



HAL
open science

β -Galactosidase : un rôle dans les couches G du bois de tension ?

Amra Secerovic, Fernanda Guedes, Marie-Claude Lesage Descauses, Nadège Millet, Veronique Laine-Prade, Françoise F. Laurans, Jean-Charles Leplé, Annabelle Dejardin, Gilles G. Pilate

► To cite this version:

Amra Secerovic, Fernanda Guedes, Marie-Claude Lesage Descauses, Nadège Millet, Veronique Laine-Prade, et al.. β -Galactosidase : un rôle dans les couches G du bois de tension ?. 10. Congrès Réseau Français des Parois, Jul 2014, Amiens, France. hal-02743954

HAL Id: hal-02743954

<https://hal.inrae.fr/hal-02743954v1>

Submitted on 3 Jun 2020

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

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

10^e Congrès

Réseau Français des Parois

Du 7 au 9 Juillet 2014 à Amiens

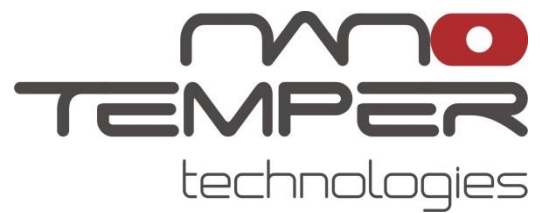
Organisé par :

EA3900 BIOPI, Biologie des Plantes et Innovation

UFR des Sciences, Université de Picardie



Les partenaires du Congrès du Réseau Français des Parois





Composition du Bureau :

Président :	Bernard KUREK (INRA, Reims)
Trésorier :	Simon HAWKINS (Université de Lille)
Membres du Bureau :	Fabienne GUILLON (INRA Nantes)
	Azeddine DRIOUICH (Université de Rouen)
	Jérôme PELLOUX (Université d'Amiens)

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

Présentation du Congrès RFP 2014

Le Réseau Français des Parois regroupe depuis plus de 20 ans un ensemble de chercheurs francophones européens s'intéressant aux « Parois Végétales ». Il réunit tous les 2-3 ans 80 à 120 chercheurs issus d'instituts de recherches publics (CNRS, INRA), d'Universités et de groupes industriels.

L'objectif

Ces réunions ont pour objectifs de favoriser les échanges interdisciplinaires et de permettre aux jeunes chercheurs thésards et post-docs de se faire connaître au sein de la communauté par la présentation de leurs travaux.

Les Journées

Après Rouen (2005), Bousens (2008) et Lille (2011), les Journées du Réseau Français des Parois se déroulent à Amiens du 7 au 9 Juillet 2014. Elles sont organisées par l'unité EA3900 BIOPI « Biologie des Plantes et Innovation » de l'Université de Picardie Jules Verne.



Organisation Des Sessions

1. Dynamique pariétale et développement
2. Impacts des contraintes biotiques et abiotiques sur la paroi
3. Biosynthèse et architecture de la paroi, propriétés et fonctions des parois
4. Utilisation de la paroi : Biomasse - Bioénergie – Matériaux – Aliments - Santé des présentations sous forme de communications orales et de posters seront réalisées.

Workshop

Un workshop dédié aux activités de recherche transfrontalières « transmanche » est organisé à la suite du colloque. Des intervenants de différentes structures de recherche au Royaume-Uni participent à ces rencontres.

Communications orales - Sessions posters

Prix du meilleur poster / Prix de la meilleure communication orale

Comité d'organisation :

Marie TRAULE
Véronique DULIN
Nora ZAID

EA3900 BIOPI, Biologie des Plantes
et Innovation

UFR des Sciences,
Université de Picardie

Programme du Congrès

UFR des Sciences, Université de Picardie

LUNDI 7 JUILLET 2014

11h: Accueil des participants à l'UFR des Sciences – mise en place des posters

12h: Buffet d'Accueil – Posters/Exposition « Portraits de chercheurs »

14h: Accueil par M. BRAZIER (Président de l'UPJV) M. BENLAHSEN (Directeur de l'UFR des Sciences), et B. KUREK (Président du RFP).

14h20: Philip HARRIS, University of Auckland
Cell walls of monocotyledons: not just of grasses and cereals

Session 1 : Dynamique pariétale et développement

Modérateurs : Arnaud Lehner (Univ. Rouen) et Grégory Mouille (IJPB INRA)

15h00-15h20: Fanny BUFFETTO, BIA, INRA Nantes
Production and fine characterization of new antibodies against rhamnogalacturonan I

15h20-15h40: Amélie TURBANT, EA3900 BIOPI, Université de Picardie
Implication of a PME gene in mucilage structuration of *Arabidopsis thaliana* seed

15h40-16h: Adélaïde JACQ, UMR5546 UPS/CNRS, LRSV, Toulouse
Role of LTP2, a Lipid Transfer Protein, in cuticle formation in *Arabidopsis thaliana*

16h-16h30: Pause-café – posters/ Exposition « Portraits de chercheurs »

16h30-16h50: Ludivine HOCQ, EA3900 BIOPI, Université de Picardie
Implication des pectines méthylestérases dans la croissance et régulation de leur activité par un inhibiteur chez *Arabidopsis thaliana*.

16h50-17h10: Marie BAUCHER, Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles
PtaRHE1, a *Populus tremula* x *P. alba* RING-H2 protein of ATL family, with a regulatory role in vascular system development

17h10-17h30: Marçal SOLER, UMR5546 UPS/CNRS LRSV Toulouse
EgMYB1 interacts with a histone linker to regulate secondary cell wall formation in xylem

17h30-17h50: Julien SECHET, IJPB, INRA Versailles
Cell wall trafficking : the example of xyloglucans deposition and remobilization during cell elongation

18h30 : Cocktail d'accueil au Logis du Roy

MARDI 8 JUILLET 2014

8h30: Accueil

Session 1 : Dynamique pariétale et développement

Modérateurs : V. Pacquit (UPS/CNRS Toulouse) et G. Neutelings (Univ. Lille)

8h40-9h: Kévin TOCQUARD, UMR 547 PIAF INRA Clermont-Ferrand
Caractérisation des WAKs (Wall associated Kinase) chez *Populus* et implication dans la réponse gravitropique

9h-9h20: Stéphane VERGER, IJPB, INRA Versailles
Implication of putative o-fucosyltransferases in the control of cell adhesion

9h20-9h40: Edith FRANCOZ, UMR5546 UPS/CNRS, LRSV, Toulouse
Remodeling the cell wall: peroxidases are required for correct mucilage release in *Arabidopsis* seed coat

9h40-10h: Przemyslaw OCIEPA, School of Biological Sciences, University of Southampton
Exploring the role of pectin modification during root development

10h00-10h40: *Pause-café - Posters/ Exposition « Portraits de chercheurs »*

Session 3 : Biosynthèse et architecture de la paroi, propriétés et fonctions des parois

Modérateurs : Annabelle Dejardin (INRA Orléans) et Anne-Laure Chategnier-Boutin (INRA Nantes)

10h40-11h: Estelle GOULAS, UMR INRA/USTL 1281, Université Lille1
Création d'un Atlas Protéomique des organes végétatifs du lin (*Linum usitatissimum* L.)

11h-11h20: Aline VOXEUR, IJPB, INRA Versailles
Decrease in RG-II dimerization induces modifications of the lignification events and severe development defects of lignified tissues in inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*.

11h20-11h40: Arash JAMALI, EA3900 BIOPI, Université de Picardie
Selective removal of carbohydrates by plasma: a potential tool to reveal the lignification pattern in cell walls

11h40-12h: Amra SECEROVIC, AGPF, INRA Orléans
 β -galactosidase: un rôle dans les couches G du bois de tension?

12h: *Buffet – Posters/ Exposition « Portraits de chercheurs »*

Session 3 : Biosynthèse et architecture de la paroi, propriétés et fonctions des parois

Modérateurs : Cécile Hervé (CNRS Roscoff) et Olivier Lerouxel (Univ. Grenoble)

14h00-14h20: Félix CICERON, CERMAV, Université Grenoble Alpes
Heterologous expression, purification and crystalisation of a Xyloglucan Fucosyltransferase (AtFUT1)

14h20-14h40: Marie DUMONT, Glyco-MEV EA4358, Université de Rouen
Fucosyltransferase inhibitor: a tool to study plant cell wall biosynthesis

14h40-15h: Maxime CHANTREAU, UMR INRA/USTL 1281, Université Lille 1
Vers une compréhension moléculaire de la nature hypolignifiée des fibres de lin

15h-15h20: Séverine HO-YUE-KUANG, BIA, INRA Nantes
Identification par TILLING et étude de mutants ponctuels de l'acide caféique O-méthyltransférase chez la plante modèle des graminées *Brachypodium distachyon*

15h20-16h00: *Pause-café - Posters/ Exposition « Portraits de chercheurs »*

16h00-16h20: Christophe HANO, LBLGC EA 1207, Université d'Orléans
Régulation de la biosynthèse des lignanes chez le lin cultivé

16h20-16h40: Mathilde FRANCIN-ALLAMI, BIA, INRA Nantes
Le protéome de la paroi des grains de *Brachypodium distachyon* : focus sur les protéines impliquées dans le remodelage des polysaccharides.

16h40-17h00: Emmanuelle DHEILLY, BIA, INRA Nantes
Evolution des propriétés mécaniques de la paroi lors de la maturation de la pomme

17h30: *Visite de la ville/Visite des Hortillonnages/Visite de la Cathédrale*

20h: *Repas de gala*

MERCREDI 9 JUILLET 2014

8h45: Accueil

Session 4 : Utilisation de la paroi : Biomasse - Bioénergie – Matériaux – Aliments – Santé

Modérateurs : Gabriel Paes (INRA Reims) et Stéphanie Baumberger (IJPB AgroParis Tech)

9h00-9h20: Nasir MEHMOOD, GEC, FRE-CNRS 3580, Université de Picardie
Bioéthanol 2G : Impact du prétraitement de la biomasse lignocellulosique par des liquides ioniques sur la saccharification enzymatique et la fermentation microbienne

9h20-9h40: Simon DOBOSZ, UMR 614 FARE, INRA Reims
Fibres de bois de tension de Peuplier comme renfort pour des Composites Bois/Thermoplastique

9h40-10h: Lise HULIN, GEC, FRE-CNRS 3580, Université de Picardie
Transesterification enzymatique de lignine Kraft en liquide ionique : écoconception d'un nouveau matériau macromoléculaire biosourcé

10h-10h20: Gabriel PAES, UMR 614 FARE, INRA Reims
Les F-techniques révèlent la progression de sondes fluorescentes dans les parois lignocellulosiques

10h20-10h40: Marie-Noëlle ROSSO, BCF, INRA Aix-Marseille
Diversité fonctionnelle des champignons filamenteux pour la déconstruction des parois végétales

10h40-11h: Mika SIPPONEN, School of Chemical Technology, Aalto University
Determining surface area of lignin in wheat straw by cationic dye adsorption

11h-11h30: *Pause-café - Posters/ Exposition « Portraits de chercheurs »*

11h30-11h45: Remise des prix « Pôle IAR » du meilleur poster et de la meilleure communication orale. Conclusion.

11h45 – 12h30: Assemblée générale du RFP

12h30 : *Buffet – Posters/ Exposition « Portraits de chercheurs »*

Workshop: Cell wall research on either side of the channel

14h00 - 14h10 : Welcome

14h10 - 14h30 : INTERREG V program. J. HERNANDEZ, Conseil Régional de Picardie

14h30 - 14h50 : J. PELLOUX, EA3900 BIOPI, Amiens, France

14h50 - 15h10 : P. LEROUGE, EA GlycoMEV, Rouen, France

15h10 - 15h30 : M. CZIZEK, UMR 8227, Roscoff, France

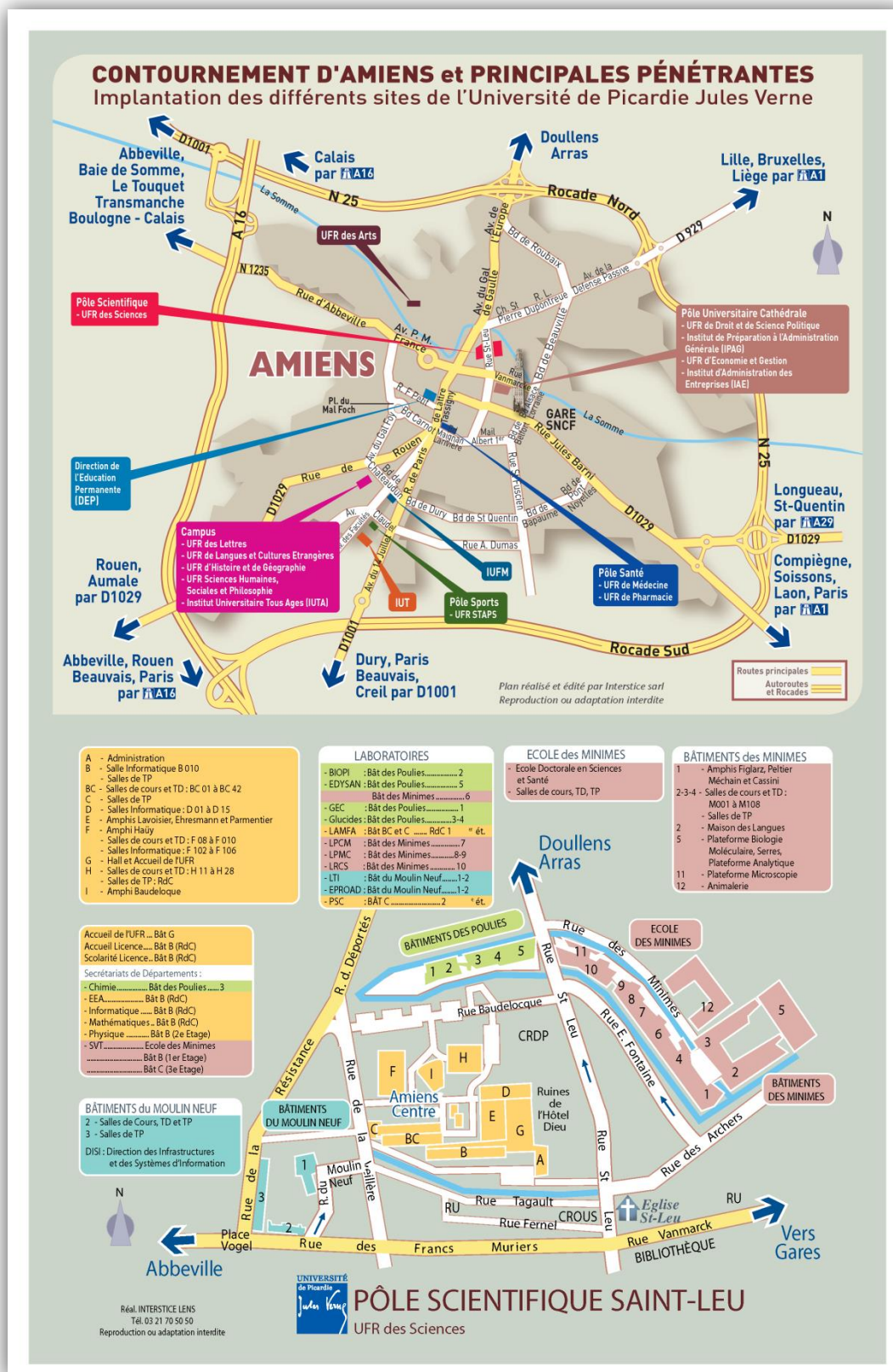
15h30 - 15h50 : S. HAWKINS, UMR8576, Lille, France

15h50 - 16h10 : Potential English partners

16h20-16h40: *Coffee*

16h40-18h00: Discussion

Plan du Camps & Pôle Scientifique



Résumés des communications orales



Cell walls of monocotyledons: not just of grasses and cereals

Philip J Harris

School of Biological Sciences

The University of Auckland

Private Bag 92019, Auckland

p.harris@auckland.ac.nz

The grasses and cereals (family Poaceae or Gramineae) are, of course, of enormous economic importance and the structures and compositions of their cell walls have been extensively investigated. However, the cell walls of other families of monocotyledons have received far less attention in spite of many, for example the palm family (Arecaceae), being widely exploited or having the potential to be exploited by man. These other monocotyledon families are often referred to simply as “non-graminaceous monocotyledons”, but the situation is more complex than this. Based on their cell-wall compositions and their molecular phylogenies, monocotyledons can be divided into the commelinid monocotyledons, which include the Poaceae and Arecaceae, and the non-commelinid or core monocotyledons. The compositions of the cell walls, particularly the primary cell walls, in the different families that make up these groups will be described and the possible evolution of these compositions will be discussed.

1. Dynamique pariétale et développement

Production and fine characterization of new antibodies against rhamnogalacturonan I

F. BUFFETTO^a & V. CORNUAULT^b, M. GRO RYDAHL^c, M.-J. CREPEAU^a, O. TRANQUET^a, W.G.T. WILLAT^c, P. KNOX^b, F. GUILLON^a, M.-C. RALET^a

^a INRA, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, 44300 Nantes, France ; ^b Centre for Plant Sciences, University of Leeds, Leeds LS2 9JT, United Kingdom ; ^c The Department of Molecular Biology, The University of Copenhagen, Ole Maaløes Vej 5, 2200 Copenhagen, Denmark.

The functional role of the complex rhamnogalacturonan I (RGI) in the context of cell biology is still unclear. The pectic RGI is mainly composed of a repeating disaccharide unit [\rightarrow 2)- α -L-rhamnosep-(1 \rightarrow 4)- α -D-galacturonic acidp-(1 \rightarrow)]_n (RU)_n decorated primarily with arabinan and (arabino)-galactan side-chains. Monoclonal Antibodies (mAbs) are useful to probe pectin structural domains *in situ*. Several mAbs to the RGI backbone¹ and to arabinan and (arabino)-galactan side-chains²⁻⁴ have been developed but up to now, only few antibodies are available against the various RGI side chains. Here, we report on fine characterization of the complex RGI side chains from potato⁵ and the generation of a new antibody, which recognizes pectin galactan rich hairy region.

RGI was extracted from potato (RGI galactan-rich) and was used for the preparation of RU oligosaccharides with reduced side chains. Mice immunisation was performed with RU oligosaccharides conjugated to ovalbumin for the generation of new mAbs. Promising clones producing mAbs were selected by ELISA using RU oligosaccharides. Subsequent characterization of these clones was achieved using a glycan microarray of cell wall polymers. One clone secreting monoclonal antibody was selected for further characterization. In order to confirm the glycan microarray results and to determine the structural features required for binding, competition inhibition ELISA using characterized oligosaccharide fractions isolated from the RU oligosaccharide pool was carried out. The selected clone recognized low branched RU oligosaccharides but reacted with neither unbranched RU oligosaccharides nor galactan oligosaccharides. Finally, the binding of antibody to plant cell walls was explored in *Arabidopsis* root and in sections of potato tuber tissue. Immunofluorescent labelling confirmed the epitope occurrence in potato tuber tissue. The labelling was intensified by pre-treatment of sections with an endogalactanase. In *Arabidopsis* root, the epitope was restricted to the elongation zone. A more detailed comparative analysis of the distribution of the new antibody, INRA RU1 and LM5 epitopes is expected to give a better understanding of the regulation pattern of RGI occurrence in plant tissues.

-
- [1] M.C. Ralet et al. (2010) *Planta*, **231** 1373-1383
 - [2] L. Jones et al. (1997) *Plant Physiol.* **113** 1405-1412
 - [3] W.G.T. Willats et al. (1998) *Carbohydr Res.* **308** 149-152
 - [4] Y. Verhertbruggen et al. (2009) *Plant J.* **59** 413-425
 - [5] J. Øbro et al. (2004) *Phytochem.* **65** 1429-1438

Implication of a PME gene in mucilage structuration of *Arabidopsis thaliana* seed

TURBANT A.^a, BOUTON S.^a, FOURNET F.^a, LEQUART M.^a, PAGEAU K.^a, PAU ROBLLOT C.^a, ZABIJAK L.^b, MARCELO P.^b, PELLOUX J.^a, VAN WUYTSWINKEL O.^a

^a EA3900 BIOPI, Biologie des Plantes et Innovation, UFR des Sciences - UPJV, 33 rue Saint Leu, 80039 Amiens, France, ^b Plateforme ICAP, Ingénierie Cellulaire et Analyses des Protéines, Pôle Santé - UPJV, 1-3 rue des Louvels, 80036 Amiens, France

The cell wall surrounding plant cells is largely composed of polysaccharides, in particular cellulose microfibrils and hemicellulose muddled in a pectic matrix [1]. Among pectins components, homogalacturonans (HGs) are the most abundant. HGs are deposited in the cell wall as a highly methylesterified form, which can be the target of cell wall enzymes such as pectin methylesterases (PMEs) [2]. PMEs activity controls HGs demethylesterification leading to structural modifications involved in several developmental processes such as cell elongation or root initiation [3]. The objective of this work is to study the influence of PMEs activity and of their specific inhibitors, PMEIs, on seed development. Indeed, according to bio-computing data, *PME* and *PMEI* genes are specifically expressed during *Arabidopsis* seed formation. Among several genes expressed in the seed coat, we focused on *PME 58*. qRT-PCR and promoter/reporter fusion constructs (GFP and GUS) showed that *PME 58* is expressed specifically in seed coat cells producing mucilage. In order to characterize its biological function, two knock-out mutants were obtained. Their phenotypic study using immunodetection and mucilage chemical analysis indicates a role of *PME 58* in the structuration of the mucilage adherent layer.

[1] D.J. Cosgrove (2001) *Plant Physiol.*, **125**, 131-134.

[2] W.G. Willats *et al.* (2006) *Trends Food Sci Tech.*, **17**, 97-104.

[3] J. Pelloux *et al.* (2007) *Trends Plant Sci.*, **12**, 267-277.

Role of LTP2, a Lipid Transfer Protein, in cuticle formation in *Arabidopsis thaliana*

JACO Adélaïde, JAMET Elisabeth, BURLAT Vincent and PACQUIT Valérie

Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV), UMR5546 UPS/CNRS

31326 Castanet-Tolosan, France

The cuticle constitutes the first physical barrier of aerial organs and plays multiples roles including the prevention of non-stomatal water loss and the defense against biotic and abiotic stresses [1]. The cuticle is a hydrophobic layer that covers the outer periclinal wall of epidermal cells of aerial organs of land plants. The major components of the cuticle are cutin either combined or covered by waxes [1]. While the intracellular biosynthesis of cutin and waxes is well documented, the mechanisms underlying their extracellular assembly and deposition beyond the plasma membrane and across the cell wall and particularly, how hydrophobic cuticle precursors are transported across the hydrophilic environment of the polysaccharidic cell wall to the cuticle, remain unknown. Lipid transfer proteins (LTPs) have been hypothesized to play a role in cuticle formation given the presence of a hydrophobic pocket in their 3D structure [1, 2]. LTP2, the unique abundant LTP member found within the *Arabidopsis thaliana* etiolated hypocotyls cell wall proteome (among 79 members in *A. thaliana*) [3], was shown to have a gene expression restricted to epidermal cells of aerial organs (our unpublished data). Furthermore, hypocotyls of young seedlings of *A. thaliana* are characterized by a thick cuticle when growing in the dark [4]. Taken all together, these data suggest that *A. thaliana* etiolated seedlings could be an interesting model to study the cuticle formation and that LTP2 could play a major role in the assembly of the cuticle in *A. thaliana* etiolated seedlings. To precise the functional role(s) of LTP2, several complementary approaches have been carried on. We have shown (i) that *ltp2* mutants show an altered and disorganized cuticle and modifications in cuticle permeability / lipophilic staining (ii) that LTP2 has a dual localization, both in cell wall as expected but also and more surprisingly in plastids. Besides we found that the signal peptide (SP) of LTP2 is necessary and sufficient for targeting LTP2 to the cell wall and that LTP2, without its SP, still contains a signal able to target LTP2 to the plastids suggesting a mechanism of dual targeting not yet described in the literature. Our results showed the first phenotypes observed in *ltp2* young etiolated seedlings and supported the putative role of LTP2 in cuticle formation. They also give new tracks for further LTP2 and other LTPs functional studies.

[1] Samuels et al (2008) *Annu Rev. Plant Biol.* **59**: 683-707;

[2] Yeats and Rose (2013) *Plant Physiol.* **163**: 5-20;

[3] Irshad et al. (2008) *BMC Plant Biol.* **8**: 94;

[4] Gendreau et al. (1997) *Plant Physiol.* **114**: 295-305

Implication des pectines méthylesterases dans la croissance et régulation de leur activité par un inhibiteur chez *Arabidopsis Thaliana*.

Ludivine HOCQ^a, Fabien SENECHAL^a, François GUERINEAU^a, Hervé DEMAILLY^b, Alain MARECK^c, Paulo MARCELO^d, Laurent GUTIERREZ^b, Alan MARCHANT^c, Patrice LEROUGE^c, Valérie LEFEBVRE^a, Jérôme PELLOUX^a

^a EA3900-BIOPI, UPJV, 33 Rue St Leu, F-80039 Amiens, France ; ^b CRRBM, UPJV, 33 Rue St Leu, F-80039 Amiens ; ^c EA4358-Glyco-MEV, IFRMP 23, Université de Rouen, F-76821 Mont-Saint-Aignan, France ; ^d ICAP, UPJV, 1-3 Rue des Louvels, F-80037 Amiens, France ; ^e University of Southampton, England.

La paroi des végétaux est une structure complexe, connue pour contrôler la croissance cellulaire et ainsi le développement des organes. Les pectines, qui constituent jusqu'à 35% de la paroi, sont composées essentiellement d' homogalacturonanes (HG), chaînes d'acides galacturoniques reliés entre eux par une liaison (β 1-4), et dont certains groupements peuvent être méthylestérifiés en position C6 [1]. Le degré de méthylation (DM) de ces HG est finement régulé par l'action conjointe des pectine méthylesterases (PME) et de leurs régulateurs négatifs, les PME1. Afin de comprendre le rôle de ces PME dans la croissance et leur régulation par leurs inhibiteurs chez *Arabidopsis thaliana*, deux gènes, *PME2* et *PME18*, exprimés tous deux dans la racine et l'hypocotyle, ont été choisis. Une approche de génomique fonctionnelle entreprise pour l'étude de *PME2* a permis de montrer une diminution d'activité PME totale chez deux lignées knock out, associée à une absence de la protéine dans des extraits protéiques pariétaux. Ces changements s'accompagnent de modifications phénotypiques tant au niveau de l'hypocotyle qu'au niveau racinaire.

D'autre part, la production de *PME18* en système hétérologue (via *Escherichia coli*) a permis de montrer le pouvoir inhibiteur de la protéine synthétisée. Les analyses montrent qu'il est capable d'inhiber la quasi-totalité des PME d'*Arabidopsis*, mais également des PME issues d'autres espèces végétales. Il est en revanche inefficace contre des PME de pathogènes. Des résultats préliminaires suggèrent également son implication dans le développement de la racine et de l'hypocotyle.

Les rôles de *PME2* et de ce *PME1* seront discutés.

[1] S. Wolf *et al.* (2009) *Molecular Plant*, Volume 2, Number 5, 851–860

PtaRHE1, a *Populus tremula* x *P. alba* RING-H2 protein of ATL family, with a regulatory role in vascular system development

Fabien BALDACCI-CRESP^a, Jihad MOUSSAWI^a, Jean-Charles LEPLE^b, Rebecca VAN ACKER^{c,d}, Laure TWYFFELS^e, Antanas V. SPOKEVICIUS^f, Gerd BOSSINGER^f, Françoise LAURANS^b, Nicole BRUNEL^{g,h}, Marjorie VERMEERSCH^{e,i}, Wout BOERJAN^{c,d}, David Pérez-MORAGA^{e,i}, Mondher EL JAZIRI^a and Marie BAUCHER^a.

^aLaboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles (ULB), Belgium; ^bINRA Orléans, Amélioration Génétique et Physiologie Forestières (UR0588); ^cPlant Systems Biology, VIB, Belgium; ^dPlant Biotechnology and Bioinformatics, Ghent University, Belgium; ^eCenter for Microscopy and Molecular Imaging, ULB, Belgium; ^fForest and Ecosystem Science, University of Melbourne, Australia; ^gUniversité Blaise Pascal, UMR A547 PIAF Clermont-Ferrand; ^hINRA, UMR A547 PIAF, Clermont-Ferrand; ⁱLaboratoire de Parasitologie Moléculaire IBMM-ULB, Belgium.

RING (REALLY INTERESTING NEW GENE) proteins with E3 ligase activity are largely represented in plants and have been shown to play important roles in the regulation of many biological processes by recognizing target proteins for ubiquitination [1]. *PtaRHE1*, encoding a poplar RING-H2 domain-containing protein with E3 ligase activity, has been previously identified in a screen for genes differentially expressed along stems undergoing secondary growth [2]. An *in vitro* ubiquitination assay revealed a functional E3 ligase activity for recombinant PtaRHE1 with human UbcH5a as E2 UBC [3]. By GUS histochemical staining, ISSA analysis, *in situ* hybridization and immunolocalisation, PtaRHE1 and its corresponding protein were found to be expressed predominantly within stem vascular tissues. When compared to wild type plants, down-regulation of *PtaRHE1* in poplar by artificial miRNA resulted in alteration in secondary phloem fiber morphology, including increased fiber density and thinner fiber cell walls, and in the quality of lignin by producing lower amounts of syringyl units within bark. *PtaRHE1* overexpression in poplar resulted in pleiotropic features such as curling of leaves and inhibition of root system development. A regulatory role for the E3 ligase PtaRHE1 in fiber formation and/or maturation during secondary vascular development is discussed.

[1] R.J. Deshaies & C.A.P. Joazeiro (2009) *Annu. Rev. Biochem.*, **78**, 399-434.

[2] D. van Raemdonck et al. (2005) *J. Exp. Bot.*, **56**, 2211-2227.

[3] J. Mukoko Bopopi et al. (2010) *J. Exp. Bot.*, **61**, 297-310.

EgMYB1 interacts with a histone linker to regulate secondary cell wall formation in xylem

Marçal SOLER^a, Anna PLASENCIA^a, Isabelle TRUCHET^a, Cécile POUZET^b, Alain JAUNEAU^b, Ludivine SOUBIGOU-TACONNAT^c, Jacqueline GRIMA-PETTENATI^a

^a Laboratoire de Recherche en Sciences Végétaux (LRSV), UMR 5546 UPS/CNRS, BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France; ^b Fédération de Recherche "Agrobiosciences, Interactions et Biodiversité", BP 42617, 31326 Castanet-Tolosan, France ^c Plateforme Transcriptome, Unité de Recherche en Génomique Végétale (URGV), 91057 Evry, France.

Eucalyptus species grow very fast and produce high yields of biomass, representing the main wood industrial plantations in the world. *E. grandis* is also the second forest tree whose genome has been sequenced (Myburg *et al.*, 2014). To improve wood properties related to pulping or bioethanol production, we are focusing our efforts towards the identification of genes regulating the biosynthesis of secondary cell wall (SCW) polymers in *Eucalyptus*. Many genes thought to act in a transcriptional hierarchical network to regulate SCW formation have been studied these last years, mostly in *Arabidopsis* (reviewed in Zhang *et al.*, 2014). However, very little is known about the protein-protein interactions that regulate the activity of the transcription factors involved in this network. Our team has shown that *EgMYB1*, a R2R2 MYB transcription factor, was able to repress the lignin biosynthesis and SCW formation (Legay *et al.*, 2010). Aiming at understanding how this transcription factor activity is regulated, we decided to seek for its potential protein partners. By screening a yeast-two-hybrid library that we constructed using *Eucalyptus* xylem RNA, we found several candidate partners, among them a histone linker. We validated the interaction between *EgMYB1* and the histone linker *in planta* using FRET-FLIM assay. To underscore the biological role of that interaction, we constructed *Arabidopsis* transgenic lines, either over-expressing *EgMYB1* alone, histone linker alone, or the both proteins together. Histological analyses of these plants showed a dramatic reduction of SCW thickness and lignin levels in histone linker-*EgMYB1* plants, much stronger than in *EgMYB1* plants alone. Finally, we performed a microarray comparing RNA from the stem base of these plants, which allowed us to identify target genes modulated by this interaction.

[1] A. Myburg *et al.* (2014) *Nature*, in publication.

[1] J. Zhang *et al.* (2014) *Curr Opin Plant Biol.*, **17**, 56-63.

[2] S. Legay *et al.* (2010) *New Phytol.*, **188**, 774-86.

Cell wall trafficking : the example of xyloglucans deposition and remobilization during cell elongation

Julien SECHET, Adeline BERGER, Helen NORTH, Annie Marion-POLL and Gregory MOUILLE
Institut Jean-Pierre Bourgin (UMR 1318 INRA–AgroParisTech), Institut National de la Recherche Agronomique, Saclay Plant Science, Versailles, France

Little is known about hemicelluloses trafficking to and from the cell wall. Actually xyloglucans (XyG), the major hemicellulose in Arabidopsis, are synthesized in the Golgi apparatus and deposited in the cell wall where their maturation can occur via the removal of XyG side chains. A recent study of the team focused on the implication of XyG in seed dormancy and germination. Indeed, a mutant in XyG maturation process has been isolated in the team. It displays germination phenotypes indicating that XyG maturation plays an active role in seed germination mechanisms, through the control of seed coat weakening and embryo growth. Furthermore XyG are essential to control cell wall properties such as elasticity and rigidity, thus it can explain their control of seed germination quality.

As the precise role of xyloglucan maturation in seed properties has not been investigated, xyloglucan tissue-specific distribution has been analyzed during seed development and germination. This study led to the identification of important movements in cellular distribution of XyG during these processes. Moreover, mutants of enzymes implicated in removal of XyG side chains become useful tools to understand the deposition and remobilization of these compounds. Indeed, lack of their activities induces oligosaccharides release in imbibition medium during seed germination and hypocotyl growth in the dark. This indicates that various mechanisms are induced during cell growth to control XyG deposition and remobilization and that hydrolases activities control XyG stability in cell wall.

These mutants are currently used to further characterize XyG trafficking to and from the cell wall, and this study will bring new insights in cell wall intracellular traffic.

Caractérisation des WAKs (Wall associated Kinase) chez *Populus* et implication dans la réponse gravitropique

TOCQUARD Kévin^{a,b}, ROECKEL-DREVET Patricia^{a,b}, JULIEN Jean-Louis^{a,b}, VENISSE Jean-Stéphane^{a,b}

^aClermont Université, Université Blaise Pascal, UMR 547 PIAF, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand ;

^bINRA, UMR 547 PIAF, F-63100 Clermont-Ferrand

Les interactions entre la paroi cellulaire, la membrane plasmique et le cytoplasme sont primordiales pour le bon fonctionnement cellulaire. Différentes molécules assurent la communication au niveau de ce continuum, dont les récepteurs kinases. Parmi ces récepteurs, les protéines WAKs (Wall-Associated Kinases) peuvent être liées de façon covalente aux pectines de la paroi. Chez les espèces ligneuses, les WAKs joueraient un rôle décisif lors de la croissance et du développement de l'arbre. Une des principales caractéristiques des arbres est leur pérennité et la production de bois *via* le méristème secondaire. Cela implique des réponses de croissance à long-terme dans des conditions environnementales fluctuantes. Nous avons tout d'abord réalisé une analyse *in silico* des WAKs chez *Populus trichocarpa* qui a révélé 175 membres réunis majoritairement en clusters génomiques. C'est la plus grande famille multigénique WAK décrite jusqu'à présent. Nous avons mis en évidence l'existence de nouveaux domaines nommés GubWAK, WAK et WAKassoc. Associés aux domaines déjà connus (EGF et kinase), ils ont permis de classer les WAKs en 119 PtWAK-RLK (Receptor-Like Kinase), 32 PtWAK-RCLK (Receptor-Like Cytoplasmic Kinase), 22 PtWAK-RLP (Receptor-Like Protein) et 2 PtWAK-gènes courts. Ensuite, nous avons analysé l'expression des WAKs chez *Populus tremula x alba* notre matériel d'étude expérimentale suite à un stimulus gravitropique. L'expression différentielle de certaines WAKs suggère leur implication dans la réponse précoce à un stimulus gravitropique, qui entraîne de profondes modifications du processus de maturation des parois de cellules du bois. Ces modifications microstructurales des parois génèrent une contrainte périphérique asymétrique qui permet le redressement de l'arbre.

Remodeling the cell wall : peroxidases are required for correct mucilage release in Arabidopsis seed coat

FRANCOZ E.^a, RANOCHA P.^a, MARTINEZ Y.^b, LE RU A.^b, BURLAT V.^a, DUNAND C.^a
^aLRSV, UMR5546 UPS/CNRS, 31326 Castanet-Tolosan, France; ^bFR AIB 3450 31326 Castanet-Tolosan, France

Class III Peroxidases (Prx) predicted as secreted are largely detected in various cell wall proteomes [1,2,3]. Even though their function is not clearly defined, their involvement in the development and remodeling of the plant cell walls (loosening, crosslinking and lignification) is well reviewed [3,4]. However, it remains difficult to assign any precise *in vivo* function to Prx. Thus, the *in vivo* spatiotemporal co-localization of a “cell-wall substrate” and particular Prx is believed to confer the specificity of the reaction [3,4]. Only a few recent papers illustrate the importance of the precise *in muro* localization of some CIII Prxs with the observation of clear (micro)-phenotypes in mutants [3, 5]. A preliminary *in situ* RNA Hybridization (ISH) study of 22 of the 73 members of this multigenic family was realized to assess the expression pattern in various *A. thaliana* embryogenic developmental stages. It already confirms and complements (micro-) transcriptomic data [6] by refining gene expression pattern to specific cells. One candidate showed an interesting expression profile within mucilage secretory cells (MSC), a well-described model of plant cell wall research [7]. During seed development, a burst of pectinaceous mucilage synthesis occurred in these specialized cells, accompanied by the neosynthesis of a secondary wall inside the cell, the columella. During imbibition, the outer tangential primary wall is broken at particular points, leading to mucilage extrusion. Our candidate (Prx 36) may be involved in this degradation by remodeling the primary wall. Prx36 KO mutant shows delayed mucilage extrusion phenotype associated with a peeling of the primary wall, but SEM imaging revealed no visible structural differences compared with wild-type seed coat. Recently, Prx36 subcellular localization (promAtPrx36::AtPrx36-GFP) was published and shows a highly polarized localization within the MCS primary cell-wall [7], which is consistent with our hypothesis. Moreover, CIII are members of large multigenic family with putative similar enzymatic activity and 3 other unpublished Prx seem to be coexpressed with Prx36 within the MSC and 2 of them show a mucilage extrusion phenotype. Further investigations are engaged including ; ultrastructural localization of the other Prx candidates and double and triple mutants phenotyping ; to evaluate possible additional effect in multiple mutants and looking for cell wall targets of these Prx to decipher the functional role of these Prx in the remodeling of MSC wall.

-
- [1] Y. Zhang et al. (2011) *Phytochemistry.*, **72**, 1109-1123
 - [2] M. Irshad et al. (2008) *BMC Plant Biol.*, **8**, 94
 - [3] E. Francoz et al. *Phytochem.*, under revisions
 - [4] F. Passardi et al. (2004) *Trends Plant Sci.*, **9**, 534-540
 - [5] Y. Lee et al. (2013) *Cell.*, **153**, 402-412
 - [6] BH. Le et al. (2010) *PNAS.*, **107**, 8063-8070
 - [7] GW. Haughn and TL. Western. (2012) *Front. Plant Sci.*, **3**, 64-64
 - [8] Kunieda et al. (2013) *Plant Cell.*, **20**, 2631-2642

Implication of putative o-fucosyltransferases in the control of cell adhesion

VERGER S^a, CHABOUT S^a, and MOUILLE G^a

^a Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Centre de Versailles-Grignon, UMR 1318 INRA-AgroParisTech, route de Saint Cyr (RD10), 78026 Versailles cedex, France
e-mail: stephane.verger@versailles.inra.fr

Our group has identified and characterized two mutants, *quasimodo1* and *quasimodo2*, displaying cell adhesion defects, a high sensitivity to carbon/nitrogen imbalance, and a 50% decrease in Homogalacturonans (HG) content.

HG is the most abundant form of pectin, and is known to play a crucial role in cell adhesion as well as cell wall mechanical strength, cell wall hydricity, coordination of growth, development, and defence against pathogens. QUASIMODO1 and 2 were characterized as HG synthesizing enzymes.

In a suppressor screen of the *quasimodo* mutants, we have identified ESMERALDA1, a putative o-fucosyltransferase likely implicated in pectin perception. Additionally *friable1* another o-fucosyltransferase mutant showing cell adhesion defects and sucrose sensitivity similarly to the *quasimodo* mutants, is also suppressed by *esmeralda1*, and *quasimodo2.1/friable1.2* double mutant does not show an additional phenotype compared to either single mutants, providing a genetic evidence that *quasimodo1* and 2, *friable1* and *esmeralda1* are affected in a similar pathway controlling cell adhesion.

Here I will present a detailed characterisation of these genes, the potential substrates of ESMERALDA1 and FRIABLE1, evidences for their implication in pectin perception and signalling, and discuss the role of these new players in the control of cell adhesion.

Exploring the role of pectin modification during root development.

PRZEMYSŁAW Ociepa^a and MARCHANT Alan^a

^a Centre for Biological Sciences, University of Southampton, UK

There are 4 major forms of pectin in plants, namely homogalacturonan (HG), rhamnogalacturonan I (RGI), rhamnogalacturonan II (RGII) and xylogalacturonan (XGA). The HG is deposited in the cell wall in a highly methylesterified state and can subsequently be deesterified via the action of pectin methylesterase enzymes (PMEs). In turn PME activity can be modulated via the action of PME inhibitor proteins (PMEis). The methylesterification status of HG is key in determining the level of crosslinking via calcium as well as the breakdown of the pectin via the action of polygalacturonases and pectate lyases and hence influences cell wall rigidity. Polyphenon-60 (PP60) is a mix of polyphenolic compounds known as catechins isolated from green tea that act in a similar way to the PMEis. PP60 has been used in this study to investigate the role of PMEs and PMEis in root development. The addition of PP60 to the growing media caused inhibition of primary root elongation, lateral roots and root hairs number and density. The activity of cell wall modifying enzymes and PMEs change under different pH conditions. Increasing the pH of the growing media containing PP60 to 8 rescued the primary root phenotype but had a more severe effect on the number and density of lateral roots and root hairs. Border-like cells found at the root tip contain a high amount of homogalacturonan. Addition of PP60 caused the border cells to be clustered together when grown under slightly acidic conditions. At pH 8 the border cells were adhered to each other and were surrounded by a vast amount of secreted mucilage. Together, these results suggest that the effects of PP60 are pH dependent. Further experiments are being undertaken to understand the mode of action of PP60 and the role of PME and PMEi activity during root development.

3. Biosynthèse et architecture de la paroi, propriétés et fonctions des parois

Création d'un Atlas Protéomique des organes végétatifs du lin (*Linum usitatissimum* L.)

GOULAS^a E., CHABI^a M., DAY^a A., LECLERCQ^b C., LUCAU^a A., BLERVACQ^a A.S., RENAUT^b J., HAWKINS^a S.

^a Université Lille 1, UMR 1281 Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés, équipe Fibres Végétales, France ; ^b Centre de recherche publique Gabriel Lippmann, Luxembourg

Le lin est l'une des plus anciennes plantes cultivées par l'homme. Elle est très utilisée pour ses graines oléagineuses riches en acides gras insaturés par les industries alimentaires et cosmétiques, mais également pour ses fibres périploëmiennes avec des parois secondaires riches en cellulose par les industries textiles et dans certains matériaux innovants [1]. Notre participation au séquençage récent du génome [2], au développement d'approches de transcriptomique globale [3] ainsi qu'à la production de populations de mutants chimiques pour des approches fonctionnelles [4], ont permis de faire avancer significativement les connaissances de la biologie de cette espèce et plus particulièrement du métabolisme pariétal. Dans la continuité de ces stratégies, il nous est apparu indispensable de prendre en compte également les modifications post-transcriptionnelles. Ainsi, nous continuons à développer une approche protéomique préalablement initiée sur des tiges entières [5] à partir de plantes de lin (variété Diane) cultivées 70 jours en hydroponie. Les 3 organes végétatifs de la plante ont été récoltés séparément: racines, feuilles et tiges. Chez ces dernières, les tissus internes ont été séparés des tissus externes, nous permettant ainsi de disposer de 4 « organes » distincts. Sur chacun d'entre eux, trois protocoles d'extraction différents ont été appliqués afin d'obtenir trois fractions (« compartiments ») enrichies en i) protéines solubles, ii) protéines pariétales, iii) protéines membranaires, analysées ensuite par LCMS/MS. Ainsi, 2761 protéines ont pu être identifiées et classées dans différents groupes fonctionnels. Ces données nous permettent de proposer un Atlas Protéomique des organes végétatifs du lin, présentant une image précise de la distribution des protéines par « organes » et par « compartiments ». De plus, l'étude phylogénique de protéines d'intérêt en cours de réalisation via la méthode *maximum de vraisemblance* nous permettra de contribuer à mieux comprendre l'évolution du génome du lin via la comparaison avec 12 autres espèces.

[1] Baley (2002). Analysis of the flax fibres tensile behavior and analysis of the tensile stiffness increase. *Comp. Part A: Appl Sci Manuf.* 33 (7): 939-948.

[2] Wang *et al.* (2012) The Genome of Flax (*Linum Usitatissimum*) Assembled *De Novo* from Short Shotgun Sequence Reads. *Plant Journal.* 72(3):461-73

[3] Fenart *et al.* (2010). Development and validation of a flax (*Linum usitatissimum* L.) gene expression oligo microarray. *BMC Gen.* 11: 592

[4] Chantreau *et al.* (2013) PT-Flax (phenotyping and TILLinG of flax): development of a flax (*Linum usitatissimum* L.) mutant population and TILLinG platform for forward and reverse genetics. *BMC Plant Biol.* 13:159

[5] Day *et al.* (2012) Identification of Cell Wall Proteins in the Flax (*Linum Usitatissimum*) Stem. *Proteomics.* 13(5):812-25

Decrease in RG-II dimerization induces modifications of the lignification events and severe development defects of lignified tissues in inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*.

Aline VOXEUR, Mylène DURAND-TARDIF, Catherine LAPIERRE, Richard SIBOUT

Institut Jean-Pierre Bourgin, UMRI1318 INRA-AgroParisTech, INRA Centre de Versailles-Grignon, Route de St-Cyr (RD10) 78026 Versailles Cedex France

In specific cells such as xylem vessels and fibers, the cell elongation is followed by an important lignification of the middle lamella (ML) mainly composed of pectins to form, with the primary cell wall, the compound middle lamella (CML). Then, the secondary cell walls rich in cellulose, hemicelluloses and lignins are deposited resulting in mechanical reinforcement of the cell wall structure. In order to have a better understanding on how the lignin is deposited in the ML and how it influences the secondary cell wall formation and the organization of lignified tissues, we investigated the effect of pectin defects in *Arabidopsis thaliana* inflorescence stems.

Using pectin mutants defective in rhamnogalacturonan-II (RG-II) dimerization and in homogalacturonan (HG) biosynthesis, we first performed histological studies on cross sections of mutants inflorescence stems. We observed that a defect in RG-II dimerization induced an early lignification, irregular xylem formation, misregulated secondary growth and fissures of the ML in the sclerenchyma ring. Moreover, biochemical studies revealed that a decrease of the RG-II dimerization rate induced lignin composition modifications in the inflorescence stems and a higher pyrolysability of hexose containing-polysaccharides of the secondary cell wall.

We conclude that a decrease in RG-II dimer rate induce a decrease of cell adhesion between lignified cells triggering severe formation defects of lignified tissues and biochemical modifications of the lignins. These results suggest a structural role of RG-II dimers in cell adhesion of lignified tissues in addition to a role in signalisation of lignification events.

Selective removal of carbohydrates by plasma: a potential tool to reveal the lignification pattern in cell walls

Arash JAMALI^a and Philip EVANS^b

^a *Laboratoire de Phytotechnologie et Pharmacognosie EA 3900, University of Picardie Jules Verne, 80037 Amiens cedex 1, France;* ^b *Centre for Advanced Wood Processing, University of British Columbia, 2900-2424 Main Mall, Vancouver, BC V6T 1Z4, Canada*

Cold plasma processes are dry procedures that can effectively modify the surface of materials including wood [1]. This research tests the hypothesis that plasma will cause differential etching of wood cell walls because of variation in the susceptibility of aromatic and aliphatic polymers to degradation by plasma. Wood was exposed to glow discharge plasma, and scanning electron microscopy and chromatic confocal profilometry were used to examine morphological changes in cell walls. Wet chemical analysis, FTIR and XPS were employed to analyze the chemical changes at treated wood surfaces.

Plasma etched cell walls, but the middle lamella and tertiary wall layers were more resistant to etching than the secondary wall. Voids were created in cell walls by the etching of bordered and half-bordered pits. We quantified the erosion of cell walls and cellulose and lignin models using confocal profilometry, and found that there is a strong relationship between applied plasma energy and etching of cell walls and their polymeric constituents. Plasma oxidized the cell walls and preferentially degraded carbohydrates. Lignin was more resistant to plasma etching than cellulose and hemicelluloses.

Plasma etching therefore, could be used as a tool to reveal the lignification pattern of cell walls at the subcellular level.

[1] F.S. Denes and S. Manolache (2004) *Progress in Polymer science*, **29(8)**, 815-885.

β -Galactosidase : un rôle dans les couches G du bois de tension ?

A ŠECEROVIC, F GUEDES, MC LESAGE-DESCAUSES, N MILLET, V LAINE-PRADE, F LAURANS, JC LEPLÉ, A DEJARDIN, G PILATE
amra.secerovic@orleans.inra.fr

INRA, UR588, Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières, CS 40001 Ardon, 45075 Orléans Cedex 2, France.

Les arbres angiospermes sont capables d'orienter ou de réorienter leurs axes grâce à la formation d'un bois particulier, le bois de tension, présentant de très fortes contraintes de maturation, et qui se caractérise, chez le peuplier, par la mise en place dans la paroi secondaire des fibres, d'une couche surnuméraire, la couche G. Cette couche est très riche en microfibrilles de cellulose (MFC) orientées parallèlement à l'axe de la fibre. Il a été récemment montré que les fortes contraintes du bois de tension sont supportées par les MFC de cette couche [2], mais il reste à déterminer quel(s) acteur(s) moléculaire(s) est/sont responsable(s) de leur mise en tension. Récemment, la présence d'un gel de très grande porosité a été mise en évidence dans la couche G [1] tandis que des expériences en immunolocalisation ont détecté des pectines de type RGI dans cette même couche [3]. La comparaison des marquages obtenus avec des anticorps soit spécifiques du squelette RGI, soit spécifiques des chaînes latérales en β 1-4 galactane, suggère que ces chaînes latérales sont hydrolysées au cours de la maturation de la couche G, comme ce qui est observé dans les fibres périphloémiennes de lin [5], des fibres très similaires aux fibres G du bois de tension. Ainsi, notre hypothèse est que les RGI hydrolysés par une galactosidase formeraient le gel observé et que ce gel est à l'origine de la mise en tension des MFC. Dans cette perspective, nous nous sommes intéressés à déterminer le niveau d'expression de l'ensemble des 23 gènes β -GAL présents sur le génome de *Populus trichocarpa*, dans le bois de tension et le bois opposé de peuplier (*Populus tremula* x *Populus alba*). Seul le gène β -GAL 7 montre une expression spécifique dans le bois de tension chez tous les individus évalués; de façon intéressante, la séquence de β -GAL 7 est l'orthologue de la β -GAL (*Lu β -GAL40*) identifiée dans les fibres de lin. Cette analyse d'expression est actuellement complétée par une étude plus large sur le niveau d'expression des 23 β -GAL dans différents tissus de peupliers (bourgeon apical, feuilles, racines, graines notamment). De même, nous avons introduit une partie spécifique de la séquence de β -GAL 7 dans le vecteur pHellsgate8 [4] afin de créer des peupliers transgéniques sous-exprimant cette β -GAL 7 par stratégie RNAi et de les évaluer finement pour leur capacité à fabriquer un bois de tension efficace.

[1] B. Clair *et al.* (2008) *Biomacromolecules*, **9**, 494-498.

[2] B. Clair *et al.* (2011) *Plant Physiol.*, **155**, 562-570.

[3] F. Guedes *et al.* (2014) submitted

[4] C. Helliwell *et al.* (2002) *Funct. Plant Biol.*, **29**, 1217-1225.

[5] M. Roach *et al.* (2011) *Plant Physiol.*, **156**, 1351-1363.

Heterologous expression, purification and crystallisation of a Xyloglucan Fucosyltransferase (AtFUT1)

Félix CICÉRON^a, Valérie CHAZALET^a, Christelle BRETON^a, Olivier LEROUXEL^a

^a*Univ. Grenoble Alpes, CERMAV, F-38000 Grenoble, France*

CNRS, CERMAV, F-38000 Grenoble, France

Glycosyltransferases (GTs) are a ubiquitous class of enzymes that link a monosaccharide onto an acceptor. This acceptor can be a lipid, a protein, a saccharide, etc. Among the variety of molecules synthesized by GTs are the cellulose, hemicelluloses and pectins, three components of the plant cell wall. To date, cellulose synthase have been intensively studied and the structure of a bacterial active complex has recently been solved at 3.5Å resolution[1]. In contrast, less is known about GTs synthesizing hemicellulose and pectins. Although genes coding GTs involved in hemicellulose or pectin biosynthesis has been identified, many of the corresponding GTs still needs to be characterized at the biochemical level. Consequently, no structure of plant GT involved in cell wall biosynthesis has been solved so far, despite numerous efforts [2,3]. Xyloglucan is a major hemicellulose in dicotyledonous plant, so we sought to characterize a fucosyltransferase (named ATFUT1) involved in its biosynthesis[4]. AtFUT1 belongs to CAZy family GT37 and no structure has been solved from this plant specific CAZy family. For this study, we developed and optimized insect cells culture in suspension. A purification method for this enzyme has been set-up, combining IMAC and gel filtration. AtFUT1 from insect cell medium supernatant is now purified to homogeneity yielding 1 mg of pure and concentrated protein per liter of culture. Analysis of the purified enzyme with gel filtration has revealed that the AtFUT1 is likely to be as a dimer in solution. Given that no structure of enzyme involved in pectin or hemicellulose synthesis has ever been solved, AtFuT1 is also being crystallized for structural studies. Crystals of 2.7Å resolution can be obtained, and are still being optimized for better diffraction data collection.

[1] J. L. W. Morgan *et al.* (2013) *Nature.*, **493**, 181–186.

[2] M. Pauly *et al.* (2013) *Planta.*, **238**, 627–42.

[3] M. Atmodjo *et al.* (2013) *Annu. Rev. Plant Biol.*, **64**, 747–79.

[4] O. Lerouxel *et al.* (2002) *Plant Physiol.*, **130**, 1754–1763.

Fucosyltransferase inhibitor: a tool to study plant cell wall biosynthesis

Marie DUMONT^a, Muriel BARDOR^a, Arnaud LEHNER^a, Jean-Claude MOLLET^a and Patrice LEROUGE^a

^aLaboratoire Glyco-MEV EA4358, IRIB, University of Rouen, 76821 Mont Saint-Aignan, France.

Plant cells are surrounded by a primary cell wall made of polysaccharides and proteins. The cell wall is necessary for plant cell growth regulation and defence against biotic and abiotic stresses. The understanding of mechanisms that control and regulate the biosynthesis of the cell wall is of main importance to increase biomass production in the context of bio-fuel, human dietary and food manufacturing processes [1] [2] [3]. Among the polysaccharides constitutive of plant cell wall, pectin is an important structural component. Four different motifs compose the polymer including homogalacturonan, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II (RG-II). Our research focuses on the RG-II made of a galacturonic acid backbone substituted by four well defined and complex side chains that are conserved in all land plants. At least 22 glycosyltransferases are required for its biosynthesis but to date only one RG-II xylosyltransferase has been identified and characterized [4]. Inhibition of polysaccharide glycosyltransferases is an appropriate way to study the involvement of the cell wall in plant growth. Using a very low concentration of fucosyltransferase inhibitor, we observed a strong reduction in *Arabidopsis thaliana* root growth without any obvious phenotype of the aerial part of the plant. Immunocytochemistry and biochemistry methods are currently used to investigate which polymers were affected and responsible for this growth phenotype.

[1] PA. Williams et GO Phillips (2008) Royal Society of Chemistry.

[2] AA. Sundar Raj (2012) Scientific Report 550.

[3] C. Xiao et CT. Anderson. (2013) *Front. Plant Sci.*, **4**: 67.

[4] J. Egelund *et al.* (2006) *Plant Cell*. **18**: 2593–2607.

Vers une compréhension moléculaire de la nature hypolignifiée des fibres de lin

Maxime CHANTREAU^a, Antoine PORTELETTE^b, Rebecca DAUWE^c, Shingo KIYOTO^{b,d}, David CRONIER^b, Kris MORREEL^e, Malika CHABI^a, Wout BOERJAN^e, Arata YOSHINAGA^d, François MESNARD^f, Sébastien GREC^a, Brigitte CHABBERT^b, Simon HAWKINS^a

^a Université Lille Nord de France, Lille 1 UMR 1281, F-59650, Villeneuve d'Ascq cedex, France. ^b NRA, UMR614 Fractionnement des AgroRessources et Environnement, F-51100 Reims, France. ^c Université de Picardie Jules Verne, EA 3900, BIOPI, Laboratoire de Phytotechnologie, 1, rue des Louvels, F-80037 Amiens Cedex 1, France. ^d Laboratory of Tree Cell Biology, Division of Forest and Biomaterials Science, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan. ^e Department of Plant Systems Biology, VIB, Technologiepark 927, 9052 Gent, Belgium.

Certaines plantes comme le jute, la ramie, le chanvre et le lin contiennent de longues cellules fibres (fibres périphloémiennes) caractérisées par la présence d'une épaisse paroi secondaire riche en cellulose et pauvre en lignine. Malgré une utilisation ancienne et variée de ces fibres, peu de choses sont connues sur la biosynthèse de leur paroi, particulièrement en ce qui concerne les mécanismes qui contrôlent la lignification. Pour améliorer nos connaissances sur ces mécanismes chez le lin, nous avons développé et caractérisé une population de mutants EMS [1]. Cette population nous a permis d'initier des travaux visant à déterminer l'origine moléculaire de la nature hypolignifiée des fibres de lin. La création et la caractérisation phénotypique d'une large population de mutants EMS de lin représentent une ressource d'intérêt pour l'espèce. Le développement d'une stratégie de TILLING, réalisée au travers du criblage Li-Cor de 2 gènes (*C3H* et *CAD*), impliqués dans la biosynthèse des monolignols, a permis d'estimer le taux de mutation de cette population à 1/41Kb ce qui est particulièrement élevé en comparaison des autres populations EMS décrites. Un criblage cytologique haut débit de cette population de mutants a permis d'identifier une sous-population *lbf* (*lignified bast fibers*) présentant des fibres lignifiées. Cette population représentera donc un outil précieux permettant d'élucider les mécanismes de régulation de la lignification chez le lin, mais également d'étudier le comportement de parois, majoritairement cellulosiques, soumises à une lignification ectopique. Comme preuve de ce concept nous avons initié la caractérisation approfondie de la famille *lbf1* montrant une augmentation du contenu en lignine des fibres de 350%, associé à d'importantes modifications dans le pool d'oligolignols. Les analyses transcriptomiques suggèrent que l'augmentation de la lignification est associée à une sur-expression de peroxydases impliquées dans la lignification. Des analyses ont aussi mis en exergue une modification des autres constituants pariétaux.

[1] M.Chantreau *et al.* (2013) *BMC plant biol.* **13**, 159.

Identification par TILLING et étude de mutants ponctuels de l'acide caféique *O*-méthyltransférase chez la plante modèle des graminées *Brachypodium distachyon*

Séverine HO-YUE-KUANG ^{a,b}, Marion DALMAIS ^c, Sébastien ANTELME ^a, Philippe LE BRIS ^a, Catherine LAPIERRE ^a, Anne-Laure CHATEIGNER-BOUTIN ^b et Richard SIBOUT ^a

^aInstitut Jean-Pierre Bourgin, Institut National de la Recherche Agronomique de Versailles, Versailles, France ;

^bBiopolymères Interactions Assemblages, Institut National de la Recherche Agronomique de Nantes-Angers, Nantes, France ; ^cUnité de Recherche en Génomique Végétale, Université d'Evry Val d'Essonne, Evry, France

L'acide caféique *O*-méthyltransférase (COMT) est une enzyme impliquée dans la production des unités syringyles lors de la biosynthèse des lignines [1]. Elle est également proposée comme participant à la synthèse de l'acide férulique (AF) par la méthylation de l'acide caféique [2]. L'AF est un composé important dans l'architecture de la paroi végétale des graminées par son implication dans la réticulation des arabinoxylanes et la liaison entre les arabinoxylanes et les lignines. Chez *Brachypodium distachyon*, plante modèle pour l'étude des céréales, les COMTs sont codées par une famille multigénique. Afin de déterminer si le même gène est responsable à la fois de la synthèse des lignines et de celle de l'AF et s'il existe des isoformes présentes et nécessaires de l'enzyme dans les différents tissus de la plante, les COMTs de *Brachypodium distachyon* sont étudiées. L'analyse phylogénétique a montré que Bradi3g16530 est similaire aux autres COMTs de céréales impliquées dans la biosynthèse des lignines. L'analyse de l'expression des gènes a montré que ce gène est exprimé dans les tissus végétatifs et dans le grain. Quinze lignées mutées ont été identifiées en appliquant la méthode du TILLING à la banque de mutants ponctuels de l'IJPB à l'INRA de Versailles. Chez deux de ces lignées, une diminution de la quantité de lignines additionnée à une modification de la composition des lignines, une accumulation de résidus 5-OHG caractéristique d'une déficience en enzyme COMT et une diminution de la quantité d'acide *p*-coumarique sont observées dans les tiges et dans les grains mais aucun impact sur la quantité de l'AF. L'effet de la mutation sur l'activité enzymatique de la COMT est en cours d'étude par la mesure de l'activité de la protéine recombinante et par la complémentation du mutant *omt1* d'*Arabidopsis thaliana*.

[1] J.-M. Humphreys *et al.* (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 10045-10050.

[2] K. Inoue *et al.* (1998) *Plant Physiol.*, **117**, 761-770.

Régulation de la biosynthèse des lignanes chez le lin cultivé (*Linum usitatissimum* L.)

Cyrielle CORBIN^a, Sullivan RENOUARD^a, Daniel AUGUIN^a, Eric LAINE^a, Christophe HANO^a

^a Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC- EA 1207), Université d'Orléans, 21 rue de Loigny la Bataille 28000 CHARTRES

Les graines de lin constituent la plus riche source en lignanes, des composés naturels présentant un intérêt en santé humaine ; en particulier le secoisolariciresinol (SECO) dont les propriétés phyto-œstrogéniques préventives de certains cancers débouchent sur de nombreuses applications nutraceutiques.

Chez le lin, la production naturelle de ces molécules débute par une dimérisation d'alcool coniféryliques par une protéine dirigeante couplée à une oxydase, formant ainsi le pinorésinol qui est ensuite converti en SECO grâce à une enzyme bifonctionnelle nommée PLR (Pinorésinol Laricirésinol Réductase) puis stocké dans le tégument des graines de lin. Ce lignane est accumulé au niveau de la partie externe du tégument des graines de lin, sous la forme d'un complexe multimoléculaire, participe grandement à la mise en place de ce tissu ainsi qu'à l'acquisition de ces propriétés de physico-chimiques. Par ailleurs, l'étude de la régulation de la voie de biosynthèse de ces molécules chez le lin cultivé (*Linum usitatissimum* L.) est cependant peu connue et constitue un véritable enjeu dans l'optique de l'amélioration de leur production.

Pour identifier les acteurs de cette régulation, les effets biologiques sont étudiés à plusieurs niveaux. L'expression des gènes est suivie par qPCR, expériences « promoteur-rapporteur » et analyse des profils d'accumulation des métabolites. Cette voie de biosynthèse est régulée à la fois par des stress biotiques (*Fusarium oxysporum*) et abiotiques médiés notamment par l'ABA (acide abscissique, une phytohormone importante). En effet il a été démontré que l'ABA régule l'expression du gène *LuPLR1* aboutissant à une augmentation de l'accumulation de SECO dans des suspensions cellulaires et dans des graines de lin. La régulation par l'ABA requiert de nombreux acteurs : des facteurs de transcription (comme LuABI3), des enzymes de modification post-traductionnelle (farnésyltransférase), des messagers secondaires tels que le calcium.

Le protéome de la paroi des grains de *Brachypodium distachyon* : focus sur les protéines impliquées dans le remodelage des polysaccharides.

Mathilde FRANCIN-ALLAMI¹, Kahina MERAH^{1,2}, Cécile ALBENNE², Richard SIBOUT³, Marija PAVLOVIC¹, Virginie LOLLIER¹, Hélène ROGNIAUX¹, Fabienne GUILLON¹, Elisabeth JAMET², Colette LARRE¹.

¹, INRA, UR1268, BIA, 44316 Nantes, France ; ², LRSV, UMR 5546 UPS/CNRS, 31326 Castanet-Tolosan, France ; ³, INRA, UMR1318, IJPB, 78026 Versailles, France.

Les oligosaccharides précurseurs des polysaccharides pariétaux, à l'exception de la cellulose, sont synthétisés au niveau de l'appareil de Golgi puis transportés et assemblés en polysaccharides de plus grande taille dans les parois. Parallèlement, de nombreux remodelages de ces polymères sont initiés dans les parois afin de répondre aux différents besoins physiologiques de la plante au cours de son développement. Les acteurs de ces processus sont encore mal connus et leur identification apparaît indispensable à une meilleure connaissance de la mise en place des parois. Les parois des grains de céréales, bien que ne représentant que 3 à 8% des grains, interviennent dans les procédés de transformation des grains et la qualité des produits finis. Ces parois font partie des fibres alimentaires et ont aussi un impact sur la qualité nutritionnelle des produits céréaliers. Au cours de ce travail nous avons entrepris une analyse de protéomique subcellulaire de la paroi des grains de la plante modèle des graminées *Brachypodium distachyon*. Parmi les 606 protéines identifiées, 299 sont prédites sécrétées. Ces protéines sécrétées sont distribuées dans 8 classes fonctionnelles, les protéines supposées agir sur les polysaccharides pariétaux étant les mieux représentées. Parmi celles-ci sont retrouvées de nombreuses glycosyl hydrolases, mais aussi des expansines et des peroxidases qui pourraient également être impliquées dans le remodelage des parois. Environ la moitié des protéines prédites sécrétées identifiées dans cette analyse de protéomique sont retrouvées uniquement dans les parois des grains, et complémente donc celle réalisée précédemment sur les tiges et feuilles de *Brachypodium*. Rassemblées, ces données conduisent à un protéome global de la paroi de *Brachypodium* atteignant un total de 460 protéines, et représente le protéome pariétal le plus conséquent chez les monocotylédones à ce jour.

Evolution des propriétés mécaniques de la paroi lors de la maturation de la pomme

DHEILLY E.^a, BARBACCI A.^a, ORSEL M.^b, BONNIN E.^a, RENOU J.-P.^b, LAHAYE M.^a

^a UR 1268 Biopolymères, Interactions, Assemblages, INRA, rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes, France ; ^b UMR 1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, INRA, rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé, France. , AgroCampus-Ouest, UMR 1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, 49045Angers, France, Université d'Angers, UMR 1345 Institut de Recherche en Horticulture et Semences, Structure Fédérative de Recherche 4207 Qualité et Santé du Végétal, 49045 Angers, France

La maturation du fruit implique de nombreux changements physiologiques et biochimiques qui conduisent à différentes perceptions de la texture. La paroi cellulaire joue un rôle clé dans ces changements. La composition et la structure des polysaccharides la constituant contrôlent les propriétés mécaniques des tissus [1] notamment en régulant la pression de turgescence cellulaire et la cohésion des tissus. Le remaniement des parois lors de la maturation implique de nombreuses enzymes pariétales [2] dont la nature et la dynamique des consortia conduisant aux différentes caractéristiques sensorielles de la texture restent inconnues. Cette étude cherche à déterminer l'implication des enzymes pariétales dans l'évolution des propriétés mécaniques de la paroi en relation avec les analyses sensorielles en vue de comprendre la dynamique du remaniement de la paroi cellulaire durant la maturation de la pomme. Pour cela, une analyse sensorielle a été mise en œuvre pour suivre l'évolution de 7 descripteurs de la texture (fermeté, farinosité, jutosité, fondant, croquant, grains et fibres) durant la maturation et la conservation des fruits sur 4 variétés de pommes (Ariane, Gala, Golden Delicious et Reine des reinettes). En parallèle, une analyse mécanique dynamique a été effectuée pour suivre l'évolution des caractéristiques viscoélastiques du parenchyme de ces mêmes fruits. L'activité de certaines enzymes a été dosée au cours de la maturation du fruit afin de savoir plus précisément leur rôle dans les propriétés mécaniques de la paroi. Les premiers résultats de cette étude seront présentés, notamment la relation entre les données sensorielles et les propriétés mécaniques du parenchyme durant la maturation.

[1] I. Burgert and T. Keplinger (2013) *J. Exp. Bot.*, **64**, 4635-4649.

[2] L.F. Goulao *et al.* (2007) *Postharvest. Biol. Technol.*, **43**, 307-318.

4. Utilisation de la

paroi :

Biomasse – Bioénergie –

Matériaux – Aliments - Santé

Bioéthanol 2G : Impact du prétraitement de la biomasse lignocellulosique par des liquides ioniques sur la saccharification enzymatique et la fermentation microbienne

Nasir MEHMOOD^{a,b}, Guillaume LENEZ^a, Eric HUSSON^a, Thomas AUXENFANS^a, Cédric JACQUARD^c, Carine AVONDO^a, Catherine SARAZIN^a et Isabelle GOSSELIN^{a*}

(a) Unité Génie Enzymatique et Cellulaire FRE-CNRS 3580, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint-Leu, 80039 Amiens Cedex, France.

(b) Unité Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable EA 4297, Université de Technologie de Compiègne, Centre de Recherches de Royallieu, BP 20529, 60205 Compiègne Cedex, France.

(c) Unité de Recherche Vignes et Vins de Champagne EA 4707, Université de Reims Champagne-Ardenne, BP1039, 51687 Reims Cedex 2, France.

Auteur pour la correspondance*: isabelle.gosselin@u-picardie.fr

La biomasse lignocellulosique est une ressource naturelle de choix pour compenser l'épuisement des énergies fossiles et l'augmentation des émissions de gaz à effet de serre, car elle est renouvelable et très abondante sur Terre¹⁻⁴. La valorisation de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol de 2^{ème} génération est classiquement réalisée en 4 étapes : 1) prétraitement de la biomasse pour séparer les complexes de cellulose/hémicellulose/lignine, 2) hydrolyse de la cellulose en sucres fermentescibles, 3) fermentation microbienne de ces sucres en éthanol et 4) récupération du produit par distillation⁵. Le principal verrou technologique est la production de sucres fermentescibles à partir des fibres insolubles de cellulose, constituant majoritaire de la biomasse lignocellulosique. Une voie prometteuse pour surmonter cet obstacle dans des conditions expérimentales douces est le prétraitement de la biomasse lignocellulosique par des liquides ioniques (LI) afin de désorganiser la structure supramoléculaire de la cellulose et améliorer son accessibilité aux cellulases².

L'objectif de ce travail était d'étudier l'impact des LI sur les propriétés structurales et morphologiques d'une cellulose modèle, sur les enzymes de saccharification et sur les levures de fermentation, dans le but ultime de réaliser en une seule étape les trois phases de prétraitement, saccharification et fermentation de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol.

Nous avons choisi deux LI hydrophiles, le [Emim]⁺[CH₃COO]⁻ (noté LI1) et le [Emim]⁺[MeO(H)PO₂]⁻ (noté LI2), pour leur capacité à déstructurer la cellulose modèle et à augmenter les rendements d'hydrolyse enzymatique catalysée par les cellulases de *Trichoderma reesei*⁵⁻⁶. Deux espèces de levures, *Saccharomyces cerevisiae* et *Kluyveromyces marxianus*, ont été testées pour leur tolérance aux LI et leur rendement en éthanol. Le LI2 désactive moins les enzymes de saccharification, est moins toxique pour les cellules de fermentation et augmente les rendements éthanoliques. Il serait un bon candidat pour le développement d'un procédé one-pot innovant de prétraitement, saccharification et fermentation de la biomasse lignocellulosique.

(1) M. Balat (2011) *Energ. Convers. Manag.*, **52**, 858-875.

(2) J.B. Binder & R.T. Raines (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 4516-4521.

(3) C.C. Geddes *et al.* (2011) *Curr. Opin. Biotechnol.*, **22**, 312-319.

(4) D. Graham-Rowe (2011) *Nature*, **474**, S6-S8.

(5) E. Husson *et al.* (2011) *Bioresour. Technol.*, **102**, 7335-7342.

(6) T. Auxenfans *et al.* (2012) *Carbohydr. Polym.*, **90**, 805-813.

Fibres de bois de tension de Peuplier comme renfort pour des Composites Bois/Thermoplastique

BEAUGRAND J.^a, DOBOSZ S.^a, KENYO C.^b, CLAIR B.^c

^a INRA, UMR614 FARE, 2 esplanade Roland Garros, 51686 Reims, France ; ^b Laboratory of Plastics and Rubber Technology, Budapest University of Technology and Economics, H-1521 Budapest, P.O. Box 91, Hungary ; ^c CNRS, UMR EcoFoG, BP 701 97387 Kourou, Guyane Française

Ce travail décrit la préparation et la caractérisation de composites thermoplastiques (WPC) renforcés avec des fibres de bois de Peuplier. Le renfort des WPC est en général très faible voire nul, la poudre de bois étant utilisée pour réduire les quantités de plastique utilisées et alléger les produits finaux (ex. : secteur du bâtiment, etc...).

Étant donné le rôle du bois de tension dans les feuillus, nous avons supposé que le bois de tension pourrait être une opportunité pour la fabrication de WPC aux propriétés mécaniques améliorées. Le bois de tension est en effet un coproduit (cause de gauchissement) de l'industrie du bois de structure. Les WPC seraient donc un marché intéressant pour un produit à coût de revient potentiellement inférieur.

Dans ce contexte, des composites de Polycaprolactone (PCL) chargés à 20% de Bois de Tension (BT) ou de Bois Normal (BN) de Peuplier ont été préparés. Le bois de Peuplier a été écorcé avant d'être finement broyé. Le compoundage a été effectué avec une monovis de laboratoire. Les joncs de compound obtenus ont été injectés en éprouvettes qui ont permis de déterminer les propriétés mécaniques en sollicitation quasi-statique des matériaux.

Les composites contenant 20% de bois de Peuplier étaient plus rigides mais moins déformables : celui contenant les fibres de BT présentait des propriétés mécaniques significativement supérieures au PCL seul, et de 20 à 25% supérieures à celui des composites contenant du BN.

Ce résultat montre que le BT peut être utilisé dans la fabrication de composites thermoplastiques plus rigides. Nous avons dans la suite cherché à déterminer l'origine de cette différence :

- Le renfort supplémentaire est-il dû à la morphologie des fibres[1] ? Pendant le broyage la propagation des fractures a pu mener à des facteurs de formes différents pour le BN et le BT.
- Les propriétés de surface (énergie de surface, ...) sont-elles responsables d'une meilleure interface entre le BT et le PCL ? Les surfaces créées pendant le broyage peuvent permettre une liaison différente avec le PCL.
- Le meilleur renfort du BT est-il dû à de meilleures propriétés intrinsèques[2] des parois cellulaires ?

[1] B. Jourez, A. Riboux, A. Leclercq (2001) *IAWA J.*, **22**, 133–157.

[2] C. Coutand, G. Jeronimidis, B. Chanson, C. Loup, (2004) *Wood Sci. Technol.*, **38**, 11–24.

Transesterification enzymatique de lignine Kraft en liquide ionique : écoconception d'un nouveau matériau macromoléculaire biosourcé.

Lise Hulin ^{a,b}, Jean-Pierre Bonnet ^c, Karim Djellab ^d, Dominique Cailleu ^e, Tatjana Stevanovic ^b, Catherine Sarazin ^a et Eric Husson ^a

^a Unité de Génie Enzymatique et Cellulaire, FRE 3580 CNRS – Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint-Leu, 80039, Amiens Cedex 1, France; ^b Centre de Recherche sur les Matériaux Renouvelables, Département des sciences du bois et de la forêt – Université Laval, 2425 rue de la terrasse, Pavillon Gene-H Kruger, Québec (QC) G1V 0A6 Canada ; ^c Laboratoire de Réactivité et Chimie des Solides, UMR CNRS 7314 – Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint-Leu, 80039 Amiens Cedex 1, France ; ^d Plateforme de Microscopie Electronique, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint-Leu, 80039, Amiens Cedex, France ; ^e Plateforme Analytique, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint-Leu, 80039 Amiens Cedex, France.

*Auteur pour la correspondance : eric.husson@u-picardie.fr

La viabilité économique du concept de bioraffinerie réside dans la valorisation de l'ensemble de constituants de la plante. Cependant, la lignine, second polymère majoritaire des parois végétales reste actuellement sous valorisée. Une voie émergente de valorisation des lignines consiste à augmenter leur hydrophobie par estérification chimique afin d'améliorer leur miscibilité dans des matrices de polyoléfines pour concevoir de nouveaux composites partiellement biosourcés [1, 2, 3, 4]. Cependant, l'estérification par voie chimique répond de moins en moins aux exigences environnementales actuelles et ne donne que des rendements limités dans le cas du greffage de longues chaînes aliphatiques. L'objectif de ce travail est d'étudier la faisabilité d'une stratégie alternative innovante et plus écologique : la transesterification enzymatique d'une lignine Kraft par l'oléate d'éthyle en milieux non-conventionnels : les liquides ioniques. Pour cela, les lipases de *Candida antarctica*, de *Pseudomonas cepacia* et de *Mucor miehei* ont été sélectionnées pour leur capacité à catalyser la synthèse de liaison ester en milieux non-conventionnels [5, 6, 7].

Trois liquides ioniques ([C4C1im][MeSO4], [C4C1im][OTf], et [C4C1im][PF6]) capables de solubiliser la lignine et/ou améliorer l'activité des lipases ont été également testés [8, 9]. Le meilleur rendement de transesterification (27.3%) a été obtenu avec la lipase de *Candida antarctica* dans le système binaire [C4C1im][OTf]/ [C4C1im][PF6].

Ces performances ont été attribuées à une disponibilité de la lignine permise par sa solubilisation dans [C4C1im][OTf] et un maintien de l'activité de l'enzyme induite par [C4C1im][PF6]. Des études structurales par IRTF et 1H-RMN liquide ont confirmé la synthèse de l'oléate de lignine. De plus, la lipase de *Candida antarctica* induirait une régiosélectivité exclusivement orientée vers la transesterification des groupes hydroxyles aliphatiques de la lignine. Les propriétés thermiques et morphologiques de cette macromolécule fonctionnalisée ont ensuite été caractérisées par DSC, ATG-SM, MEB-EDX. L'oléate de lignine présente des propriétés thermiques différentes de la lignine Kraft telles qu'une absence de température de transition vitreuse et une microporosité homogène. Cette nouvelle stratégie constitue ainsi une voie écologique prometteuse et complémentaire à l'estérification par voie chimique.

[1] N. Mariotti *et al.* (2012) *Proceedings of the 55th International Convention of Society of Wood Science and Technology*, August 27-31, Beijing, China.

[2] H. Nadji *et al.* (2010) *Journal of Applied Polymer Science*, **115**(3), 1546-1554

[3] A. Maldhure *et al.* (2011) *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **103**(2): 625-632

[4] W. Thielemans et R.P. Wool (2005) *Biomacromolecules*, **6**(4):1895-1905

[5] E. Husson *et al.* (2008) *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **55**, 110-117

[6] P. Lozano (2010) *Green Chemistry*, **12**: 555-569

[7] P. Lozano *et al.* (2003) *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **21**(1-2), 9-13

[8] P. Mäki-Arvela *et al.* (2010) *Industrial Crops and Products*, **32**(3), 175-201

[9] Y. Pu *et al.* (2007) *Journal of Wood Chemistry and Technology*, **27**(1), 23-33

Les F-techniques révèlent la progression de sondes fluorescentes dans les parois lignocellulosiques

Gabriel PAËS & Brigitte CHABBERT

UMR FARE INRA / Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

Les parois lignocellulosiques (PL) forment un réseau complexe de polymères variés (cellulose, hémicelluloses et lignines) dont la transformation dans les bio-raffineries peut potentiellement fournir une panoplie de produits chimiques et matériaux, tout en limitant l'émission de gaz à effet de serre. Pour atteindre ce but, non seulement la fraction cellulosique mais aussi les fractions hémicellulosiques et ligneuses doivent être valorisées pour rendre les bio-raffineries compétitives économiquement. En particulier, l'utilisation d'enzymes spécifiques et travaillant dans des conditions douces est un atout pour déconstruire les PL. Cependant, la complexité architecturale et chimique des PL est aussi un frein à leur déconstruction, restreignant l'activité et la progression des enzymes : c'est la récalcitrance.

Dans ce contexte, nous avons mis au point le suivi de la progression de sondes fluorescentes dans des échantillons de PL natifs ou pré-traités par des opérations physico-chimiques qui modifient l'architecture et la composition des PL. Après avoir caractérisé l'impact de ces pré-traitements sur la composition et les propriétés spectrales (FLIM), la progression de sondes variant au niveau de leur nature (polysaccharide ou enzyme) et de leur taille a été mesurée en microscopie confocale (FRAP) dans différentes localisations tissulaires des PL pré-traitées. L'ensemble des données obtenues permet de hiérarchiser quantitativement les paramètres variés, en fonction de leur influence sur la progression des sondes. Globalement, la progression des sondes est directement corrélée à la perte ou la modification des lignines, et la taille des sondes est un paramètre essentiel gouvernant leur mobilité par rapport au type de pré-traitement et la localisation tissulaire. Ces travaux mettent en évidence la façon dont les outils de microscopie de fluorescence, les F-techniques, renseignent sur l'architecture des PL et les facteurs structuraux et chimiques qui modulent potentiellement la progression d'enzymes lignocellulolytiques.

Diversité fonctionnelle des champignons filamenteux pour la déconstruction des parois végétales

Marie-Noëlle ROSSO^a, Isabelle HERPOËL-GIMBERT^a, Jean-Guy BERRIN^a, Anne FAVEL^a, Jean-Claude SIGOILLOT^a, Craig FAULDS^a

^aINRA, Aix-Marseille Université, Polytech Marseille, UMR1163 Biotechnologie des Champignons Filamenteux, 13288 Marseille, France

Les champignons associés aux plantes utilisent une extraordinaire diversité d'enzymes lignocellulolytiques pour la colonisation des tissus végétaux ou l'assimilation du carbone des parois végétales. Le laboratoire BCF a développé différentes approches, de l'exploration de la biodiversité fongique et la génomique fonctionnelle à la biochimie des protéines pour identifier et caractériser les enzymes impliquées dans l'adaptation des champignons à différents hôtes et substrats. La collection CIRM-CF associée au laboratoire, riche de 1500 souches fongiques d'origines géo-climatiques variées, est une ressource inestimable pour l'étude des mécanismes de déconstruction des parois (<https://www6.inra.fr/cirm/Champignons-Filamenteux>). Le criblage de la collection permet l'identification de combinaisons d'enzymes répondant à des applications ciblées. Dans le cas de tests de saccharification (libération de glucose) à partir de biomasse, l'étude de la composition enzymatique des sécrétomes les plus performants a permis d'identifier les enzymes clés de la dépolymérisation des parois et mis en évidence l'action synergique d'hydrolases et d'oxydoréductases [1]. La caractérisation d'enzymes isolées a permis par exemple d'étudier la dépolymérisation oxydative de la cellulose par les polysaccharide monooxygénases [2] et d'observer la libération de microfibrilles de cellulose après dépolymérisation de la lignine par une manganèse peroxydase [3]. Les mécanismes fongiques de déconstruction des parois sont également étudiés dans le cadre d'un programme de séquençage de 40 souches de champignons de la pourriture blanche conduit en collaboration avec le JGI et visant à caractériser les enzymes sécrétées en réponse à des substrats lignocellulosiques variés.

[1] M. Couturier *et al.* (2012) *BMC Genomics.*, **13**:57

[2] M. Bey *et al.* (2013) *Applied and Environmental Microbiology*, **79**:488-96.

[3] J.C. Sigoiilot *et al.* (2001) *Enzyme and Microbial Technology.*, **29**:160-165.

Determining surface area of lignin in wheat straw by cationic dye adsorption

M.H. SIPPONEN^a, V. PIHLAJANIEMI^a, K. LITTUNEN^a, O. PASTINEN^a, S. LAAKSO^a

^a*Aalto University, School of Chemical Technology, Department of Biotechnology and Chemical Technology, Espoo, Finland, PO BOX 16100 FI-00076 Aalto, mika.sipponen@aalto.fi*

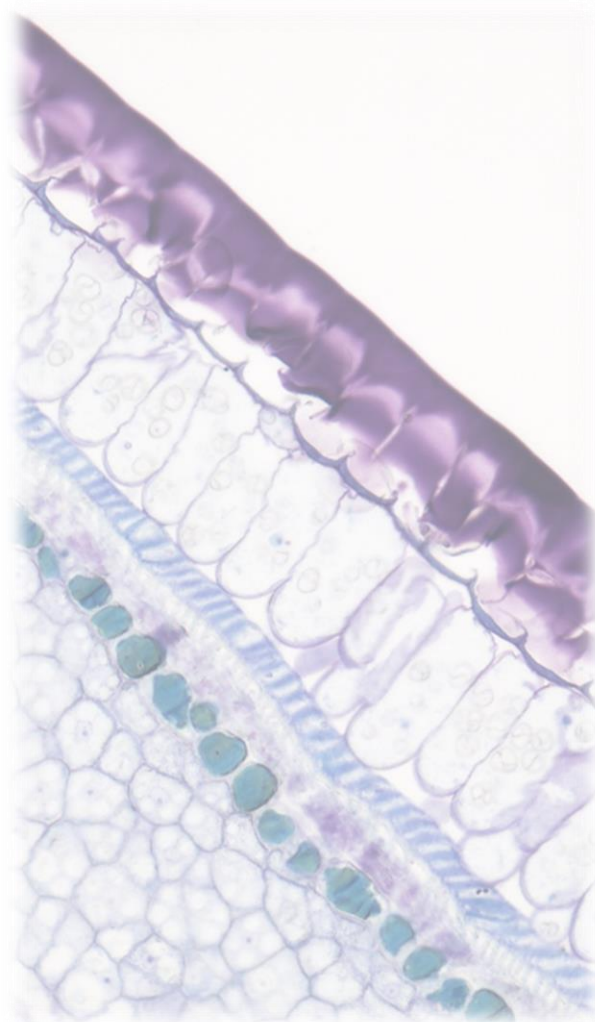
Lignin is a structural constraint in enzymatic hydrolysis of carbohydrates of lignocellulosic materials. Cellulases appear especially susceptible to binding on lignin containing phenolic hydroxyls.^[1] Phenolic hydroxyls in lignin model compounds have characteristically acidic pKa values,^[2] but the current methods to determine their quantity are either degradative or limited to measuring external surfaces only. This work describes a new approach for determining surface area of lignin in solid state. The amount of surface-accessible acidic hydroxyl groups of lignin were determined by adsorption of the cationic dye Azure B on lignin in neutral aqueous suspension. Maximum equilibrium adsorption capacities of wheat straw (WS), GreenValue lignin, and cellulose materials were determined. Compared to adsorption of Azure B on commercial wheat straw lignin (GreenValue lignin), adsorption on cellulose or acetylated GreenValue lignin was negligible. The amount of surface-accessible acidic hydroxyls in WS (0.21 mmol/g) was lower than in GreenValue lignin (1.77 mmol/g). Proportion of surface-accessible lignin in GreenValue lignin was 48%, compared to total amount of carboxylic and phenolic hydroxyls revealed by ³¹P NMR analysis of the fully soluble lignin. Surface area of acidic lignin was calculated based on the Connolly^[3] molecular surface area of Azure B, assuming spherical molecular geometry. The obtained surface area of acidic lignin in WS (84 m²/g) indicates that native lignin occupies notably larger area than previously thought. Ongoing work in our laboratory is focused on determining surface area of lignin in plant tissues of different botanical origin.

[1] X. Pan (2008) *J. Biobased Mater. Bioenergy*, **2**, 25-32.

[2] M. Ragnar *et al.* (2000) *J. Wood Chem. Technol.*, **20**, 277-305.

[3] M.L. Connolly (1983) *J. Appl. Cryst.*, **16**, 548-558.

Résumés des posters



1. Dynamique pariétale et développement

Control of hypocotyl growth by pectin methylesterases (PMEs) in *Arabidopsis thaliana*.

Fabien SÉNÉCHAL^a, Alexis PEAUCELLE^b, Paulo MARCELO^c, Sophie BOUTON^a, Alain MARECK^d, Gregory MOUILLE^b, Herman HÖFTE^b, Patrice LEROUGE^d, Jérôme PELLOUX^a.

^a, EA3900-BIOPI, UPJV, 33 Rue St Leu, F-80039 Amiens, France; ^b, IJPB, UMR1318 INRA-AgroParisTech, Bâtiment 2, INRA Centre de Versailles-Grignon, Route de St Cyr (RD 10), F-78026 Versailles, France; ^c, ICAP, UPJV, 1-3 Rue des Louvels, F-80037 Amiens, France; ^d, EA4358-Glyco-MEV, IFRMP 23, Université de Rouen, F-76821 Mont-Saint-Aignan, France; ^d, ICAP, UPJV, 1-3 Rue des Louvels, F-80037 Amiens, France.

In *Arabidopsis thaliana*, the dark-grown hypocotyl is characterized by two distinct growth phases: a slow phase followed by a rapid acceleration which is related to changes in the expression of genes encoding enzymes involved in homogalacturonan (HG) modifications, among which pectin methylesterases (PMEs), polygalacturonases and pectate lyases-like [1]. Moreover, overexpression of *PME14*, a gene encoding PME inhibitor, which is differentially regulated during etiolated hypocotyl growth, affect pectin properties leading to delay of growth acceleration [1]. This suggests that the PME activity, which affects the degree of methylesterification (DM) of HG backbone, play a key role in the pectin dynamic and cell wall plasticity, controlling elongation of dark-grown hypocotyl. To better understand how the regulation of PME activity affects growth rate, we characterized KO mutants for *PME32*, which is expressed during etiolated hypocotyl growth. Using functional genomic, biochemical, transcriptomic and proteomic approaches, we showed that the deregulation of *PME32* expression leads to overall changes in PME activity, likely to be related to compensatory mechanisms among the PMEs expressed in dark-grown hypocotyl. Moreover this compensatory mechanism could be controlled by PMEIs, affecting finally growth rate of dark-grown hypocotyl.

[1] Pelletier S. *et al.* (2010) *New Phytol.* **188**, 726-739.

Cell wall integrity signalling, the role of pectin

S. WOLF, R. SORMANY, G. MOUILLE, T. DESPREZ, F. SENECHAL, J. PELLOUX, A. PEAUCELLE, M. MARTIN, S. VERNHETTES, M. GONNEAU AND H. HÖFTE.

The pectic polysaccharide homogalacturonan represents around 20 % of the mass of the primary cell walls. HG is synthesized in the Golgi apparatus and secreted in a highly methylesterified form into the apoplast, where it is de-methylesterified in precise spatio-temporal patterns. Since the methylesterification state strongly changes the rheological properties of the polymer it is not surprising that pectin methylesterase (PME) activity can dramatically influence plant growth and development. However, in contrast to the widely accepted textbook view, in which Ca-cross-linking of de-methylesterified HG contributes leads to gel formation and wall stiffening, we observed that PME activity can also have a growth promoting role. In this report we studied two ways by which plants sense the pectin methyl esterification state in the cell wall. We firstly show that preventing de-methylesterification triggers the activation the receptor of the growth hormone brassinosteroid through the interaction with between the BAK1 co-receptor and the membrane bound Receptor Like Protein (RLP44), which in turn promotes wall loosening at least through transcriptional mechanisms, including the activation of PME transcription. Secondly, we will discuss how a pectin-binding receptor-like kinase negatively regulates growth through ROS production.

Wolf S., Hematy K., and Hofte H. 2012. Growth control and cell wall signaling in plants. *Annu Rev Plant Biol* **63**, 381-407.

Wolf S., Mravec J., Greiner S., Mouille G., and Hofte H. 2012. Plant Cell Wall Homeostasis is Mediated by Brassinosteroid Feed-back Signalling. *Curr Biol* **22**, 1732-1737.

Impact de la mutation des pinorésinols réductases d'*Arabidopsis thaliana* sur la mise en place du système racinaire.

Cédric DECOURTIL¹, Jean-Xavier FONTAINE¹, Roland MOLINIE¹, Brigitte CHABBERT², François MESNARD¹

¹ Laboratoire de Phytotechnologie EA 3900 BIOPI, Faculté de Pharmacie, Université de Picardie Jules Verne, 1 rue des Louvels, 80037 Amiens, France

² INRA, UMR614 Fractionnement des AgroRessources et Environnement, 2 Esp R Garros, 51100 Reims, France.

De façon à étudier les deux Pinorésinols réductases (Pr1 et Pr2) d'*Arabidopsis thaliana* et plus généralement les relations entre lignine et lignanes, une stratégie utilisant ces mutants SALK a été mise en œuvre. Les pinorésinols réductases agissent sur le pinorésinol, un lignane, afin de le réduire en laricirésinol. Contrairement à d'autres espèces tels que le lin qui possède une Pinorésinol Laricirésinol Réductase (PLR) qui est capable de réaliser une seconde réduction sur le laricirésinol de façon à donner du sécoisolaricirésinol, *Arabidopsis thaliana* s'arrête à la première réduction.

Ces lignanes font partie des métabolites secondaires, ce sont des polyphénols dérivant de la phénylalanine, leur rôle *in planta* reste méconnu, leurs propriétés antifongiques, antibactériennes, antifeedant et antioxydantes pourraient permettre à la plante de se défendre contre ses agresseurs. Chez l'homme ces lignanes sont reconnus dans la prévention de certains cancers hormonaux dépendants, de maladies cardio-vasculaires ou encore du diabète.

Après avoir vérifié le caractère Knock Down ou Knock Out des gènes d'intérêts, des croisements ont été réalisés afin d'obtenir des doubles mutants. Des graines ont été mises à germer sur milieu gélosé à la verticale. Après mesure de la taille des racines à 10 jours avec le logiciel ImageJ, il s'est avéré qu'une augmentation très significative de la taille des racines a pu être observée sur la lignée Pr2 la plus sous-exprimée ainsi que sur les doubles mutants correspondants. Aucune incidence pour les lignées Pr1.

La Pr2 pourrait donc présenter un rôle dans les racines, son absence causant un allongement de cet organe, il resterait à vérifier si cet allongement est dû à une augmentation de la taille des cellules racinaires, ou à une augmentation globale du nombre de cellules. L'arrêt de la voie au pinorésinol pourrait favoriser l'accumulation d'alcool coniférylique un monolignol qui est incorporé dans la lignine sous la forme d'unités G, il sera intéressant de doser les différentes sous unités de la lignine dans les racines afin de voir s'il y a une évolution des ratios.

Hétérogénéité des parois et des machineries de biosynthèse dans différents tissus du grain de blé

Anne Laure CHATEIGNER-BOUTIN^a, Colette LARRE^a, Camille ALVARADO^a, Brigitte BOUCHET^a, Luc SAULNIER^a, Fabienne GUILLON^a

^a INRA UR1268 Biopolymères, Interactions, Assemblages BP 71627 44316 Nantes Cedex 03

Le blé est une plante d'intérêt majeure pour l'alimentation humaine et animale. Le grain de blé est un caryopse constitué d'un embryon, d'un tissu de réserve (albumen), et de plusieurs tissus périphériques dont certains proviennent des parois de l'ovule (épiderme du nucelle et tégument séminal) et d'autres des parois de l'ovaire (péricarpe). Les parois cellulaires du grain de blé sont connues pour avoir un rôle déterminant dans les propriétés d'usage du blé (fractionnement pour obtenir des farines, et aptitude à la panification). Notre équipe s'intéresse à la caractérisation des parois du grain de blé, à leur mise en place pendant le développement du grain et à la caractérisation des relations structure/fonction des polymères pariétaux. Différentes approches sont utilisées et notamment des approches d'immunomarquage couplé à la microscopie. Des anticorps spécifiques nous ont permis de mettre à jour une importante hétérogénéité de composition des parois des différents tissus composant le grain de blé. Les parois de l'albumen amylicé sont majoritairement constituées d'arabinoxylanes féruloylés et de beta-glucanes mixtes, cependant d'autres polymères y sont détectés comme les mannanes, la cellulose, et également des pectines. Dans les parois des couches périphériques certains polymères sont détectés dans toutes les assises cellulaires (arabinoxylanes et beta-glucanes). D'autres sont spécifiquement détectés à certains stades de développement uniquement dans les parois d'un tissu. C'est notamment le cas des parois du tégument séminal où sont détectés spécifiquement à un stade correspondant au début de la différenciation de l'albumen des glucuronoxylanes et des homogalacturonanes pas ou peu méthylés. La fonction physiologique de cette hétérogénéité n'est pas connue. Afin d'identifier les machineries cellulaires impliquées dans la formation des parois du grain, une approche de protéomique subcellulaire a été menée sur trois fractions de grain de blé (péricarpe externe, couches intermédiaires et albumen). Cette approche nous a permis d'identifier de nombreuses protéines potentiellement impliquées dans la synthèse, la modification et le remodelage des parois. Certaines protéines ont été identifiées dans les trois fractions d'autres spécifiquement dans une des fractions comme une pectine methyl esterase qui pourrait être impliquée dans la déméthylation des homogalacturonanes du tégument séminal. Certaines de ces protéines sont ou seront ciblées par génétique inverse pour appréhender leur fonction et/ou la fonction du polymère cible dans le grain.

Identification de nouveaux inhibiteurs d'enzymes de modification des pectines

Mélanie L'ENFANT^{a,b}, Fatima SADI^a, Olivier HABRYLO^a, Anne WADOUACHI^b, Jean-Marc DOMON^a, Catherine RAYON^a, José KOVENSKY^b, Jérôme PELLOUX^a, Corinne PAU-ROBLOT^a,
^aUnité de Biologie des Plantes et Innovations EA3900; ^bLaboratoire des Glycosciences et des Antimicrobiens FRECNRS 3517, Université de Picardie Jules Verne, 10 rue Baudelocque 80039 Amiens, France

Les pectines sont un des composants majeurs de la paroi cellulaire végétale et nécessitent une meilleure connaissance de leur structure.

Les homogalacturonanes (HG), représentant 65% de ces pectines, sont constitués d'un enchaînement linéaire d'acides α -(1,4) galacturoniques qui peuvent être méthylestérifiés en C₆. Le degré de méthylestérification (DM) est contrôlé au sein de la plante par des enzymes spécifiques, les pectine méthylestérases (PME, EC 3.1.1.11). Ces modifications ont des conséquences importantes sur les propriétés chimiques et rhéologiques de la paroi affectant la sensibilité des HG à des enzymes phytopathogènes de dégradation de type polygalacturonases (PG, EC 3.2.1.15) pouvant conduire à la production d'oligogalacturonanes (OG) [1]. Par ailleurs des bactéries et champignons (*Erwinia*, *Botrytis*...), connus pour être des phytopathogènes majeurs de plantes de grande culture (pomme de terre, lin...), possèdent ces enzymes, qui sont des déterminants importants de leur pathogénicité [2,3]. En effet, l'action de ces enzymes phytopathogènes sur les HG de plantes permettent une dégradation des pectines de la paroi végétale et une colonisation favorisée de la plante hôte par le pathogène [4].

Le travail a permis de produire des PME/PG de plante (*Arabidopsis*) et de phytopathogènes (*Botrytis*) et d'évaluer leurs activités biologiques et leurs modes d'actions. Des inhibiteurs spécifiques chimiques et naturels de l'activité des enzymes fongiques ont été recherchés.

[1] S. Osorio *et al.* (2008). *Plant Journal*, **54**: 43-55.

[2] O. Valette-Collet *et al.* (2003). *Molecular Plant Microbe Interactions*, **16**: 360-367.

[3] I. Kars *et al.* (2005). *Plant Journal*, **43**: 213-225.

[4] P. Shah *et al.* (2009). *Proteomics*, **9**: 3126-3135.

A Chemical genomic approach to study xyloglucan metabolism and trafficking.

Julien SECHET¹, Aurélie BARON², Olivier PAMLARD², Maxence MOUILLE¹, Catherine GUILLOU², Boris VAUZEILLES² and Grégory MOUILLE¹

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

ICSN - Centre de Recherche de Gif - Bâtiment 27 - 1, avenue de la Terrasse - 91198 Gif-sur-Yvette Cedex - France

Xyloglucans are polysaccharides composed of a backbone of 1,4-linked β -D-Glcp residues substituted at O6 with mono-, di-, or triglycosyl side chains. This structure is the result of action of Golgi localized biosynthetic enzymes but not only. It has been shown that these polymers undergo key maturation steps in the apoplast leading to the well-defined/conserved structure observed in the cell wall. The cell wall localized enzymes responsible of the trimming of the polymer have been identified and mutants characterized [1, 2, 3]. The mutants clearly show altered xyloglucan structure in the cell wall, confirming that these enzymes are necessary for the setup of a functional xyloglucan in the cell wall.

Recently we identified an inhibitor of a glycosylhydrolase. When seedlings are treated with this molecule the quality of the xyloglucan produced at the cell wall is modified. Furthermore this treatment leads to the release of xyloglucan oligosaccharides in the medium as observed in the Arabidopsis mutant *Atxyl1* [4]. The mechanism underlying the release of these Oligosaccharides is completely unknown. So we decided to perform a screening approach using a library of chemicals to try to better understand the steps that leads to the release of these xyloglucan oligomers. We will present the detailed characterization of the effect of our inhibitor on cell wall structure, preliminary results of the study of the mechanism leading to the release of the oligosaccharides and our screening approaches.

[1] Del Bem and Vincentz, (2010) *BMC Evolutionary Biology*, **10**, 341.

[2] Sampedro et al., (2012) *Plant Physiology*, **158**(3), 1146–1157.

[3] Günl et al., (2011) *The Plant Cell*, **23**(11), 4025-40.

[4] Sampedro et al., (2010) *Plant Physiology*, **154**, 1105-1115.

Impact de la glycosylation sur la disponibilité des monolignols chez le lin (*Linum usitatissimum*)

Julien LE ROY^a, Anne CREACH^a, Brigitte HUSS^a, Maria Cécilia ARIAS^b, Simon HAWKINS^a, Godfrey NEUTELINGS^a

^a UMR INRA 1281 SADV, ^b UMR8576 CNRS, Université de Lille 1, 59655 Villeneuve d'Ascq cedex

Le lin (*Linum usitatissimum*) est une plante cultivée depuis plusieurs milliers d'années pour ses fibres hautement cellulosiques et ses graines riches en acides gras insaturés. Notre équipe utilise cette plante comme modèle d'étude de la lignification car sa tige inclut à la fois des tissus contenant des cellules avec des parois secondaires lignifiées (xylème secondaire au centre de la tige) mais aussi hypolignifiées (fibres phloémiennes en périphérie) [A. Day *et al.* (2005) *Planta* 222, 234–245]. Nous avons montré que la quantité de lignines dans ces tissus était régulée au niveau transcriptionnel [R. Huis *et al.* (2012) *Plant Physiology* 158, 1893–1915] mais aussi que des voies métaboliques liées à la production de phénylpropanoïdes étaient différenciellement activées entre l'intérieur et l'extérieur de la tige. Parmi celles-ci, la voie de glycosylation des précurseurs de lignines semble être favorisée dans les fibres ce qui est en accord avec l'augmentation des quantités de coniférine (alcool coniférylique glycosylé) parfois observée lorsque l'on cherche à baisser les teneurs en lignines par transgénèse. Notre objectif est donc d'évaluer le rôle de la glycosylation dans le flux des précurseurs de lignines qui se dirigent vers la paroi. Il est en effet possible que le greffage d'un groupement glycosyl- détourne ces molécules vers la vacuole pour y être stockées. Ce mécanisme est dépendant de GlycosylTransférases de famille 1, les UDP-Glycosyltransférases (UGTs), dont certaines ont déjà été identifiées chez *Arabidopsis* [E.K. Lim, *et al.* (2005) *FEBS letters*, 579, 710–727]. Nous avons ainsi initié différentes approches pour identifier les acteurs de cette glycosylation chez le lin. Dans un premier temps, nous avons recherché l'ensemble des GT1 (UGTome) dans le génome du lin et validé leur annotation dans la banque de données CAZy. Les profils d'expression des différents candidats ont ensuite été recherchés dans l'ensemble des données transcriptomiques disponibles afin d'éliminer les gènes non-exprimés. Ces profils seront prochainement affinés à l'aide d'une approche de qRT-PCR à haut débit. Une approche phylogénétique a déjà permis d'identifier 5 orthologues des gènes responsables de la glycosylation de monolignols chez *Arabidopsis*. La production des protéines recombinantes et l'obtention de plantes dont l'expression de ces UGTs aura été modifiée sont en cours. En parallèle des analyses métabolomiques ciblées sur le pool de molécules phénoliques permettront de faire une corrélation entre l'expression de ces gènes et la présence de molécules glycosylées.

Metabolomic analysis of the interactions between seed coat and embryo of flaxseed.

MIART F.^a, PAGEAU K.^a, ROULLARD R.^a, FONTAINE JX.^a, MOLINIE R.^a, PETIT E.^a, BOUTON S.^a, FOURNET F.^a, VAN WUYTSWINKEL O.^a, THOMASSET B.^b & MESNARD F.^a.

^aEA3900 BIOPI Biologie des Plantes et Innovation, UFR des Sciences, 33 rue Saint Leu, F-80039 Amiens France

^bCNRS UMR6022 Génie Enzymatique et Cellulaire, Université de Technologie de Compiègne, BP 20529, F-60205 Compiègne Cedex France

In flax (*Linum usitatissimum*), the seed coat epidermal cells produce a large amount of mucilage that is mainly composed of polysaccharides [1]. It is a powerful tool for plant cell wall research, because it is easily accessible and is of great interest for the identification of novel genes involved in synthesis, secretion and modification of cell wall chemical components like pectins [2]. In *Arabidopsis thaliana*, a relation was demonstrated between genes involved in mucilage biosynthesis and the fatty acid content in embryo [3]. A phenotypic screening of the fatty acid and oil content was performed on recombinant inbred lines from the crossing between Oliver (a winter “oil” flax) and Viking (a spring “fiber” flax). In parallel, we developed and applied a rapid, low cost and semi-quantitative phenotypic method for the quantification of the soluble mucilage. Both phenotypic screens permit us to select three lines showing different patterns in soluble mucilage content and fatty acid profiles. The epidermal cells of the seed coat has been analysed by histochemical techniques. Moreover, a micro-metabolomic NMR analysis permits us to determine the metabolic profiles of the selected lines during 4 stages of seed development (DAF 10, 15, 25, 35 and Mature).

Key words: NMR, screening, seed coat, mucilage, embryo fatty acids, flax

[1] R. Naran *et al.* (2008) *Plant Physiol.* **148**, 132-141.

[2] A. Arsovski *et al.* (2010) *Plant Signalling and Behavior.* **5**, 1-6.

[3] L. Shi *et al.* (2012) *Plant J.* **69**, 37-46.

Cold regulation of genes related to secondary cell wall biosynthesis affects wood structure and composition

R. PLOYET^a, F. MOUNET^a, J.C. RODRIGUES^b, C. MARQUE^a, C. TEULIÈRES^a, J. GRIMA-PETTENATI^a

^a *Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV), UMR 5546 CNRS/Université Toulouse III, Pôle de Biotechnologies Végétales, 24 chemin de Borde Rouge, BP 42617 Auzeville, F-31326 Castanet Tolosan, France;* ^b *Tropical Research Institute of Portugal (ICT), Forestry and Forest Products Centre, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal.*

The fast growing *Eucalyptus* is by far the most widely planted broad-leaved tree around the world and is emerging as one of the best source of lignocellulosic biomass for pulping and fuel production in Europe [1]. Very recently, this species was officially approved for forest plantation in France, but frost still represents the main limitation for the expansion of this non-dormant tree. By the way, in addition to successful strategies aiming to select cold resistant clones adapted to French forest conditions, it appears crucial to evaluate the effect of low temperature on wood composition and quality which directly impacts its energetic potential. Scarce data from literature suggest that low temperature affect the expression of secondary cell wall (SCW) related genes and influence lignin or polysaccharides deposition as well as xylem cell patterning [2,3]. However these results are highly heterogeneous among different species and focused, for most of them, on non-woody tissues. We performed a long term cold acclimation in controlled condition of young *Eucalyptus gundal* clones in order to unravel the regulation of xylem differentiation by low temperature. Based on the involvement of our team in the recent publication of *Eucalyptus* genome and the fine annotation of genes families related to wood formation [4], we observed that key genes related to SCW deposition and especially lignin biosynthesis were upregulated by cold. We confirmed by biochemical and histochemical analyses an induced lignification of immature sub-cambial xylem cells layers. Together, these results suggested that low temperature trigger a precocious differentiation of xylem cells leading to an increase in cell wall thickness and lignin deposition. The integrative analyses of transcriptomic and biochemical data allowed to point out several candidate genes, MYB and NAC transcription factors, potentially involved in stress induced SCW remodeling.

[1] A.D. Leslie (2012) *Applied Energy*, **89**, 176–182

[2] J. Domon (2013) *Phytochemistry*, **85**, 51–61

[3] J. Renaut (2004) *Plant biology*, **6**, 81–90

[4] A. Myburg (2014) *Nature*, in press

La biosynthèse de cellulose est fortement remaniée dans le bois de peupliers cultivés en présence d'ozone et/ou de fort CO₂

AFIF D., CABANE M.

UMR 1137 INRA – Université de Lorraine, Ecologie Ecophysiologie Forestières, BP70239, 54506 Vandoeuvre les Nancy

Les arbres doivent faire face à un environnement changeant notamment en ce qui concerne la composition atmosphérique. L'ozone et le CO₂ font partie des gaz dont la concentration ne cesse d'augmenter depuis l'ère industrielle. L'objet de ce travail est d'évaluer quels sont les mécanismes qui peuvent amener à la modification de la composition du bois face à ces changements atmosphériques. La réponse de deux types de bois est analysée : le bois de tension et le bois opposé formés lors d'une contrainte mécanique

Des jeunes plants de peupliers cultivés en présence de concentrations élevées d'ozone présentent une baisse de l'activité cambiale associée à une diminution de l'épaisseur des parois dans le bois opposé et le bois de tension. La biosynthèse de la cellulose est réduite conduisant à une modification de la balance cellulose / lignine en défaveur de la cellulose. De plus, les taux de transcrits des différents gènes *CesA* sont affectés de manière très différentes les uns de autres, suggérant un remaniement au niveau de la biosynthèse des microfibrilles. La synthèse de cellulose et de lignine pourraient être coordonnées, au niveau transcriptionnel, de façon à favoriser le composé conférant une meilleure résistance mécanique pour un coût en squelettes carbonés réduit. Le bois de tension semble être plus affecté que le bois opposé [1].

L'augmentation de la concentration en CO₂ atmosphérique stimule la croissance radiale de jeunes peupliers sans modification de l'épaisseur des parois. Cependant, la balance cellulose / lignine est modifiée. Un excès de squelettes carbonés semble conduire, dans ce cas, à une synthèse accrue de lignines. Le bois de tension est plus sensible à ces modifications que le bois opposé.

Ce projet bénéficie du soutien du Laboratoire d'Excellence ARBRE (ANR-12-LABXARBRE-01)

[1] Richet *et al.* (2011) *J. Exp. Bot.*, **62**, 3575-3586.

Etude des modifications de la paroi végétale au cours de l'application d'un stress hydrique chez le lin (*Linum usitatissimum L.*) et analyses du métabolome par RMN 1D

Hyacinthe LE GALL^a, Jean-Xavier FONTAINE^a, Roland MOLINIE^a, Jean-Marc DOMON^a, Malika CHABI^b, Catherine RAYON^a, François MESNARD^a, Jérôme PELLOUX^a, Anca LUCAU-DANILA^b, Françoise GILLET^a, Ophélie FLINIAUX^a.

^aEA 3900-BIOPI, Université de Picardie Jules Verne, 80000 Amiens, France.

^bUMR 1281 SADV, INRA/Université de Lille Nord de France, 59655 Villeneuve d'Ascq cedex, France

Dans le contexte du changement climatique, il devient nécessaire d'améliorer notre compréhension des stratégies utilisées par les plantes à s'adapter aux différents stress abiotiques, la sécheresse représentant l'un des principaux stress abiotiques. Le projet NoStressWall (ANR BIOADAPT 2012-2015) vise à apporter des données -omics à différentes échelles afin de comprendre les mécanismes mis en place au sein de la plante lors de l'application d'un stress hydrique.

L'étude du métabolome par RMN a été réalisée pour évaluer l'impact des conditions de stress sur les plantes (Kim *et al.*, 2011). Ici, les analyses du métabolome couplées à un traitement statistique multi-variée permettent de discriminer, pour chacun des organes de la plante (tige, feuilles et racines), deux populations. Les plantes stressées voient augmenter particulièrement leurs concentrations en proline et glycine. Ces deux métabolites sont impliqués dans la tolérance de la plante au stress hydrique en permettant d'ajuster le potentiel osmotique des cellules, de stabiliser les structures sub-cellulaires et de maintenir une efficacité photosynthétique (Ashraf & Foolad, 2007).

Par ailleurs, les premières données physiologiques et histologiques ont révélé que le stress hydrique impactait la croissance et le développement de la plante, en particulier au niveau de la paroi végétale. Celle-ci joue un rôle, notamment dans l'expansion et la croissance cellulaire. Les données transcriptomiques confirment des variations de l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse des différents polymères composant la paroi végétale. Les analyses biochimiques sont actuellement en cours.

[1] H. K. Kim *et al.* (2011) *Trends in Biotechnology*, **29**, 267–275.

[2] M. Ashraf and M. R. Foolad. (2007) *Environmental and Experimental Botany*, **59**, 206–216.

Development of a model to study lignin and cell wall metabolism during plant-Root-knot nematode interaction.

Fabien BALDACCI-CRESP^a, Laure TWYFFELS^b, Marjorie VERMEERSCH^{b,c}, David PÉREZ-MORGA^{b,c}, Janice DE ALMEIDA-ENGLER^{d,e,f}, Pierre ABAD^{d,e,f}, Mondher EL JAZIRI^a and Marie BAUCHER^a.

^a Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Biopole de Charleroi, Rue des Professeurs Jeener et Brachet, 12, B-6041 Gosselies, Belgium. ^b Center for Microscopy and Molecular Imaging-CMMI, Université Libre de Bruxelles (ULB), 6041 Gosselies, Belgium. ^c IBMM, Université Libre de Bruxelles, Biopole de Charleroi, Rue des Professeurs Jeener et Brachet, 12, B-6041 Gosselies, Belgium. ^d INRA UMR 6243 Interactions Biotiques et santé Végétale, 400 route des chappes BP167, F-06903 Sophia Antipolis, France. ^e CNRS UMR 1301 Interactions Biotiques et santé Végétale, 400 route des chappes BP167, F-06903 Sophia Antipolis, France. ^f Université de Nice Sophia-Antipolis, UMR Interactions Biotiques et santé Végétale, 400 route des chappes BP167, F-06903 Sophia Antipolis, France.

In their environment plant interact with numerous pathogen microorganisms. Root-Knot Nematodes such as *Meloidogyne incognita* are one of the most damaging pests with a broad host range infecting more than 5000 plant species from grasses to trees. Past few years, numerous studies concerning nematode infection and development in root tissue were well described on various annual plants.

Several metabolomic and genetic changes have been found to be induced during plant-RKN interaction. Among these, lignin metabolism modifications was recently identified in tomato, soybean and *Medicago truncatula* but not in *A. thaliana*. Therefore, although *A. thaliana* is a good model for lignin studies and plant-nematode interaction independently, it is not the appropriate model to study lignin metabolism during this pathogen interaction.

Based on these observations, we investigated whether poplar, another good model to study lignin and cell wall metabolism, was a sensitive host to RKN (*M. incognita*). If one of the major interest is to obtain a couple model for analysis of the lignin and cell wall metabolism, developing a model couple woody plant/ RKN is also important to best adapt research and apply results on various cultivated trees infected by RKN. The procedure and strategies to develop the model couple poplar-RKN will be presented in prevision to detailed studies on the importance of the cell wall and of phenylpropanoid metabolism for the development of the interaction.

Interactions entre ZmMYB31, lignification des parois et réponses à la sécheresse chez le maïs

Laetitia VIRLOUVET^a, Claude WELCKER^b, Michel ZIVY^c, Marie-Pierre JACQUEMOT^d, Hélène CORTI^c, Marie JAVELLE^e, Christophe SALLAUD^e, Matthieu REYMOND^d, François TARDIEU^b, Valérie MECHIN^d, Sylvie COURSOUL^d

^aUniversity of Nebraska Center for Biotechnology and Center for Plant Science Innovation, Lincoln 68588, USA ; ^bINRA, UMR 0759 Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, F-34060 Montpellier, France ; ^cCNRS, UMR 0320 Génétique Végétale, F-91190 Gif-sur-Yvette, France ; ^dINRA, UMR 1318 Institut Jean-Pierre Bourgin, F-78026 Versailles, France ; ^eBiogemma, Centre de Recherche, F-63720 Chappes, France.

Première céréale en termes de production mondiale, le maïs reste très vulnérable à la sécheresse durant l'été. Avec les conséquences néfastes du changement climatique, une meilleure connaissance des mécanismes mis en place par le maïs pour répondre à la sécheresse et la tolérer, est nécessaire pour mieux valoriser le potentiel de cette espèce et diminuer son impact sur l'environnement. Si la teneur en lignines des feuilles est un bon indicateur de la tolérance du maïs à la sécheresse [1], les effets de la sécheresse sur les parois végétales, et en particulier la mise en place des lignines, sont encore mal connus. Le gène *ZmMYB31* code un facteur de transcription R2R3-MYB du sous-groupe 4, dont la surexpression chez *Arabidopsis thaliana* régule l'expression d'un certain nombre de gènes de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes et des monolignols [2]. Nous avons montré que chez le maïs le gène *ZmMYB31* est induit par la sécheresse et colocalise avec des QTL de teneurs en lignines et de réponse de la croissance à la sécheresse. Pour mieux appréhender la fonction de *ZmMYB31*, nous avons produit des plantes de maïs surexprimant le gène *ZmMYB31* (*ZmMYB31*-OE). Les analyses conduites sur les feuilles des plantes *ZmMYB31*-OE de première génération, ont permis de sélectionner des plantes *ZmMYB31*-OE qui, sur la base de l'expression du gène *ZmMYB31* et de la teneur en monolignols libérés par thioacidolyse, montrent des différences significatives par rapport aux plantes sauvages. L'analyse de ces plantes *ZmMYB31*-OE en conditions hydriques contrastées permettra de progresser quant à notre compréhension de la relation entre lignification des parois et tolérance à la sécheresse chez le maïs.

Ce projet bénéficie d'une aide de l'Etat gérée par l'ANR au titre du programme Investissements d'avenir, appel à projet Biotechnologies Bioressources 2010 (projet AMAIZING ANR-10-BTBR-01), et d'une aide de FranceAgrimer.

[1] Y. Hu et al. (2009) *J. App. Genet.*, **50**, 213-223.

[2] S. Fornalé et al. (2010) *Plant J.*, **64**, 633-644.

Expression de polygalacturonases en système hétérologue

Fatima SADI, Olivier HABRYLO, Mélanie L'ENFANT, Jean-Marc DOMON, Jérôme PELLOUX, Corinne PAU-ROBLOT

^aUnité de Biologie des Plantes et Innovations EA3900

La paroi est responsable de l'immense diversité des formes et des tailles des cellules végétales et par conséquent, de la diversité chez les plantes. Toutefois, la paroi est plus qu'un support mécanique de la cellule, elle est aussi une source de signaux impliqués dans plusieurs processus physiologiques. Ainsi, la paroi doit être considérée comme un organite à part entière participant à la physiologie de la cellule. Pourtant, si la nature des composants de la paroi est assez bien connue, les mécanismes de biosynthèse et de modification des parois sont loin d'être élucidés. Parmi les composants principaux de la paroi végétale de type I on retrouve les pectines. Ces dernières sont constituées de 65% d'homogalacturonanes (HGA). Les HGA sont clivés au niveau de leur liaison osidique par les polygalacturonases (PGs). Ces enzymes naturellement présentes chez les plantes sont aussi sécrétées par des phytopathogènes favorisant la colonisation de l'hôte. *Botrytis cinerea*, un champignon responsable de la pourriture grise dans plus de 200 espèces de plantes en fait partie.

L'étude se porte sur trois PGs végétales d'*A. thaliana* et deux PGs de *B. cinerea*. Un clonage et des transformations dans un système d'expression hétérologue, *P. pastoris*, ont été réalisés. Une surexpression, dans le milieu de culture, des PGs est effectuée par une induction au méthanol toutes les 24h. Une précipitation suivie d'une dialyse nous permet d'effectuer une purification. Les tests d'activité sont réalisés par gel diffusion et par dosage colorimétrique.

3. Biosynthèse et architecture de la paroi, propriétés et fonctions des parois

Chemical and enzymatic fractionation of cell-walls from Fucales: insights into the structure of the extracellular matrix of brown algae

Estelle DENIAUD-BOUËT^a, Nelly KERVAREC^b, Gurvan MICHEL^a, Thierry TONON^a, Bernard KLOAREG^a, Cécile HERVÉ^a

^a CNRS/UPMC, UMR 8227 Integrative Biology of Marine Models, Station Biologique de Roscoff, CS 90074, F-29688 Roscoff cedex, France; ^b Service RMN-RPE, UFR Sciences et Techniques, Université de Bretagne Occidentale (UBO), Avenue Le Gorgeu, 29200 Brest, France

Brown algae are photosynthetic multicellular marine organisms evolutionary distant from land plants, with a distinctive cell-wall [1]. They feature carbohydrates shared with plants (cellulose), animals (fucose containing sulfated-polysaccharides, FCSPs) or bacteria (alginates). How these components are organised into a three-dimensional extracellular matrix (ECM) still remains elusive. The recent molecular analysis of the corresponding biosynthetic routes point toward a complex evolutionary history that shaped the ECM structure in brown algae [2]. We performed exhaustive sequential extractions and composition analyses of cell-wall material from various brown algae of the Fucales order. Dedicated enzymatic degradations were used to release and identify cell-wall partners. Systematic chromatographic analysis were used to further studying polymer interlinks. An additional structural assessment of the sulfated fucan extracted from *Himanthalia elongata* was made. Our results indicate that FCSPs are tightly associated to proteins and cellulose within the walls. Alginates are associated to most phenolic compounds. The sulfated fucans from *Himanthalia elongata* were shown to have a regular α -(1→3) backbone structure, while an alternating α -(1→3),(1→4) structure has been described in some brown algae from the order of Fucales. Our data provide a global snapshot of the cell-wall architecture in brown algae [3]. It contributes to the understanding of the structure-function relationships of the main cell-wall components. Enzymatic cross-linking of alginates by phenols may regulate the strengthening of the wall, and sulfated polysaccharides may play a key role in the adaptation to osmotic stress. The emergence and evolution of ECM components is further discussed in relation to the evolution of multicellularity in brown algae.

[1] Z. Popper et al. (2011) *Annual Review of Plant Biology*, **62**, 567-590.

[2] G. Michel et al. (2010) *New Phytol.*, **188**, 82-97.

[3] E. Deniaud-Bouët et al. (2014) *Annals of Botany*, *In press*

Glycochip and surface plasmon resonance to study plant cell wall biosynthesis

Olivier LEROUXEL^a, Félix CICÉRON^a, Raphaël MATHEY^b, André ROGET^b, Thierry LIVACHE^b, Christelle BRETON^a

^a Univ. Grenoble Alpes, CERMAV, CNRS, F-38000 Grenoble, France

^b Univ. Grenoble Alpes, CREAB, INAC CEA Grenoble, UMR SPrAM 5819, F-38000 Grenoble, France

The plant cell wall provides mechanical support to the plant but could also be envisioned as a renewable resource with neutral carbon impact for industry. It is mostly composed of polysaccharides (cellulose, hemicellulose and pectins), proteins and aromatic compounds. Despite their dominating importance in the plant cell wall composition, the biosynthesis of the plant cell polysaccharides is still poorly known. Plant polysaccharides are synthesized by Glycosyltransferases (GTs), a ubiquitous class of enzymes that link a monosaccharide onto an acceptor, but these enzymes are difficult to identify and even more to characterize. Accordingly, we sought to develop a method adapted to screen out putative acceptor molecule for GTs. Indeed, gathering informative data about the putative acceptor of a GT by testing dozen of them in minute's experimental procedures would greatly simplify the matrix of test actually needed to characterize a GT function. To this aim, a glycochip harboring plant cell wall oligosaccharide covalently bound to a gold surface was then synthesized by the CREAB lab in CEA Grenoble [1]. Using surface plasmon resonance (SPR) technology, we investigated to monitor whether a purified and biochemically characterized GT (AtFUT1) would be able to interact specifically with the oligosaccharide structure related to its biosynthetic activity at a detectable level. Results for glycochip trial will be discussed.

[1] *Microwave Heating for the Rapid Generation of Glycosylhydrazides*. Malleuvre F, Roget A, Minon T, Kervella Y, Ropartz D, Ralet MC, Canut H, Livache T. *Bioconjugate Chemistry* **24** (2013) 1264-1269

Etablissement d'équations NIRS (spectrométrie proche infra-rouge) pour la quantification haut débit des caractéristiques pariétales et de la dégradabilité de la lignocellulose pour différents organes chez le maïs.

Yves GRIVEAU^a, Sylvain LEGAY^a, Marie-Pierre JACQUEMOT^a, Aurélie BALDY^a, Catherine LAPIERRE^a, Frédéric LEGEE^a, Laurent CEZARD^a, Geoffroy LESCURE^a, Grégory MOUILLE^a, Valérie MECHIN^a et Matthieu REYMOND^a.

^a *Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Centre de Versailles-Grignon, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex France.*

Des lignées de maïs contrastées pour la dégradabilité de la paroi ont été cultivées au champ en différents lieux, en France en 2012 et 2013. Des poudres de plantes entières sans épi et d'entre-nœuds au stade ensilage ont été obtenues. Une sélection de poudres a été réalisée sur la base de la diversité des spectres proche infra-rouge (NIRS pour Near InfraRed Spectrometry). Pour ces poudres sélectionnées, des analyses biochimiques de la composition pariétale (lignine Klason, hydrolyses alcalines douces et fortes, thioacydolyse,...) et de la dégradabilité (cellulolyse) ont été effectuées afin d'établir des équations NIRS. La précision du pouvoir prédictif de ces équations sera présentée. Ces prédictions ouvrent la voie à la quantification haut débit de la composition pariétale et de sa dégradabilité, permettant l'étude des déterminismes génétiques qui sous-tendent les variations observées dans des populations de maïs.

Séparation, purification et analyse structurale des différentes fractions polysaccharidiques du mucilage de graines de lin (*Linum usitatissimum*)

DUCHENE Julie, EL BOUTACHFAITI Redouan, QUERO Anthony, ROULARD Romain, MOLINIE Roland, COURTOIS Josiane, MESNARD François, PETIT Emmanuel.
Université de Picardie Jules Verne, EA-3900 Biologie des Plantes & Innovation, 80000 Amiens Cedex, France

Les graines de lin (*Linum usitatissimum*), accumulent pendant leur développement des polysaccharides, tel que le mucilage dans la couche épidermique des téguments. Lorsque les graines matures sont imbibées, l'hydratation de ces polysaccharides conduit à une augmentation de leur volume. Cette augmentation entraîne la rupture de la paroi externe des téguments et permet la formation d'un halo visqueux de mucilage autour de la graine. Des études antérieures ont montré que le mucilage des graines de lin présente une organisation précise structurée en domaines et en couches. Ces structures diffèrent par leur composition polysaccharidique et contribuent à des fonctions physiologiques bien distinctes [1]. Ainsi, la qualité adhésive du mucilage serait impliquée dans la dispersion des graines, dans l'ancrage des semences aux particules du sol et dans le contrôle de la germination. La structure et la composition du mucilage non adhérent de la couche externe, elle, se distingue par sa composition riche en pectines de type rhamnogalacturonane I (RG I) et en arabinoxylanes (AX) [2]. Les dérivés pectiques sont connus pour être dégradés par les enzymes bactériennes et fongiques du sol. Les oligosaccharides générés par cette dépolymérisation du mucilage non adhérent favorisent la croissance des semis *via* l'amélioration de la qualité de la rhizosphère.

L'objectif de ce travail est de mieux connaître la composition structurale des différents polysaccharides qui composent le mucilage hydrosoluble chez le lin. Pour cela, une extraction du mucilage à partir d'une variété de graines de lin commerciale a été réalisée dans l'eau à une température de 80 °C et à pH 6,5-7. Le mucilage extrait a été purifié par ultrafiltration. Après lyophilisation, l'utilisation d'une colonne de chromatographie d'échange d'anions a permis d'obtenir deux fractions neutres (AX) et cinq fractions acides (RGI). L'analyse de ces différentes fractions (composition chimique et type de liaisons des monosaccharides constitutifs) a été réalisée par GC-MS et par RMN. La détermination de leur masse moléculaire a été obtenue par SEC-MALLS. L'ensemble de ces résultats, doit nous permettre d'envisager la production d'un large panel d'oligosaccharides différents (taille, degré de polymérisation, substitution, ...) pour évaluer leur impact sur la croissance, la germination et la qualité des graines.

[1] R. Naran *et al.* (2008) *Plant Physiol.*, **148**, 132-142.

[2] J. Warrand *et al.* (2003) *Chromatographia.*, **58**, 331-335.

Détermination de la composition biochimique des parois du bois de douglas par une nouvelle technique d'analyse

Idelette PLAZANET^a, Vincent GLOAGUEN^a, Guy COSTA^a

^a *Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles (EA 1069) Faculté des Sciences et Techniques, 123 Avenue Albert Thomas 87060 Limoges Cedex France.*

Le bois est principalement composé de parois de cellules végétales. Afin de valoriser cette ressource ligno-cellulosique, il est important de connaître plus précisément sa composition biochimique. Cette étude a donc été menée sur du bois de douglas d'une vingtaine d'années à l'aide d'une nouvelle technique qui repose sur la dissolution du matériau dans des liquides ioniques (ILs). Les ILs sont des solutions salines dont le point de fusion est inférieur à 100°C [1]. Il a déjà été montré que certains ILs, tels que l'acétate de 1-éthyl-3-méthyl imidazolium ([Emim]-OAc), avaient la capacité de déstructurer le bois [2]. Une fois le bois dissout dans les ILs, les solutions obtenues sont analysées par des méthodes immunologiques (ELISA) avec des anticorps monoclonaux dirigés contre des épitopes de composés pariétaux [3]. Cette nouvelle technique a été précédemment validée sur du bois de noyer par comparaison avec une extraction séquentielle conventionnelle suivie d'une analyse par Dot-Blot [4]. Dans ce travail, nous avons cherché à appliquer cette technique à l'analyse de la composition biochimique en polymères pariétaux des cellules présentes dans chaque cerne de bois de douglas à partir d'un prélèvement issu d'une carotte de 0,5 cm de diamètre. Cette étude a ainsi permis de mettre en évidence la composition en polymères pariétaux du bois de douglas.

[1] T. Welton (1999) *Chem. Rev.*, **99**, 2071–2084

[2] N. Sun *et al.* (2009) *Green Chem.*, **11**, 646–655

[3] S. Pattathil *et al.* (2010) *Plant. Physiol.*, **153**, 514–525.

[4] *Publication en cours* : I. Plazanet *et al.*

Analyse du métabolome du lin (*Linum usitatissimum*) surexprimant le gène férulate 5-hydroxylase.

Anthony QUERO¹, Emma STEPINAC¹, Marie-Aude TRIBALAT¹, Cédric DECOURTIL¹, Roland MOLINIE¹, Jean-Xavier FONTAINE¹, Ophélie FLINIAUX¹, Rebecca DAUWE¹, Christophe PINEAU², Eric LAINE³, Christophe HANO³, Simon HAWKINS⁴, Brigitte CHABBERT⁵ et François MESNARD¹.

¹ Laboratoire de BIOlogie des Plantes et Innovation (EA 3900) UPJV, IUT/GB, Avenue des Facultés, Le Bailly, 80025 Amiens Cedex, France.

² Linea Semences de Lin, Bâtiment Serres-Transfert, Pas du Sourire d'Avril, rue d'Allery, 80000 Amiens, France.

³ Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures UPRES EA 1207, Antenne Scientifique Universitaire de Chartres, 21 rue de Loigny la Bataille F-28000 Chartres, France.

⁴ UMR INRA N°1281 Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés UFR de Biologie, Bât SN2 Université de Lille 1 59655 Villeneuve d'Ascq cedex1.

⁵ INRA, UMR614 Fractionnement des AgroRessources et Environnement, 2 Esp R Garros, 51100 Reims, France.

La lignine est un hétéropolymère aromatique constitué d'unités hydroxyphényles (H), guaïcyles (G) et syringyles (S). Ce biopolymère dérivé de la voie des phénylpropanoïdes participe au port érigé de la plante et représente une barrière importante à la progression des pathogènes. Bien qu'il joue un rôle essentiel au développement des végétaux, sa présence dans la paroi des végétaux constitue un frein à la valorisation des plantes cultivées [1,2]. Chez le lin (*Linum usitatissimum*), malgré les faibles teneurs retrouvées (moins de 5%), la présence de lignine limite la séparation de la fibre lors de l'étape du rouissage. Afin de faciliter la valorisation du lin fibre, il est donc nécessaire de mieux appréhender les régulations qui s'opèrent lors de la formation de ce biopolymère [3].

Dans cette démarche, des plantes de lin ont été modifiées génétiquement afin de surexprimer le gène impliqué dans la production de la férulate 5-hydroxylase (F5H). L'enzyme F5H est impliquée dans la voie de biosynthèse de la lignine en permettant notamment la conversion du coniférylaldéhyde en 5-hydroxy-coniférylaldéhyde. L'objectif de cette étude est de voir si cette transformation peut favoriser la synthèse d'unités S chez le lin et moduler les contenus en lignine et en lignanes, alors que cette espèce est majoritairement constituée d'unités G à l'état naturel [4].

[1] Vanholme R et al., *Curr Opin Plant Biol*, 2008, vol. **11**, pp. 278-285.

[2] Boudet A-M, *Plant Physiol Biochem*, 2000, vol. **38**, pp. 81-96.

[3] Huis R et al., *Plant Physiol*, 2012, vol. **158**, pp. 1893-1915.

[4] Stewart J.J et al., *Plant Physiol*, 2009, vol. **150**, pp. 621-635.

Identification et caractérisation des gènes de la voie de biosynthèse de la lignine chez le lin (*Linum usitatissimum*)

Julien LE ROY^a, Anne Sophie BLERVACQ^a, Christophe HANO^b, Simon HAWKINS^a, Godfrey NEUTELINGS^a

^aUMR INRA 1281 SADV, Université de Lille 1, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex ; ^bLBLGC, UPRES EA 1207, Université d'Orléans, 28000 Chartres.

La lignine est un polymère ayant une composition variable selon les espèces et les types cellulaires. Elle aurait permis la conquête de la surface terrestre par les trachéophytes car elle contribue notamment à la rigidité cellulaire et donc au port dressé chez les végétaux. La lignine est synthétisée lors de la mise en place de la paroi secondaire et finit généralement par imprégner l'ensemble de la paroi y compris la lamelle moyenne représentant ainsi environ 25% de sa masse sèche. Il existe toutefois quelques exceptions concernant par exemple des structures jouant un rôle dans la régulation mécanique des organes [Neutelings, 2011 *Plant Science* 113, 275-284]. Parmi celles-ci, les fibres longues situées en périphérie du phloème dans les tiges de plantes telles que le lin (*Linum usitatissimum*) contiennent des quantités très faibles (environ 3%) de ces polymères polyphénoliques. Nous cherchons ainsi à savoir quels sont les mécanismes moléculaires qui régulent le dépôt de lignine dans ces tissus. Dans un premiers temps, il a été nécessaire d'identifier les gènes de lin responsables de la production des monolignols qui seront ensuite intégrés dans la lignine après polymérisation dans la paroi. Nous avons ainsi profité de la publication récente du génome du lin [Wang et al. (2012) *Plant J.*, **72**, 461-473] pour caractériser les familles multigéniques intervenant dans le métabolisme des phénylpropanoïdes notamment au niveau de leur profils d'expression. Par la suite, les expressions spatiales de certains gènes ont été caractérisées par hybridation *in situ* confirmant ainsi leur implication très probable dans la lignification chez le lin.

Mucilage attachment to *Arabidopsis* seeds provides evidence of a novel link between cellulose and pectin

Marie-Christine RALET^a, Marie-Jeanne CREPEAU^a, Jacqueline VIGOUROUX^a, Joseph TRAN^b, Adeline BERGER^b, Christine SALLE^b, Lucy BOTRAN^b, Helen M. NORTH^b

^aINRA, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, F-44316 Nantes, France; ^bINRA AgroParisTech, Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318, Saclay Plant Sciences, F-78026 Versailles, France.

In certain plant species, including *Arabidopsis*, seed coat epidermal cells accumulate a large quantity of polysaccharides that are released as mucilage upon imbibition. Once released, *Arabidopsis* seed coat mucilage appears as two distinct layers, the outer non-adherent composed of unsubstituted rhamnogalacturonan I (RG-I), and the inner adherent one mainly made of RG-I and cellulose. *CELLULOSE SYNTHASE5* and *MUCILAGE-MODIFIED (MUM)5* have both been shown to be required for anchoring the mucilage pectin to the seed coat surface [1-5]. The identity and molecular role of *MUM5* remained however to be determined. A comparison of sequentially extracted seed mucilage polysaccharides from *cesa5* and *mum5* mutants was carried out. Outer soluble mucilage was recovered by gentle water extraction at room temperature. The remaining seeds devoid of outer soluble layer were then treated by rhamnogalacturonan hydrolase in order to recover inner adherent layer components. Both mutants showed a redistribution of pectic mucilage from the inner adherent layer to the outer soluble one compared to the wild type. *cesa5* further showed a clear reduction in cellulose content, whereas *mum5* had a wild-type cellulose content, but had reduced Xyl contents in the outer mucilage layer. Accordingly, *MUM5* was identified as a putative xylosyltransferase. Biochemical and *in vitro* binding assay data demonstrated that xylan chains are attached to RG-I chains and mediate the adsorption of mucilage to cellulose microfibrils. The importance of having both a correctly synthesized cellulose scaffold and pectin structure will be discussed with regard to mucilage partitioning into outer soluble and inner adherent layers.

[1] Western *et al.* (2001) *Plant Physiol.*, **127**, 998-1011; [2] Macquet *et al.* (2007) *Plant Cell Physiol.*, **48**, 984-999; [3] Harpaz-Saad *et al.* (2011) *Plant J.*, **68**, 941-953; [4] Mendu *et al.* (2011) *Plant Physiol.*, **157**, 441-453; [5] Sullivan *et al.* (2011) *Plant Physiol.*, **156**, 1725-1739.

Functional characterization of *Arabidopsis thaliana* pectin acetyltransferase during plant growth development

Florian PHILIPPE^a, Soraya DROUCHE^a, Esther BURLOT^a, Jean-Marc DOMON^a, Sophie BOUTON^a, Laurent GUTIERREZ^b, Jérôme PELLOUX^a and Catherine RAYON^a

^a EA3900-BIOPi, Biologie des Plantes et Innovation Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France.

^b Centre de Ressources Régionales en Biologie Moléculaire, Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France

The primary plant cell wall is important for the plant growth. The primary cell wall of dicotyledons consists of cellulose primarily cross-linked by xyloglucans and embedded in a complex matrix of pectic polysaccharides and proteins. Pectins are complex polysaccharides, rich in galacturonic acids (GalA) which comprise three main domains: Homogalacturonan (HG), Rhamnogalacturonan-I (RG-I) and minor amounts of Rhamnogalacturonan-II (RG-II). HG, composed of α -1,4-linked-D-galacturonic acid units, can be methylesterified at the C-6 carboxyl and/or acetylated at the O-2 and/or O-3 residues of HG and RGI. HG is synthesized from nucleotide sugars in the Golgi apparatus, and then secreted as methylesterified and acetylated form into the cell wall where its structure can be de-esterified by cell wall enzymes, pectin methylesterases (PMEs) and pectin acetyltransferases (PAEs). The function of pectin methylesterification has been well studied. Despite the presence of O-acetyl-groups on pectin polysaccharides, few data exists on the biological function of pectin acetylation in plant [1]. Here we report preliminary results of the *Arabidopsis thaliana* PAE gene expression during plant development using a multidisciplinary approach, including *in silico* analysis, transcriptomic analysis, protein subcellular localization, enzyme activity assay, enzymatic fingerprinting and 3D homology modeling.

[1] JY. Gou *et al.*, (2012) *Plant Cell.*, **24**, 50-65.

Analyse fonctionnelle des gènes de cellulose synthase chez le lin par virus-induced gene silencing

M.CHANTREAU^a, B.CHABBERT^b, S.BILLIARD^c, S.HAWKINS^a, G.NEUTELINGS^a

^a Université Lille Nord de France, Lille 1 INRA UMR 1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés, Villeneuve d'Ascq F-59650, France. ^b Université de Reims Champagne-Ardenne, UMR614 Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims F-51100, France. ^c Université Lille Nord de France, Lille 1, UMR CNRS 8198 Laboratoire de Génétique & Evolution Population Végétales, Villeneuve d'Ascq F-59650, France.

Les fibres périphloémiennes de lin (*Linum usitatissimum* L.) sont localisées dans le parenchyme cortical de la tige où elles jouent un rôle dans le support mécanique de la plante. Ces fibres fortement cellulosiques sont utilisées dans l'industrie du textile et des matériaux composites. Nous avons identifié, au sein du génome du lin, 14 gènes distincts de cellulose synthase (*CESA*) grâce à des séquences orthologues précédemment identifiées. Des analyses phylogénétiques ont permis de classer ces enzymes en 5 groupes. Aucune séquence de lin n'a pu être assignée au clade 7 des *CESA*, connu comme étant impliqué dans la formation de la paroi secondaire. Des mesures d'expression de *CESA* ont permis de mettre en évidence une expression préférentielle de certains gènes dans des organes ou tissus de la tige, fournissant ainsi certaines indications sur leurs rôles *in-planta*.

Le développement, pour la première fois chez le lin, d'une approche d'inactivation génique par VIGS (*Virus Induced Gene Silencing*) a permis d'évaluer fonctionnellement l'implication des différents clades *CESA* dans les tissus de la tige. La quantification de l'accumulation de transcrits montre que dans la plupart des cas, l'inactivation n'affecte pas uniquement le clade ciblé, mais présente aussi un impact sur les autres clades. Indépendamment du clade ciblé, l'inactivation des *CESA* affecte la croissance de la plante. En revanche, l'organisation des tissus de la tige et la formation des parois secondaires sont uniquement perturbées par l'inactivation des clades 1 et 6. Chez ces plantes, les fibres périphloémiennes sont sévèrement impactées suggérant un rôle important des gènes ciblés dans la formation de la paroi de la fibre. Nos résultats fournissent de nouvelles informations fondamentales sur la biosynthèse de la cellulose chez le lin qui pourront par la suite faciliter l'amélioration variétale de cette espèce d'intérêt.

4. Utilisation de la paroi :

Biomasse – Bioénergie –

Matériaux – Aliments - Santé

Towards medium throughput methods for the analysis of biomass composition and histology

Geoffroy LESCURE^a, Catherine LAPIERRE^a, Grégory MOUILLE^a, Matthieu REYMOND^a, Valérie MÉCHIN^a, Sylvain LEGAY^a, Yves GRIVEAU^a, Delphine LUQUET^b, Anne Clément VIDAL^b, Sylvie JAFFUEL^b, Denis BASTIANELLI^b, Stéphanie ARNOULT^c, Maryse BRANCOURT^c, David LEGLAND^{d,e}, Herman HÖFTE^a

^a Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles, France

^b CIRAD, Avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5, France

^c INRA Lille, 2 chaussée Brunehaut, Estrée-Mons BP50136, 80208 Péronne CEDEX, France

^d INRA, UNMR782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, 78850 Thiverval-Grignon, France

^e AgroParisTech, UMR782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, 78850 Thiverval-Grignon, France

BFF is a french "stimulus initiative" project (from 2012 to 2020) aiming at developing dedicated biomass feed stocks for industrial uses. BFF focuses on three C4 feed stocks, Miscanthus, Sorghum and Maize, known for their high biomass yield potential and genetic relatedness.

BFF combines R&D in agronomy and logistics, genomics and plant breeding with R&D in material science to develop new feed stocks and industrial uses for the biomass.

One aim of BFF is to adapt the biomass composition to the industrial uses. This requires medium- to high-throughput chemical and histological phenotyping techniques: HPLC, UV spectrometry, Pyrolysis-GC/MS, NIRS and microscopy

[1] Brutnell T P *et al.* (2010), *Plant Cell*, **22**, 2537-2544.

[2] Hatfield *et al.* (2005), *Crop Sci.*, **45**, 832-839.

[3] Lin Du *et al.* (2013), *IJCRE*, **11(1)**, 1-11.

[4] Zhang *et al.* (2013), *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 3186-3192.

Étude de la dégradation pariétale au cours du rouissage du lin

Christophe DJEMIEL^a, Sébastien GREC^a, Simon HAWKINS^a,

^aUMR INRA N°1281 (SADV) - Université Lille I - Sciences et technologies - UFR de Biologie, Bât SN2
Université de Lille 1 59655 Villeneuve d'Ascq cedex - France

La culture du lin (*Linum usitatissimum* L.) huile et fibres est économiquement très importante. L'huile extraite des graines de lin est considérée comme une source riche en acide gras omega-3, acide α -linoléinique (ALA), mais contient aussi des lignanes biologiquement actives ayant des effets bénéfiques sur la santé humaine. Les plantes de lin sont également riches en fibres cellulosiques (Bast fibers) traditionnellement utilisées dans l'industrie du textile. Ces fibres peuvent aussi être utilisées dans le renforcement de polymères composites ou comme substitut écologique pour les fibres de verre [1]. La qualité des textiles et des matériaux composites est directement impactée par la qualité des fibres végétales arrivant à l'usine. La qualité de la fibre est-elle même influencée au cours de la croissance de la plante mais aussi lors de l'extraction de la fibre, correspondant à la première étape dans la transformation industrielle des fibres végétales.

Cette première étape de transformation se déroule au cours du rouissage sur champ. Lors de la récolte les tiges sont arrachées (avec les racines) et sont directement déposées sur le sol en andains. L'alternance de pluies et de chaleurs combinées au développement et à l'action des microorganismes du sol favorise la séparation des fibres cellulosiques des tiges grâce à l'hydrolyse des polymères de la paroi cellulaire (hémicelluloses, pectines...). Malgré plusieurs études de ce procédé [2,3,4], on sait relativement peu de chose sur i) la composition des populations de la microflore, ii) la cinétique de la colonisation microbienne de la matière végétale, iii) l'évolution de la population microbienne du sol. Le rouissage sur champ reste une 'boîte noire', et notre manque actuel de connaissance de ce processus représente un obstacle majeur pour un rouissage plus efficace.

Dans le cadre d'un projet français, visant à la 'Structuration de la filière Fibres techniques d'Origine végétale pour usages matériaux' (SINFONI), nous utiliserons une approche de "Méta-Barcoding" afin d'entreprendre le premier inventaire complet ainsi qu'une étude cinétique des populations microbiennes impliquées dans le rouissage du lin. Par la suite, une approche de méta-génomique fonctionnelle nous permettra également d'identifier les principales fonctions enzymatiques liées à la dégradation de la paroi cellulaire.

Cette étude représente la première caractérisation taxonomique et fonctionnelle exhaustive du processus de rouissage du lin et nous permettra d'identifier une gamme de marqueurs biologiques qui pourraient être utilisées pour améliorer le processus d'extraction et donc la qualité de la fibre.

[1] Martin *et al.*, (2013). *Industrial Crops and Products*, 49, 755–767. doi:10.1016/j.indcrop.2013.06.012

[2] Danny E. Akin, *ISRN Biotechnology*, vol. 2013, Article ID 186534, 23 pages, 2013.

[3] Baley C, *Applied Science and Manufacturing* 2002, 33:939,Äi948.

[4] Henriksson *et al.*, (1997), *Applied and Environmental Microbiology*, 63(10), 3950–6.

Role of maize stem lignin structure on enzymatic hydrolysis of associated carbohydrates

M.H. SIPPONEN^{a,b}, S. LAAKSO^a, S. BAUMBERGER^b

^aAalto University, School of Chemical Technology, Department of Biotechnology and Chemical Technology, Espoo, Finland, PO BOX 16100 FI-00076 Aalto, mika.sipponen@aalto.fi; ^bAgroParisTech, UMR 1318 Institut Jean-Pierre Bourgin, F-78000 Versailles

Cellulose is known to be encompassed by lignin-carbohydrate network (LCN), comprising covalent linkages between the components.^[1] Lignins enriched in aryl-ether linkages have been suggested detrimental to *in vitro* digestibility of maize (*Zea mays* L) cell walls.^[2] However, the effect of lignin heterogeneity and lignin-carbohydrate interactions on enzymatic hydrolysis of associated carbohydrates has not been elucidated. Here, high intensity ball milling of maize stem extractive free material was carried out in order to decompose its LCN before enzymatic hydrolysis using a commercial cellulase preparation Onozuka R-10. A high proportion (41%) of arabinoxylan enriched in arabinose branches remained unhydrolyzed even when 92% hydrolysis of cellulose was obtained. Contrary to earlier indications with wood,^[1] maize stem lignin was not severely degraded in ball milling, as evidenced by thioacidolysis/GC-MS analysis of the residues from the Onozuka R-10 treatment. In order to better understand the role of LCN in enzymatic hydrolysis, two lignin-carbohydrate (LC) fractions isolated from maize stem were treated with Onozuka R-10. The LC1 and LC2 contained structurally distinct lignins, stemming from sequential room temperature alkaline extraction before (0.5 M NaOH) and after (2 M NaOH) endoglucanase treatment.^[3] High-performance anion exchange chromatography (HPAEC) analysis of the monosaccharides released by Onozuka R-10 revealed that unlike carbohydrates of LC2 that were completely hydrolyzed, a carbohydrate fraction of LC1 resisted enzymatic hydrolysis. This resistant fraction was likely associated with lignin via hydroxycinnamic acids. High-performance size-exclusion (HPSEC) analysis of the hydrolysis residues of LC1 and LC2 showed aggregation of lignins and revealed that carbohydrate removal can be tracked using relative double detection. These results suggest that the more branched hemicelluloses and the less branched lignins form together the first barrier to enzymatic hydrolysis of cell walls.

[1] A. Guerra *et al.* (2006) *J. Agric. Food. Chem.*, **54**, 5939-5947.

[2] Y. Zhang *et al.* (2011) *J. Agric. Food. Chem.*, **59**, 10129-10135.

[3] M.H. Sipponen *et al.* (2013) *Biores. Technol.*, **133**, 522-528.

Participants



Nom	Prénom	Unité de recherche	Adresse électronique	Conférence/Poster
AFIF	Dany	UMR 1137 EEF INRA, Université de Lorraine	dany.afif@univ-lorraine.fr	P10
BALDACCI-CRESP	Fabien	Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles	fbaldacc@ulb.ac.be	C5 ; P12
BALDY	Aurélie	IJPB UMR1318, INRA Versailles	aurelie.baldy@versailles.inra.fr	P17
BAUCHER	Marie	Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles	mbaucher@ulb.ac.be	C5 ; P12
BAUMBERGER	Stéphanie	IJPB UMR1318, INRA Versailles	stephanie.baumberger@agroparistech.fr	P27
BERGER	Adeline	IJPB UMR1318, INRA Versailles	adeline.berger@versailles.inra.fr	C7 ; P22
BONNET	Jean-Pierre	LRCS UMR CNRS 7314, Université de Picardie	jean-pierre.bonnet@u-picardie.fr	C25
BOUTON	Sophie	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	sophie.bouton@u-picardie.fr	C2 ; P1 ; P8 ; P23
BUFFETTO	Fanny	BIA, INRA Nantes	fanny.buffetto@nantes.inra.fr	C1
CABANE	Mireille	UMR 1137 EEF INRA, Université de Lorraine	mireille.cabane@univ-lorraine.fr	
CAILLEU	Dominique	Plateforme Analytique, Université de Picardie	dominique.cailleu@u-picardie.fr	C25
CHABBERT	Brigitte	UMR 614 FARE, INRA Reims	chabbert@reims.inra.fr	C18 ; C26 ; P3 ; P20 ; P24
CHANTREAU	Maxime	UMR, SADV, INRA/USTL 1281, Université Lille1	maxime.chantreau@ed.univ-lille1.fr	C12 ; C18 ; P24
CHATEIGNER-BOUTIN	Anne-Laure	BIA, INRA Nantes	anne-laure.chateigner-boutin@nantes.inra.fr	C19 ; P4
CICERON	Félix	CERMAV, Université Grenoble Alpes	felix.ciceron@cermav.cnrs.fr	C16 ; P16
COURSOL	Sylvie	IJPB UMR1318, INRA Versailles	sylvie.coursol@versailles.inra.fr	P13

CREACH	Anne	UMR SADV 1281, Université Lille1	anne.creach@univ-lille1.fr	P7
CZJZEK	Mirjam	UMR8227, CNRS Roscoff	czjzek@sb-roscoff.fr	
DECOURTIL	Cédric	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	cedric.decourtill@u-picardie.fr	P3 ; P20
DEJARDIN	Annabelle	AGPF, INRA Orléans	annabelle.dejardin@orleans.inra.fr	
DHEILLY	Emmanuelle	BIA, INRA Nantes	emmanuelle.dheilly@nantes.inra.fr	C22
DJEMIEL	Christophe	UMR SADV 1281, Université Lille1	christophe.djemiel@gmail.com	P26
DOBOSZ	Simon	UMR 614 FARE, INRA Reims	simon.dobosz@reims.inra.fr	C24
DOMON	Jean Marc	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	jean-marc.domon@u-picardie.fr	P5 ; P9 ; P11 ; P14 ; P23
DRIOUICH	Azeddine	Glyco-MEV EA4358, Université de Rouen	azeddine.driouich@univ-rouen.fr	
DUMONT	Marie	Glyco-MEV EA4358, Université de Rouen	marie.dumont@etu.univ-rouen.fr	C17
EL BOUTACHFAITI	Redouan	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	redouan.elboutachfaiti@u-picardie.fr	P18
FOURNET	Françoise	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	francoise.fournet@u-picardie.fr	C2 ; P8
FRANCIN-ALLAMI	Mathilde	BIA, INRA, Nantes	mathilde.allami@nantes.inra.fr	C21
FRANCOZ	Edith	UMR5546 UPS/CNRS, LRSV, Toulouse	francoz@lrsv.ups-tlse.fr	C9
GILLET	Françoise	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	francoise.gillet@u-picardie.fr	P11
GINEAU	Emilie	IJPB UMR1318, INRA Versailles	emilie.gineau@versailles.inra.fr	
GONNEAU	Martine	IJPB UMR1318, INRA Versailles	martine.gonneau@versailles.inra.fr	P2
GONTIER	Eric	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	eric.gontier@u-picardie.fr	
GOSELIN	Isabelle	GEC, FRE-CNRS 3580, Université de Picardie		C23

GOULAS	Estelle	UMR SADV 1281, Université Lille1	estelle.goulas@univ-lille1.fr	C12
GRIVEAU	Yves	IJPB UMR1318, INRA Versailles	yves.griveau@versailles.inra.fr	P27 ; P25
GUERINEAU	François	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	francois.guerineau@u-picardie.fr	C4
GUILLON	Fabienne	BIA, INRA, Nantes	fabienne.guillon@nantes.inra.fr	C1 ; C21 ; P4
HABRYLO	Olivier	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	olivier.habrylo@u-picardie.fr	P5 ; P14
HANO	Christophe	LBLGC EA 1207, Université d'Orléans	hano@univ-orleans.fr	C20 ; P20 ; P21
HARRIS	Philip J	School of Biological Sciences, The University of Auckland	p.harris@auckland.ac.nz	Introduction
HAWKINS	Simon	UMR SADV 1281, Université Lille1	simon.hawkins@univ-lille1.fr	C12 ; C18 ; P7 ; P20 ; P21 ; P24 ; P26
HERVE	Cécile	UMR8227, CNRS Roscoff	cherve@sb-roscoff.fr	P15
HOCQ	Ludivine	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	ludivine.hocq@u-picardie.fr	C4
HÖFTE	Herman	IJPB UMR1318, INRA Versailles	herman.hofte@versailles.inra.fr	P1 ; P2 ; P25
HO-YUE-KUANG	Séverine	BIA, INRA Nantes	marie-severine.ho-yue-kuang@nantes.inra.fr	C19
HULIN	Lise	GEC, FRE-CNRS 3580, Université de Picardie	lise.hulin@u-picardie.fr	C25
HUSS	Brigitte	UMR SADV 1281, Université Lille1	brigitte.huss@univ-lille1.fr	P7
HUSSON	Eric	GEC, FRE-CNRS 3580, Université de Picardie	eric.husson@u-picardie.fr	C23 ; C25
JACQ	Adélaïde	UMR5546 UPS/CNRS, LRSV, Toulouse	adelaide.jacq@lrsv.ups-tlse.fr	C3
JACQUEMOT	Marie-Pierre	IJPB UMR1318, INRA Versailles	mpjacquemot@versailles.inra.fr	P13 ; P17

JAMALI	Arash	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	arash.jamali@u-picardie.fr	C14
JOUANIN	Lise	IJPB UMR1318, INRA Versailles	lise.jouanin@versailles.inra.fr	
KUREK	Bernard	UMR 614 FARE, INRA Reims	bernard.kurek@reims.inra.fr	
LAURENT	Gutierrez	CRRBM, Université de Picardie	laurent.gutierrez@u-picardie.fr	C4 ; P23
LE GALL	Hyacinthe	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	hyacinthe.le.gall@u-picardie.fr	P11
LE MAUFF	François	Glyco-MEV EA4358, Université de Rouen	francois.lemauff@univ-rouen.fr	
LE ROY	Julien	UMR SADV 1281, Université Lille1	julien.le-roy@ed.univ-lille1.fr	P7 ; P21
LEFEBVRE	Valérie	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	vallef@u-picardie.fr	C4
LEHNER	Arnaud	Glyco-MEV EA4358, Université de Rouen	arnaud.lehner@univ-rouen.fr	C17
L'ENFANT	Mélanie	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	melanie.lenfant@u-picardie.fr	P5 ; P14
LEPORT	Laurent	UMR IGEPP, INRA Rennes	laurent.leport@univ-rennes1.fr	
LEROUGE	Patrice	Glyco-MEV EA4358, Université de Rouen	patrice.lerouge@univ-rouen.fr	C4 ; C17 ; P1
LEROUXEL	Olivier	CERMAV, Université Grenoble Alpes	lerouxel@cermav.cnrs.fr	C16 ; P16
LESCURE	Geoffroy	IJPB, INRA Versailles	geoffroy.lescure@versailles.inra.fr	P17 ; P25
MEHMOOD	Nasir	GEC, FRE-CNRS 3580, Université de Picardie	nasir.mehmood@u-picardie.fr	C23
MIART	Fabien	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	fabien.miart@u-picardie.fr	P8
MOLINIE	Roland	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	roland.molinie@u-picardie.fr	P3 ; P8 ; P11 ; P20
MOLLET	Jean Claude	Glyco-MEV EA4358, Université de Rouen	jean-claude.mollet@univ-rouen.fr	C17
MORIN	Halima	IJPB UMR1318, INRA Versailles	halima.morin@versailles.inra.fr	

MORVAN	Claudine	PBS UMR 6270, Université de Rouen	claudine.morvan@univ-rouen.fr	
MOUILLE	Grégory	IJPB UMR1318, INRA Versailles	gregory.mouille@versailles.inra.fr	C7 ; C10 ; P1 ; P2 ; P6 ; P17 ; P25
NEUTELINGS	Godfrey	UMR SADV 1281, Université Lille1	godfrey.neutelings@univ-lille1.fr	P7 ; P21 ; P24
NORTH	Helen	IJPB UMR1318, INRA Versailles	helen.north@versailles.inra.fr	C7 ; P22
ONGENA	Marc	CWBI, Université de Gembloux	marc.ongena@ulg.ac.be	
PACQUIT	Valérie	UMR5546 UPS/CNRS, LRSV, Toulouse	pacquit@lrsv.ups-tlse.fr	C3
PAES	Gabriel	UMR 614 FARE, INRA Reims	gabriel.paes@reims.inra.fr	C26
PAGEAU	Karine	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	karine.pageau@u-picardie.fr	C2 ; P8
PELLOUX	Jérôme	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	jerome.pelloux@u-picardie.fr	C2 ; C4 ; P1 ; P2 ; P5 ; P11 ; P14 ; P23
PHILIPPE	Florian	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	florian.philippe@u-picardie.fr	P23
PILATE	Gilles	AGPF, INRA Orléans	pilate@orleans.inra.fr	C15
PLAZANET	Idelette	LCSN, Université de Limoges	idelette.plazanet@etu.unilim.fr	P19
PLOYET	Raphaël	UMR5546 UPS/CNRS, LRSV, Toulouse	ployet@lrsv.ups-tlse.fr	P9
PRZEMYSLAW	Ociepa	School of Biological Sciences, University of Southampton	pmo1g12@soton.ac.uk	C11
QUERO	Anthony	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	anthony.quero@u-picardie.fr	P18 ; P20
RALET	Marie-Christine	BIA, INRA Nantes	marie-christine.ralet@nantes.inra.fr	C1 ; P16 ; P22
RAOUF	Roshan	GEC FRE CNRS 3580 / LRCS UMR CNRS	raouf_roshen@yahoo.fr	

		7314, Université de Picardie		
RAYON	Catherine	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	catherine.rayon@u-picardie.fr	P5 ; P11 ; P23
ROSSO	Marie-Noëlle	BCF INRA, Aix-Marseille Université	marie-noelle.rosso@univ-amu.fr	C27
RUSTERUCCI	Christine	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	christine.rusterucci@u-picardie.fr	
SADI	Fatima	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	sadi.fatima.p@gmail.com	P5 ; P14
SECEROVIC	Amra	AGPF, INRA Orléans	amra.secerovic@orleans.inra.fr	C15
SECHET	Julien	IJPB UMR1318, INRA Versailles	julien.sechet@versailles.inra.fr	C7 ; P6
SOLER	Marçal	UMR 5546 UPS/CNRS, LRSV, Toulouse	soler@lrsv.ups-tlse.fr	C6
SELIM	Sameh	Institut Polytechnique LaSalle, Beauvais	sameh.selim@lasalle-beauvais.fr	
SENECHAL	Fabien	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	fabien.senechal@u-picardie.fr	C4 ; P1
SIPPONEN	Mika	School of Chemical Technology, Aalto University	mika.sipponen@aalto.fi	C28; P27
TOCQUARD	Kévin	UMR 547, PIAF, Clermont-Ferrant	kevin.tocquard@univ-bpclermont.fr	C8
TURBANT	Amélie	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	amelie.turbant@u-picardie.fr	C2
VAN WUYTSWINKEL	Olivier	EA3900 BIOPI, Université de Picardie	ovw@u-picardie.fr	C2 ; P8
VERGER	Stéphane	IJPB UMR1318, INRA Versailles	stephane.verger@versailles.inra.fr	C10
VOXEUR	Aline	IJPB UMR1318, INRA Versailles	aline.voxeur@versailles.inra.fr	C13
ZEMANI	Narimane	Université d'Oran, Algérie	n.zemani@yahoo.fr	

