement du grain ou les propriétés rhéologiques des tissus ou parois. Pour ce faire, nous avons produit un sérum polyclonal par immunisation de lapin avec le complexe immunogène BSA- β -D-Xylose-(1,4)-[L-Arabinose(5-O-transFeruloyl)]. Le sérum a été caractérisé par des tests ELISA indirects et compétitifs. L'intérêt de ce sérum pour détecter le motif (Ara₁F-W) *in situ* a été évalué sur parenchyme de racine de betterave sucrière et grain de blé par méthode de fluorescence indirecte. Le sérum a été utilisé pour examiner la cinétique de féruloylation des arabinoxylanes au cours du développement du grain de blé.

Le sérum polyclonal interagit par ordre décroissant avec le O-D xylopyranosyl-(1-2)-O [5-O-(trans feruloyl)-L Ara], le 5-O-(trans feruloyl)-L-Araf, le O-[2-O-(trans(feruloyl)-L-Araf)-(1-5)-L-Araf et le O-[6-O (trans-feruloyl)-D-Galp]-(1-4)-D-Galp. Il ne montre pas d'affinité pour le monomère d'acide férulique. Il contient des anticorps dirigés contre d'autres motifs structuraux de l'haptène (50% d'inhibition au maximum avec les oligosaccharides féruloylés). Ces premiers résultats suggèrent que le sérum reconnaît spécifiquement des motifs comprenant l'acide férulique sous forme estérifiée avec une préférence pour le motif 5-O-(trans feruloyl)-L- Araf. Les immunomarquages sur coupes de racines de betterave (parenchyme saccharifère) et de grain de blé confirment cette spécificité : aucun immunomarquage n'est observé pour l'échantillon de betterave alors que nous constatons une immunofluorescence des parois de la couche à aleurone et de l'albumen amylicé.

Afin de suivre la cinétique de féruloylation des AX au sein du grain de blé en développement, 8 stades depuis les premiers jours après anthèse (JAA) jusqu'à la phase de dessiccation ont été étudiés. L'estérification de AX dans les parois de l'assise aleuronique est plus importante que dans les parois de l'albumen amylicé. L'intensité du marquage des parois de l'albumen amylicé varie en relation avec la position des cellules dans le grain : les parois des cellules centrales affichant un marquage plus fort. Dans le cas des parois de l'assise aleuronique à partir du stade 19 JAA (ou 348°J) des variations d'intensité de marquages sont observées entre parois périclinales externes/internes et anticlinales : les régions les plus intensément marquées correspondent aux zones de jonction, à la lamelle moyenne et à l'interface couche à aleurone et tégument du nucelle.

Ces premières données seront confortées par une approche en spectroscopie RAMAN. Parallèlement à l'acide férulique, nous envisageons de suivre l'apparition de dimères d'acide férulique par des approches immunocytochimique et spectroscopie RAMAN.