



HAL
open science

Identification in vivo des ADN cibles de facteurs de transcription impliqués dans la formation du bois de tension

Pascale Ferrigno, Nathalie Boizot, Wassim Lakhal, Marie-Claude Lesage Descauses, Jean-Charles Leplé, Gilles G. Pilate, Martine Decoville, Annabelle Dejardin

► To cite this version:

Pascale Ferrigno, Nathalie Boizot, Wassim Lakhal, Marie-Claude Lesage Descauses, Jean-Charles Leplé, et al.. Identification in vivo des ADN cibles de facteurs de transcription impliqués dans la formation du bois de tension. Journées du Réseau Français des Parois, Jun 2011, Villeneuve d'Ascq, France. , 2011, Journées du Réseau Français des Parois. Programme et Résumés. hal-02745476

HAL Id: hal-02745476

<https://hal.inrae.fr/hal-02745476v1>

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.

Journées du Réseau Français des Paroïs



6, 7 et 8 Juin 2011 à Lille
Villeneuve d'Ascq, Cité Scientifique, Espace Culture



Crédit photo : Anca Lucau

Organisées par :

UMR 1281, Stress Abiotique et Différenciation des végétaux INRA-Lille1
Equipe Fibres Végétales

Programme et Résumés



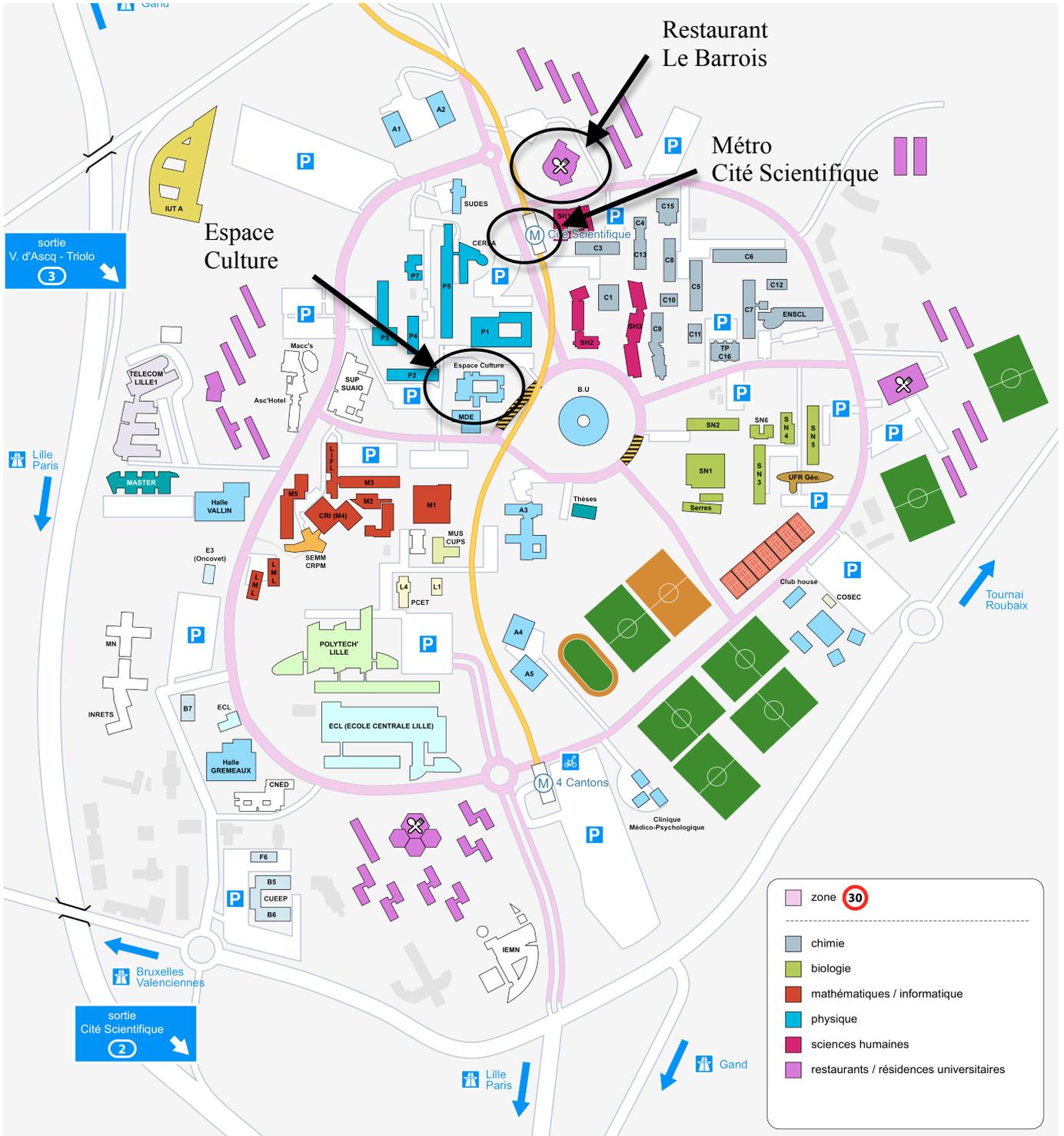
Université Lille Nord de France
Pôle de Recherche
et d'Enseignement Supérieur



Nos Partenaires



La Cité Scientifique



Programme des journées



Lundi 6 Juin

11h00 : Accueil des participants à l'Espace Culture, Mise en place des posters

14h00 : Accueil par B. Kurek, président du RFP

Session 1 : Développement et différenciation pariétale

Modératrice : Lise Jouanin

14h20 : C1 Structural characterization of pollen tube xyloglucan of *Nicotiana tabacum*
Dardelle F., *Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen*

14h45 : C2 Characterization of *quasimodo1* and *quasimodo2* suppressors
Verger S., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

15h10 : C3 Rôle de la cellulose dans la structuration du mucilage adhérent des graines d'*Arabidopsis*
North HM., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

15h35 : C4 PME15 est un inhibiteur de pectine méthylestérase impliqué dans la libération et la composition du mucilage
Saez-Aguayo S., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

16h00 : Pause café et session poster

16h25 : C5 Identification of novel cell wall signaling components through reverse genetics
Wolf S., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

16h50 : C6 Analyse protéomique des parois du lin (*Linum usitatissimum* L.)
Tokarski C., *USR CNRS 3290, Miniaturisation pour l'Analyse, la Synthèse & la Protéomique Lille1*

17h15 : C7 The N-glycoproteome of the *Brassica oleracea* xylem sap is similar to a cell wall proteome.
Jamet E., *Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales UMR 5546, Castanet-Tolosan*

17h40 : C8 Bases génétiques des composantes de la qualité de la texture chez la pomme
Galvez-Lopez D., *INRA, UMR1259 Génétique et Horticulture, Beaucouzé*

18h05 : Apéritif de bienvenue : au Café Culture

Mardi 7 Juin

Session 2 : Impactes des contraintes environnementales sur la paroi

Modérateur : Patrice Lerouge

- 09h00 :** C9 Rôles d'une pectine methyl-estérase (PME) et d'un inhibiteur de PME (PMEI) dans la résistance d'*Arabidopsis* au puceron du pêcher (*Myzus persicae*)
Wattier C., EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens
- 09h25 :** C10 Etude comparative du métabolisme pariétal chez deux variétés de pois soumises à un stress froid
Baldwin L., EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens
- 9h50 :** C11 Gene *ESKIMO1* and suppressors of *esk1-5* mutation: cell wall formation and osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*
Bensussan M., Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles
- 10h15 :** C12 Caractérisation du rôle des pectines dans les réponses physiologiques des cellules de tomate soumises à un stress métallique.
Muschitz A., Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Université de Limoges
- 10h40 : Pause café et session poster**
- 11h05 :** C13 Effets de l'ozone sur la biosynthèse des composés pariétaux : des réponses très différentes entre feuilles et tiges
Cabané M., UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières INRA-Nancy-Université
- 11h30 :** C14 Effets des contraintes environnementales (ozone et fort CO₂) sur le bois de jeunes peupliers : étude de la lignification, de l'anatomie et des propriétés du bois
Richet N., UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières INRA-Nancy-Université
- 11h55 :** C15 Identification *in vivo* des ADN cibles de facteurs de transcription impliqués dans la formation du bois de tension
Ferrigno P., INRA, UR588 Amélioration, Génétique, et Physiologie Forestières, Orléans

12h20 : Temps libre et session poster

13h00 : Repas au Restaurant Barrois (derrière station Cité scientifique)

Session 3 : Biosynthèse et dynamique pariétale

Modérateur : Jérôme Pelloux

14h30 : C16 **Caractérisation fonctionnelle de gènes de régulation exprimés dans les tissus vasculaires chez le peuplier**
Baucher M., *Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Gosselies, (Belgique)*

14h55 : C17 **Régulation transcriptionnelle de la lignification : le modèle Lin**
Huis R., *UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1*

15h20 : C18 **Spa1 : a *Brachypodium distachyon* cell wall mutant with an original phenotype**
Timpano H., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

15h45 : Pause café et session poster

16h10 : C19 **Analysis of the intracellular trafficking of CESA3 and KOR1 in *A. thaliana***
Vain T., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

16h35 : C20 **Caractérisation fonctionnelle de NGT1, une glycosyltransférase potentiellement impliquée dans la biosynthèse des polysaccharides pariétaux.**
Breton C., *Glycobiologie Moléculaire, CERMAV-CNRS, Université de Grenoble I*

17h00 : C21 **Rôle des modifications des pectines par les pectines méthylestérases (PMEs) sur la croissance chez *Arabidopsis***
Sénéchal F., *EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens*

17h25 : Fin des présentations

18h15 : Rendez-vous devant l'Office du Tourisme de Lille, place Rihour (métro ligne 1, direction CHR, Métro ligne 1 station Rihour). Mise en place de groupes de 25 personnes, et départ pour la visite de Lille (office du tourisme)

20h00 : Rendez-vous au restaurant : L'Assiette du Marché, 61 rue de la monnaie, Tel : 03 20 06 83 61, Métro ligne 1 station Rihour

Mercredi 8 Juin

Session 4 : Biomasse cellulosique : caractérisations et applications

Modérateur : Simon Hawkins

- 09h00 :** C22 Mise en évidence par micro-analyse thermique à balayage (SThM) de gradients de température de transitions vitreuses dans les parois végétales.
Maigret J.E., UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims
- 09h25 :** C23 Impact des pratiques culturales sur les fibres de chanvre (*Cannabis sativa* L.) à destination d'agromatériaux
Fernandez-Tendero E., UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims
- 09h50 :** C24 Impact de prétraitements chimiques sur les phénols pariétaux et la saccharification enzymatique de miscanthus
Belmokhtar N., UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims
- 10h15 :** C25 Amélioration de la saccharification chez les mutants *cad* de *Brachypodium*
Bouvier d'Yvoire M., Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles

10h40 : Pause café

11h05 : Remise des prix « Poster », et Assemblée Générale RFP

12h00 : Repas prévu au Restaurant Barrois (derrière station Cité scientifique)

Résumés des Conférences



C1

Structural characterization of pollen tube xyloglucan of *Nicotiana tabacum*

Dardelle F^a, Lehner A^a, Rihouey C^b, Bardor M^a, Lerouge P^a, Driouich A^a, Mollet J-C^a.

^a Laboratoire Glyco-MEV, UPRES-EA 4358, IFRMP 23, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan, France.

^b Polymères-Biopolymères-Surfaces, UMR CNRS 6270, Université de Rouen, 76821 Mont Saint Aignan, France.

e-mail : flavien.dardelle@univ-rouen.fr

Pollen tube is a fast growing cell emerging from pollen grain. Its principal role is to deliver the male gametes to the ovule for a double fertilization. Pollen tube cell wall is composed of two distinct layers. One is callose-enriched whereas the other one is enriched in pectin both containing xyloglucan (XyG) epitopes. XyG is a complex polymer made up of a β -(1 \rightarrow 4)glucan backbone substituted by different carbohydrate side chains forming the load-bearing network of eudicot primary cell wall. In *Arabidopsis thaliana*, the biochemical analysis of pollen tube cell wall XyG shows a high level of *O*-acetylated (68%) and fucosylated (52.1%) motifs (Dardelle *et al.*, 2010). Because we hypothesize an important function of fucosylated and *O*-acetylated XyG in pollen tube growth, we decided to investigate the XyG from plants lacking fucogalactoxyloglucan. In fact, in *Solanaceae* (including *Nicotiana tabacum*: tobacco), the XyG polymer from vegetative organs lacks of fucosyl residue and instead displays an arabinoxyloglucan-type (York *et al.*, 1996). The characterization of XyG from tobacco pollen tube using MALDI-TOF mass spectrometry and the localization of XyG epitopes using immunolabeling method will be presented and discussed.

Dardelle F, Lehner A, Ramdani Y, Bardor M, Lerouge P, Driouich A, Mollet JC (2010) Biochemical and immunocytological characterizations of *Arabidopsis thaliana* pollen tube cell wall. *Plant Physiology* 153:1563-1576.

York WS, Kumar Kolli VS, Orlando R, Albersheim P, Darvill AG (1996) The structures of arabinoxyloglucans produced by solanaceous plants. *Carbohydrate Research* 285: 99-128.

C2

Characterization of *quasimodo1* and *quasimodo2* suppressors.

Verger S, Clément G, Höfte H, Mouille G.

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 2, displaying cell adhesion defects. QUASIMODO1 is a galacturonosyltransferase, member of the glycosyltransferase family 8 (Bouton et al., 2002) and QUASIMODO2 is a putative pectin methyltransferase (Mouille et al., 2007). They are localized in the Golgi apparatus and seem to be partner in a complex involved in the synthesis of HomoGalacturonan.

Both *qua1* and *qua2* mutants show a decrease in HomoGalacturonan biosynthesis and a cell adhesion phenotype. Furthermore, and unlike other cell wall mutants, they show an overall carbon metabolism deficiency. These mutants also show sensitivity to dehydration, an altered growth and tend to develop callus instead of normal leaves. These phenotypes are likely pleiotropic effects originating from the decrease in HomoGalacturonan synthesis. Decrease in HomoGalacturonan content or the presence of modified HomoGalacturonans may trigger signaling changes along with the cell adhesion defect possibly leading to cell autonomy, cell to cell disturbed communication and/or altered mechanical restraint.

In order to identify new genes involved in polysaccharide synthesis, new functions essential for cell adhesion as well as functions involved in the various phenotypes observed, we did perform a suppressor screen. This screen (EMS mutagenesis) allowed us to identify three suppressed lines of two distinct classes: B9 (*qua2-1*) and B35 (*qua2-1*) suppress the entire *quasimodo* phenotype, while A26 (*qua1-1*) seems to suppress only the carbon metabolism deficiency and still displays the cell adhesion defect.

A detailed analysis of the pleiotropic phenotypes of the Quasimodos mutants and a preliminary functional analysis of the suppressors will be presented.

Bouton, S., Leboeuf, E. Mouille, G., Leydecker, M.T., Talbotec, J., Granier, F., Lahaye, M., Höfte, H. and Truong, H.N. (2002). **Plant Cell**, 14, 2577-2590.

Mouille G., Ralet M.-C., Cavelier C., Eland C., Effroy D., Hématy, K., McCartney L., Truong H.N., Gaudon V., Thibault J.-F., Marchant A., Höfte H. (2007). **Plant J**, 50, 605-614

C3

Rôle de la cellulose dans la structuration du mucilage adhérent des graines d'Arabidopsis

Sullivan SJ^{ac}., Ralet M-C^b, Berger A^a, Sallé C^a, Gonneau M^a, Bischoff V^a, Diatloff E^a, North HM^a.

^a *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318, INRA, AgroParisTech, F-78026 Versailles Cedex, France*

^b *INRA, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, F-44316 Nantes Cedex 03, France*

^c *Adresse actuelle : Bond Laboratory, Bower Building, Institute of Molecular, Cell and Systems Biology, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, G12 8QQ, UK.*

e-mail: helen.north@versailles.inra.fr

Les téguments des graines d'Arabidopsis libèrent un halo de mucilage polysaccharidique lors de leur imbibition. Les polysaccharides hydratés forme une enveloppe visqueuse et hydrophile qui pourrait participer à la dispersion de la graine ou contrôler sa germination. Nos analyses de la structure et composition du mucilage ont démontré que deux couches distinctes sont libérées, qui sont majoritairement composées de pectines de type rhamnogalacturonane I (Macquet et al., Plant Cell Physiol., 2007). La couche externe est soluble dans l'eau, tandis que la couche interne reste très adhérente à la graine. Cette dernière est composée de deux domaines de composition différente en pectines, dont le domaine interne est le seul à comporter des microfibrilles de cellulose (Macquet et al., 2007). Dans le but d'élucider la fonction de la cellulose dans le domaine interne du mucilage adhérent et ses interactions avec les composants pectiques une étude de mutants affectés dans la synthèse de cellulose a été entreprise. Chez Arabidopsis, ces enzymes sont codées par une famille de 10 gènes, *CESA1* à *CESA10*. Nous avons observé le mucilage des graines de différents mutants à l'aide de sondes histochimiques et les mutants du gène *CESA5* présentent une nette réduction de la cellulose détectée et de l'épaisseur du mucilage adhérent, par rapport au sauvage. La caractérisation de l'expression de ce gène et l'analyse détaillée de sa contribution à la structuration et la composition du mucilage seront présentées.

C4

PMEI5 est un inhibiteur de pectine méthylestérase impliqué dans la libération et la composition du mucilage

Saez-Aguayo S., Berger A., Sallé C., North H.M.

Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318, INRA, AgroParisTech, F-78026 Versailles Cedex, France

e-mail: susana.saez-aguayo@versailles.inra.fr

Le mucilage est un halo visqueux et hydrophile formé de polysaccharides libérés par les cellules épidermiques des téguments des graines d'*Arabidopsis* au cours de leur imbibition. Il pourrait participer à la dispersion des graines ou bien avoir un effet sur la germination. Chez *Arabidopsis* la production et l'accumulation du mucilage dans l'apoplasme des cellules épidermiques des téguments résultent d'un important réarrangement intracellulaire déjà largement décrit (*Western et al. 2006*). L'étude détaillée du mucilage de l'accession Col-0 a révélé qu'il est constitué de deux couches aux propriétés physiques différentes : une couche externe hydrosoluble et une couche interne très adhérente à la graine (*Macquet et al., 2007a*). La couche hydrosoluble est constituée majoritairement de rhamnogalacturonanes I (RGI) non ramifiés, comportant une chaîne principale de rhamnose et d'acide galacturonique. La couche adhérente du mucilage est constituée de deux domaines qui diffèrent par leur composition. Le domaine interne est composé majoritairement de RGI avec quelques ramifications de galactanes. On y détecte également des traces d'homogalacturonanes (HG), homopolymères d'acide galacturonique partiellement méthylestérifiés, et de la cellulose. Le domaine périphérique du mucilage adhérent est aussi constitué de RGI qui eux possèdent quelques ramifications de galactanes et d'arabinanes. Cette zone contient aussi des traces d'HGA fortement méthylestérifiés. De nombreux gènes ont déjà été caractérisés, qui affectent la biosynthèse et/ou la libération du mucilage. Dans le but d'identifier de nouveaux éléments impliqués dans la production de mucilage, nous avons analysé une collection d'accessions d'*Arabidopsis*, dont l'une présente un défaut de libération du mucilage. Cette accession, appelée Djarly provient du Kirgizstan. La cartographie du gène, ainsi que l'étude de mutants alléliques, ont permis d'identifier et de confirmer que la mutation affecte un inhibiteur de pectine méthylestérase (PMEI) putatif : PMEI5. Les PMEI exercent un contrôle négatif sur l'activité des pectine méthylestérases (PME), enzymes qui déméthylestérifient les HG, par la formation d'un complexe PME-PMEI (*Di Matteo et al., 2005 ; Hothorn et al., 2004*). Des données préliminaires, issues de l'analyse phénotypique du mutant *pmei5-1*, ont permis de montrer que cette protéine semble impliquée dans le contrôle de la méthylestérification des HG du mucilage adhérent. Les résultats présentés apporteront des précisions sur l'étude de l'expression de ce gène et sur son rôle dans la production du mucilage séminal.

C5

Identification of novel cell wall signaling components through reverse genetics

Wolf S., Mouille G., & Höfte H.

*Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Centre de Versailles-Grignon, Route de St-Cyr,
78026 Versailles Cedex, France*

e-mail : sebastian.wolf@versailles.inra.fr

The plant cell wall consists of a complex mixture of polysaccharides, proteins and other polymers, which are extruded by the cell and assembled into a rigid, yet dynamic organized network. In addition to its role in growth, the cell wall represents the plant's first line of defence against pathogens and injury, is essential for the formation of tissues, is crucial for cell to cell signalling and determines the shape of plant cells and organs. In order to serve all these functions the cell wall has to be able to change its properties in relatively short time, highlighting the need for not only a regulated biosynthesis, but also for *in muro* modification of the relevant molecules. However, surprisingly little is known about the machinery through which the cell is able to sense the state of its own wall or that of neighbouring cells. In order to identify components of this presumed cell wall signalling and feedback mechanism, we used plants in which cell wall related phenotypes were provoked through the ectopic overexpression of an inhibitor of pectin methylesterase (PME). These effects were not restricted to cell elongation or directional growth. Rather, the observed phenotypes implicated a role of PME activity in hormone signalling, cell division and/or cell separation. A forward genetic screen identified several mutants suppressing the phenotype of these plants, revealing the involvement of both well-known and novel components in cell wall sensing and signalling.

Analyse protéomique des parois du lin (*Linum usitatissimum* L.)

Day A^a., Fenart S^a., Hawkins S^a., Rolando C^b. & Tokarski C^b.

^a Université Lille Nord de France, Lille 1, UMR-INRA 1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

^b Miniaturisation pour l'Analyse, la Synthèse & la Protéomique (MSAP), USR CNRS 3290, and Protéomique, Modifications Post-traductionnelles et Glycobiologie, IFR 147, Université de Lille 1 Sciences et Technologies, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

e-mail: Caroline.Tokarski@univ-lille1.fr

Les fibres de lin, localisées dans la tige en périphérie des tissus conducteurs, se particularisent par leur morphologie (épaisseur, longueur) mais également par la composition chimique de leur paroi cellulaire (richesse en cellulose et hypolignification). La formation de la paroi est sous le contrôle d'un nombre élevé de gènes dont certains codent des protéines pariétales impliquées dans l'assemblage et remodelage de la paroi lors de son développement. Afin d'approfondir nos connaissances de ce type de protéine chez le lin, nous avons initié une analyse protéomique chez cette espèce. Les principales difficultés rencontrées ont été relatives (i) à l'enrichissement de l'échantillon en protéines pariétales et (ii) à l'identification des protéines analysées à cause de l'absence des protéines de lin dans les banques de données (218 entrées, UniProt release 2011_04 - Apr 5, 2011). En conséquence, une approche a été développée pour l'enrichissement de l'échantillon en protéines pariétales. Brièvement, le traitement a été composé de plusieurs lavages (NaCl, acétone, sodium acétate, etc.) et macrofiltration sur filtre de nylon (40 x 40 microns). L'échantillon a ensuite été broyé successivement dans des tampons composés respectivement de CaCl₂ et de LiCl. Les protéines extraites ont été dialysées et hydrolysées par la trypsine et l'analyse peptidique réalisée par nanochromatographie couplée à un spectromètre de masse haute résolution FT-ICR 9.4 T. L'identification des protéines analysées a été entreprise sur une banque de séquences nucléotidiques (ESTs) spécifique du lin. Les spectres MS et MS/MS (Dm < 1 ppm) ont été directement interrogés sur les séquences nucléotidiques via la version locale de Matrix Science. Un total de 664 protéines a été identifié à partir de la fraction non enrichie en protéines pariétales. De manière plus spécifique, 194 protéines ont été identifiées suite à la première étape d'enrichissement (tampon CaCl₂) et 42 protéines ont été identifiées suite à la seconde étape d'enrichissement (tampon LiCl). Les informations relatives à la localisation des protéines dans les parois ont été obtenues par les données Uniprot (<http://www.uniprot.org/>). Quelques protéines telle que la glycosidase A2IBG8_LINUS (cell wall glycosidase) sont présentes dans les banques de données pour l'espèce *Linum usitatissimum*, cependant, la majorité des protéines identifiées n'a jamais été décrite pour cette espèce (ex. : Alpha-1,4-glucan-protein synthase, Expansin-A14, etc.). Il peut être souligné que la plupart des études protéomiques relatives au lin sont basées sur des identifications par homologies de séquences à d'autres espèces végétales, ici, la séquence peptidique exacte de chaque protéine est obtenue pour la première fois.

**The *N*-glycoproteome of the *Brassica oleracea* xylem sap
is similar to a cell wall proteome.**

Ligat L.^{a,b}, Lauber E.^{c,d}, Arlat M.^{c,d}, Valot B.^{e,f}, Pont-Lezica R.^{a,b}, Albenne C.^{a,b} & Jamet E.^{a,b}

^a *Université de Toulouse; UPS; UMR 5546, Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales ; BP 42617, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

^b *CNRS; UMR 5546; BP 42617, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

^c *Laboratoire des Interactions Plantes Microorganismes (LIPM); UMR CNRS-INRA 2594-441; F-31320 Castanet-Tolosan, France.*

^d *Université de Toulouse; UPS; 118 route de Narbonne; F-31062 Toulouse, France*

^e *CNRS, PAPPSO, UMR 0320 / UMR 8120 Génétique Végétale, F-91190 Gif sur Yvette, France*

^f *INRA, PAPPSO, UMR 0320 / UMR 8120 Génétique Végétale, F-91190 Gif sur Yvette, France*

e-mail: jamet@lrsv.ups-tlse.fr

Xylem plays a major role in plant development, and is considered as part of the apoplast. Here we studied the proteome of *Brassica oleracea* cv Bartolo and compared it to the plant cell wall proteome of another *Brassicaceae*, the model plant *Arabidopsis thaliana*. *B. oleracea* was chosen because it is technically difficult to harvest enough *A. thaliana* xylem sap for proteomic analysis. We studied the whole proteome and an *N*-glycoproteome obtained after Concanavalin A (ConA) affinity chromatography (Ligat *et al.* 2011, Zhang *et al.* 2010). Altogether, 189 proteins were identified by LC-MS/MS using *Brassica* EST and cDNA sequences. A predicted signal peptide was found in 164 proteins suggesting that most proteins of the xylem sap are secreted. Eighty one proteins were identified in the *N*-glycoproteome, with 25 of them specific of this fraction, suggesting that they were concentrated during the ConA chromatography step. All the protein families identified in this study were found in the cell wall proteomes (Jamet *et al.* 2008). However proteases and oxido-reductases were more numerous in the xylem sap proteome, whereas enzyme inhibitors were rare. The origin of xylem sap proteins is discussed with regard to the root tissues in which the corresponding genes were found to be transcribed (<http://www.arexdb.org/>). All the experimental data including the MS/MS data were made available in the *WallProtDB* cell wall proteomic database (<http://www.polebio.lrsv.ups-tlse.fr/WallProtDB/>).

Jamet E, Albenne C, Boudart G, Irshad M, Canut H, Pont-Lezica R (2008) Recent advances in plant cell wall proteomics. *Proteomics* 8: 893-908.

Ligat L, Lauber E, Albenne C, San Clemente H, Valot B, Zivy M, Pont-Lezica R, Arlat M, Jamet E (2011) Analysis of the xylem sap proteome of *Brassica oleracea* reveals a high content in secreted proteins. *Proteomics* (in press).

Zhang Y, Giboulot A, Zivy M, Valot B, Jamet E, Albenne C (2010) Combining various strategies to increase the coverage of the plant cell wall glycoproteome. *Phytochemistry* (in press).

LC-MS/MS analyses were performed on the Plateforme d'Analyse Protéomique de Paris Sud-Ouest (PAPPSO).

C8

Bases génétiques des composantes de la qualité de la texture chez la pomme

Galvez-Lopez Didiana^{a,b}, Lahaye Marc^b, Pauline Laserre^a, Bernard Quémener^b, Laurens Francois^a

^a INRA, UMR1259 Génétique et Horticulture, F-49071 Beaucozéz, France

^b INRA, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, F-44316 Nantes, France

e-mail: lahaye@nantes.inra.fr, dgalvez@nantes.inra.fr

La texture est un critère majeur déterminant la qualité de la pomme. Elle dépend de facteurs cellulaires (parois cellulaires et pression de turgescence) et histologiques à différentes échelles. L'objectif de cette thèse était d'identifier des marqueurs génétiques associés à la texture du fruit. Une descendance de 150 individus a été phénotypée sur deux années à trois stades de conservation pour des caractères sensorielles et mécaniques, et pour des variables histologiques et biochimiques de la paroi cellulaire. Des corrélations entre des mesures instrumentales et sensorielles et des paramètres histologiques ont été établies alors qu'aucune n'a été trouvée avec les variables biochimiques. Les valeurs d'héritabilité varient de 0.16 à 0.94 pour l'ensemble des variables. La recherche de QTL s'est focalisée sur les 31 caractères les plus héréditaires. Au total, 132 QTL ont été localisés dans 39 régions réparties sur les 17 groupes de liaison du pommier: 26 codent pour des variables instrumentales et sensorielles, six pour des paramètres histologiques, 25 pour des structures biochimiques pariétales. 19 régions montrent une co-localisation entre caractères sensorielles et/ou instrumentales avec les mesures histologiques et/ou biochimiques, révélant pour la première fois des liens entre le contrôle génétique de caractères de texture de la pomme avec ceux de déterminants structuraux de la paroi. Ces résultats originaux offrent une base pour la recherche de gènes les contrôlant. Ils ouvrent également de nouvelles perspectives pour l'amélioration de la qualité de la pomme par sélection assistée par marqueurs moléculaires.

Mots-clés : Pomme, qualité, texture, paroi cellulaire, histologie, génétique, QTL, hérédité.

Rôles d'une pectine methyl-estérase (PME) et d'un inhibiteur de PME (PMEI) dans la résistance d'*Arabidopsis* au puceron du pêcher (*Myzus persicae*)

Wattier C., Turbant A., Pelloux J., Cherqui A. & Rustérucchi C.

Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

e-mail: christopher.wattier@u-picardie.fr

Des remaniements de la paroi végétale incluant des modifications de la structure des pectines notamment par des PMEs, sont souvent associés à la résistance de la plante à différents stress abiotiques ou biotiques (Pelloux *et al.*, 2007). Le puceron, un ravageur phloémophage des cultures, insère ses stylets en suivant un trajet apoplasmique depuis les cellules épidermiques jusqu'aux tubes criblés où il prélève la sève élaborée et injecte de manière périodique une salive liquide. Le remodelage pariétal pourrait jouer un rôle fondamental dans cette interaction plante-aphide. Les cellules percées au cours de la recherche du phloème génèrent des éliciteurs endogènes de défense alors que la salive de l'insecte contient des effecteurs modulant l'immunité de la plante (éliciteurs exogènes et inhibiteurs de défense) (Giordanengo *et al.*, 2010, Carolan *et al.*, 2011). Parmi les gènes de défense surexprimés chez la plante après infestation par des pucerons, des gènes codant des PMEs sont présents (Thompson and Goggin, 2006).

Nous avons étudié le rôle d'une PME (AT2G45220) et d'un PMEI (AT4G25250) sur la physiologie et le comportement trophique du puceron du pêcher *Myzus persicae* en comparant l'infestation sur des plantes mutées pour les gènes codant ces protéines et sur des plantes sauvages. La mutation de ces deux gènes modifie significativement le comportement trophique de *M. persicae* (étudié par électropénétrographie) mais pas son développement physiologique (fécondité, temps de doublement des populations, etc.). Les modifications observées sont corrélées à des variations d'expression de gènes codant des protéines pariétales ou de défense (mesurées par qRT-PCR) ainsi qu'à l'activité des PMEs. Ce rôle des PMEs et PMEIs peut être à considérer dans la recherche de nouvelles stratégies de protection des cultures contre les pucerons qui seraient respectueuses de l'environnement.

Carolan *et al.*, 2011. Predicted effector molecules in the salivary secretome of the Pea Aphid (*Acyrtosiphon pisum*): a dual transcriptomic/proteomic approach. *J. Proteome Res*, **10(4)**: 1505-1518

Giordanengo *et al.*, 2010. Compatible plant-aphid interactions: How do aphids manipulate plant responses. *C. R. Biol* **333**: 516-523

Pelloux *et al.*, 2007. New insights into pectin methylesterase structure and function. *Trends Plant Sci.* **12(6)**: 267-277

Thompson and Goggin, 2006. Transcriptomics and functional genomics of plant defence induction by phloem-feeding insects. *J. Exp. Bot.*, **57**: 755-766

Etude comparative du métabolisme pariétal chez deux variétés de pois soumises à un stress froid

Baldwin L.^a, Domon JM^a, Fournet F^a, Lucau A^b, Sellier H^c, Gillet F^a, Pelloux J^a, Lejeune-Hénaut I^c, & Rayon C^a.

^a EA 3900 BioPI, Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France.

^b USTL INRA UMR 1281, Laboratoire SADV, Université des Sciences et Technologies de Lille 1, 59655 Villeneuve d'Ascq, France.

^c INRA USTL UMR 1281, Laboratoire de Génétique et d'Amélioration des Plantes, Estrées-Mons BP50136, 80203 Péronne, France.

e-mail : laetitia.baldwin@u-picardie.fr

Les parois des cellules végétales jouent un rôle essentiel au cours du développement de la plante mais aussi en réponse à des stress biotiques ou abiotiques tels que le froid. Il a été montré qu'une période d'acclimatation au froid améliore la tolérance au gel.

Nous nous sommes intéressés à étudier de manière globale les effets de l'acclimatation au froid sur la structure et la composition de la paroi chez des lignées de pois (*Pisum sativum* L.: Champagne, Tèreze) ayant des tolérances au gel contrastées. Différents prélèvements ont été réalisés à cinq stades de développement de la plante après acclimatation au froid ou non.

L'analyse globale des sucres pariétaux montre que le froid conduit à des variations en arabinose, galactose et xylose pour les deux génotypes. Ces différences ne sont pas les mêmes entre Champagne, le génotype tolérant au gel et Tèreze, le génotype sensible au gel.

Une analyse par FTIR montre que les principales liaisons chimiques variant au cours de l'acclimatation au froid sont liées à la structure des pectines. Ces résultats sont confortés par des expériences d'immunomarquage et l'analyse du degré de méthylestérification qui montrent que l'acclimatation au froid induit une augmentation de la méthylestérification des pectines chez le génotype tolérant au froid.

Les activités pectine méthylesterase, polygalacturonase (PG) et pectine acétylsterase (PAE), enzymes impliquées dans la modification de la structure des pectines, ont été mesurées. Ces activités ne présentent que peu de variations significatives au cours de l'acclimatation au froid. En parallèle, des données microarrays montrent des régulations différentielles de l'expression de certaines PGs et PAEs.

Au final, une augmentation de la teneur en certains oses et du degré de méthylestérification observés au cours de l'acclimatation au froid chez Champagne, modifierait la solubilisation des pectines. Cela pourrait conduire à une rigidification pariétale et une meilleure protection de la plante face au gel. Suite à cette première approche, des QTL liés à la paroi et au froid ont été détectés. Une colocalisation avec des QTL déjà détectés chez le pois en cas de stress froid a également été réalisée.

Gene *ESKIMO1* and suppressors of *esk1-5* mutation: cell wall formation and osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*

Bensussan M^a, PhD project supervised by Durand-Tardif M^a.

^a Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, Versailles, France

e-mail: matthieu.bensussan@versailles.inra.fr

eskimo1 (*esk1/tbl29*) mutants in *Arabidopsis* exhibit a dwarf phenotype and constitutive tolerance to osmotic stress. Accordingly *ESK1* mutants constitutively exhibit responses to osmotic stress when grown in control conditions such as activation of stress-responsive genes, higher level of ABA, accumulation of osmotically active compounds. On this basis *ESK1* was first proposed as a negative regulator of stress responses.

Recent characterization of *ESK1* and closest homologous genes in *Arabidopsis* suggest a more distant role to osmotic stress signaling. *ESK1* belongs to the TRICHOME BIREFRINGENCE LIKE (TBL) family, a newly described plant specific protein family of 46 members in *Arabidopsis*. The TBL proteins show a high level of homology harboring a C-terminal conserved domain of unknown function (DUF231) and an N-terminal transmembrane domain.

ESK1 and 3 additional TBL proteins appear to be involved in cell wall biology, *tbl* mutants having altered cell wall composition. More interestingly *ESK1* is specifically expressed in developing xylem and fibers and *esk1* mutants such as null mutant *esk1-5* present an *irregular xylem* (*irx*) phenotype. Thus *ESK1* appears to be required for cell wall formation in xylem and fibers.

The precise *ESK1* molecular function in developing xylem and fibers will be addressed through subcellular localization and biochemical assays.

Subcellular localization will be achieved through transient expression of GFP::*ESK1* fusion protein in *Nicotiana benthamiana*, Immunogold labelling and western blot from membrane enriched fraction. Biochemical assays will be performed using a truncated version of *ESK1* protein without transmembrane domain to ensure efficient production from *E. coli* and/or *N. benthamiana*. Purified *ESK1* protein will be then assayed for activity and binding to an oligosaccharide chip to state if and to which cell wall components it can bind.

esk1-5 mutant grown under control conditions phenocopies wt subjected to osmotic stress. As a consequence *esk1-5* mutant represents a valuable tool for fundamentals and applications: i) to identify new components of osmotic stress tolerance and ii) to identify target genes for breeding to maintain crop performance under osmotic stress.

To these ends, *esk1-5* has been previously subjected to Ethyl methanesulfonate (EMS) mutagenesis. Resulting M2 population has been screened for dwarf phenotype suppression. A dozen *beem* (*biomass enhancement under esk1-5 mutation*) suppressor lines has been isolated. EMS-induced causative mutations will be identified through massive parallel sequencing at Imagif platform (CNRS, Gif-sur-Yvette) on an Illumina's Genome Analyzer IIx.

Plants with a *beem* phenotype have been selected for sequencing in an F2 population of a cross with *esk1-5*. For each *beem* line EMS-induced mutation frequency will be estimated in a pool of 100 selected F2 plants. Causative mutation and linked mutations are expected to reach the highest frequency among EMS-induced mutations. This strategy should enable fast identification of causative mutations without the need of fine mapping.

Once identified, candidate suppressor genes will be then validated through the characterization of related insertional mutants.

Caractérisation du rôle des pectines dans les réponses physiologiques des cellules de tomate soumises à un stress métallique.

Muschitz A^a, Faugeron C^a, Mollet JC^b, Gloaguen V^a, Morvan H. & Krausz P^a.

^a Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Université de Limoges, France

^b GLYCO-MEV EA 4358, Université de Rouen, France

e-mail: aurelie.muschitz@unilim.fr

Dans le cadre de l'étude des interactions entre les plantes et les éléments traces métalliques (ETM), de nombreux travaux ont montré que les parois cellulaires végétales, de part leur position périphérique ainsi que leur composition biochimique, peuvent être considérées comme un filtre limitant la pénétration cytoplasmique des ETM afin de protéger les structures intracellulaires. Par exemple, parmi les composés pariétaux, les polysaccharides pectiques riches en acides uroniques, peuvent jouer un rôle important dans la fixation et la séquestration des cations métalliques [1], et plus particulièrement la classe des homogalacturonanes (HG) et rhamnogalacturonanes de type I (RGI).

Dans ce contexte, nos travaux ont été entrepris sur une suspension cellulaire de tomate cultivée *in vitro* ; un modèle d'étude qui présente l'avantage de pouvoir maîtriser précisément les conditions expérimentales et de faciliter les études à l'échelle de la cellule.

Des résultats préliminaires [2,3] ont permis de démontrer que les parois des cellules de tomate représentent le compartiment cellulaire préférentiel pour la séquestration du cadmium et du zinc introduits en excès dans le milieu de culture (jusqu'à 0,5 et 2 mM, respectivement).

De plus, l'analyse chimique des parois primaires isolées montre, parallèlement à l'élévation de la teneur en ETM, des variations non négligeables des taux d'acides uroniques, suggérant alors un remaniement du métabolisme pectique sous l'effet des ETM.

Un protocole d'extraction fractionnée des molécules pariétales a ensuite été envisagé afin d'isoler spécifiquement les pectines. Différentes techniques d'analyse (dosage des oses totaux, dosage des ETM et du calcium par spectrométrie d'absorption atomique, évaluation du degré de méthylestérification (DME) des acides uroniques, immunomarquage spécifique des pectines, composition monosaccharidique des polymères par chromatographie liquide-gaz) ont permis de caractériser précisément les fractions extraites et de mettre en évidence des variations quantitatives (évolution des taux de RGI et HG) et qualitatives (DME) en fonction du stress métallique subi par les cellules de tomate.

Les modifications observées seront discutées dans le but d'évaluer l'implication des pectines dans les réponses physiologiques cellulaires aux ETM.

[1] Krzeslowska M. Acta Physiol. Plant 33 (2011) 35-51.

[2] Muschitz A., Faugeron C., Morvan H. Acta Physiol. Plant 31 (2009) 1197-120.

[3] Muschitz A., Thèse de Doctorat de l'Université d'Artois, 2009.

**Effets de l'ozone sur la biosynthèse des composés pariétaux :
des réponses très différentes entre feuilles et tiges**

Cabané M^a., Richet N^a., Afif D^a., Pollet B^b., Tozo K^c., Dizengremel P^a. & Lapierre C^b.

^a Nancy-Université, INRA, UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, B.P. 70239, F-54506 Vandœuvre lès Nancy, France

^bUMR 1318 INRA-AgroParisTech, 78026 Versailles, France

^c Département de botanique, Faculté de sciences, Université de Lomé, B.P. 1515 Lomé, Togo
e-mail: cabane@scbiol.uhp-nancy.fr

Depuis le début de l'ère industrielle, les activités humaines ont conduit à des modifications importantes de la composition atmosphérique. On assiste notamment à une augmentation de différents polluants dont le plus préoccupant est l'ozone. En effet, ce polluant est supposé causer des dommages importants tant aux plantes de grandes cultures qu'aux arbres forestiers. Notre but est de comprendre les mécanismes de réponse à l'ozone des végétaux, en particulier au niveau pariétal.

Dans les feuilles, l'exposition à l'ozone induit une stimulation rapide du métabolisme des lignines accompagnée d'une synthèse accrue de lignines de stress. Cette augmentation apparaît bien coordonnée entre tous les gènes impliqués dans la voie des phénylpropanoïdes et des lignines suggérant des régulations communes. De plus, l'intensité de la réponse est bien corrélée avec la dose d'ozone. Tous ces résultats semblent indiquer que, dans les feuilles, le métabolisme des parois participe à des mécanismes de défense vis à vis de l'ozone.

Dans les tiges, les activités enzymatiques liées à la synthèse de cellulose et de lignines sont réduites mais cette réponse est beaucoup plus tardive que celle des feuilles. L'expression des gènes impliqués dans ces voies métaboliques est également réduite et de manière coordonnée. Par ailleurs, la composition de la paroi est modifiée en faveur de la lignine. Dans les tiges de peuplier, le métabolisme des parois semble répondre à un manque d'approvisionnement en squelettes carbonés plus qu'à un stress. La synthèse de lignines serait privilégiée afin conserver un soutien mécanique en minimisant la dépense en composés carbonés.

Ces deux réponses suggèrent une très bonne coordination des différentes voies métaboliques mais des contrôles très différents de la biosynthèse des composés pariétaux entre feuilles et tiges, en présence d'ozone.

Effets des contraintes environnementales (ozone et fort CO₂) sur le bois de jeunes peupliers : étude de la lignification, de l'anatomie et des propriétés du bois

Richet N^a, Afif D^a, Huber F^b, Lapierre C^c, Pollet B^c, Maillard P^a, Tozo K^d, Priault P^a, Dizengremel P^a, Perré P^b, Cabané C^a.

^a Nancy-Université, INRA, UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, Boulevard des Aiguillettes, BP 70239, F-54506, Vandoeuvre lès Nancy, France

^b INRA, ENGREF, AgroParisTech UMR 1092 LERFOB, 14 rue Girardet, F-54042 Nancy cedex, France

^c UMR 1318 INRA-AgroParisTech, 78026 Versailles, France

^d Département de botanique, Faculté de sciences, Université de Lomé, B.P. 1515 Lomé, Togo

e-mail: Nicolas.Richet@scbiol.uhp-nancy.fr

Dans le contexte des changements climatiques globaux, les arbres devront faire face à une atmosphère différente de celle présente actuellement. L'ozone troposphérique et le CO₂ sont deux des principaux gaz dont l'augmentation de la concentration est préoccupante. L'ozone est considéré comme le premier polluant phytotoxique, tandis que le fort CO₂ a un effet positif sur la croissance et la biomasse des arbres.

La biosynthèse et la teneur en lignine, l'anatomie et les propriétés du bois de jeunes plants de peupliers (*Populus tremula x alba*) ont été étudiés en présence d'ozone et/ou fort CO₂. De plus, les arbres ont été inclinés afin d'induire la formation de bois de tension. En présence d'ozone, la biosynthèse (activités enzymatiques et transcrits) de lignine est fortement réduite due à une diminution de la fourniture en squelettes carbonés issus de la photosynthèse. L'anatomie et les propriétés du bois sont également altérées en présence d'ozone. Le bois de tension est généralement plus affecté par l'ozone que le bois opposé. Le fort CO₂ stimule la croissance des arbres et la production de biomasse mais ne semble pas modifier la synthèse de lignine et les propriétés du bois. L'interaction des deux gaz révèle un effet compensatoire du fort CO₂ vis-à-vis des effets néfastes de l'ozone.

Compte tenu des différentes prédictions sur les modifications de la composition atmosphérique à moyen terme, ces observations suggèrent que les forêts produiront un bois de qualité différente de celle rencontrée aujourd'hui

Identification *in vivo* des ADN cibles de facteurs de transcription impliqués dans la formation du bois de tension

Ferrigno P^a, Boizot N^a, Lakhali W^a, Lesage-Descauses MC^a, Lépilé JC^a, Pilate G^a, Decoville M^b, Déjardin A^a.

^a *Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, INRA Orléans, 2163 Avenue de la Pomme de pin, CS 40001-Ardon, 45075 ORLEANS CEDEX 2, France*

^b *Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, rue Charles Sadron, 45071 ORLEANS CEDEX 2, France*

e-mail: pascale.ferrigno@orleans.inra.fr

Lorsqu'un arbre feuillu est incliné en raison d'une contrainte gravitationnelle ou mécanique (vent, sol en pente), il met en place sur la partie supérieure des tiges inclinées, un bois de réaction, appelé bois de tension permettant aux tiges de retrouver une position d'équilibre (bien souvent verticale). Au niveau anatomique, le bois de tension se caractérise par la présence de fibres particulières aux parois très épaisses, appelées fibres G. La paroi des fibres G présente une couche surnuméraire, pauvre en lignines, très riche en cellulose dont les microfibrilles sont orientées quasi parallèlement à l'axe de la fibre.

Le bois de tension représente un bon système biologique pour décrypter certains mécanismes importants de la formation du bois. Les facteurs de transcription (FT) jouent un rôle central dans la régulation de ces mécanismes. L'objectif de ces travaux est d'identifier les séquences d'ADN cibles de certains FT choisis (Myb1, Myb21, VND7), potentiellement importants pour la formation du bois. Pour cela, la technique ChIP-SEQ (Immunoprécipitation de chromatine suivie par un séquençage à très haut-débit) a été développée afin d'identifier *in vivo* ces ADN cibles. Cette technique, bien que souvent employée en biologie animal [1] [2], est encore peu utilisée en biologie végétal. Suite à la ChIP, une analyse qPCR permet de mesurer l'enrichissement des cibles connues afin de vérifier l'efficacité de l'immunoprécipitation, avant de séquencer les échantillons.

Actuellement les premiers essais de ChIP, analysés en qPCR, ont permis de valider la méthode, et ont mis en évidence l'enrichissement en un promoteur cible connu pour un des FT choisis. L'avancée des résultats sera présentée lors du congrès.

[1]- Delacroix L, Moutier E, Altobelli G, Legras S, Poch O, Choukrallah M.A, Bertin I, Jost B, Davidson I. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, p.231-244

[2]- Nègre N, et al. *Nature*, 2011, vol.471, p.527-531

Caractérisation fonctionnelle de gènes de régulation exprimés dans les tissus vasculaires chez le peuplier

Baucher M^a, Moussawi J^a, Stelter S^a, Mukoko Bopopi J^a, Mol A^a, Brunel N^b, Vandeputte O.M^a, Spokevicius A^c, Leplé J.-C^d, & El Jaziri, M^a.

^aLaboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Gosselies, Belgique

^bUMR INRA PIAF, Université Blaise Pascal, AUBIER, France

^cDepartment of Forest and Ecosystem Science, School of Land and Environment, The University of Melbourne, Victoria, AUSTRALIA

^dUnité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, INRA Orléans, Ardon, France

email: mraucher@ulb.ac.be

Suite à une analyse d'expression différentielle le long de la tige de peuplier (*Populus tremula* x *P. alba*, clone INRA 717-1B4) par cDNA-AFLP, plusieurs gènes de régulation potentiellement impliqués dans la transition progressive entre la croissance primaire et la croissance secondaire ont été identifiés. Une attention particulière a été portée sur deux de ces gènes, *PtaRHE1* et *PtaERF1*. Le premier gène, codant pour une protéine de type RING-H2, montre une expression prononcée dans les cellules initiales de parenchyme de rayon, ainsi que dans les cellules qui en dérivent et qui forment les rayons. Un test d'ubiquitination a montré que *PtaRHE1* a une fonction de E3 ligase et est potentiellement impliquée dans la protéolyse ciblée. Le second gène code pour un facteur de transcription de type AP2/ERF et s'exprime dans le phloème (van Raemdonck et al., 2005). Afin de caractériser ces 2 gènes, des lignées T2 transgéniques surexprimant *PtaRHE1* ou *PtaERF1* ont été établies chez le tabac.

La surexpression de *PtaRHE1* chez le tabac résulte en un phénotype pléiotropique caractérisé par un enroulement des feuilles, la formation de lésions nécrotiques au niveau des feuilles ainsi qu'un retard de croissance. Une étude d'expression, chez ces lignées transgéniques, a mis en évidence la surexpression de gènes liés à la défense (Mukoko-Bopopi et al., 2010). Des peupliers transgéniques surexprimant *PtaRHE1* sont en cours de caractérisation.

Les lignées de tabac transgéniques surexprimant *PtaERF1* exhibent un retard de croissance et une altération dans le développement floral. Puisqu'un grand nombre de miRNAs sont connus pour cibler des facteurs de transcription, des séquences cibles potentielles de miRNAs ont été recherchées dans la séquence de *PtaERF1* et deux miRNAs (*miR169* et *miR396*) ont été sélectionnés. Pour évaluer l'impact de ces miRNAs sur le développement végétal, des plantes de tabac transgéniques surexprimant *miR169d* et *miR396c* ont été produites. Les phénotypes les plus marquants des plantes surexprimant *miR169d* et *miR396c* sont une altération de la morphologie des fleurs et des feuilles, respectivement.

Références

Mukoko Bopopi et al. (2010). J. Exp. Bot. 61, 297-310.
van Raemdonck et al. (2005). J. Exp. Bot. 56, 2211-2227.

Remerciements

JM est financée par une bourse pré-doctorale du « Lebanese National Council for Scientific Research (CNRS-L) », MB est Maître de recherches au FRS-FNRS (Fonds National de la Recherche Scientifique Belge) et OMV est Chargé de Recherches FRS-FNRS.

Régulation transcriptionnelle de la lignification : le modèle Lin

Huis R., Fénart S., Lucau A., Bouclay R., Grec S., Neutelings G. & Hawkins S.

Université Lille Nord de France, Lille 1, UMR-INRA 1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

e-mail: r.huis@ed.univ-lille1.fr

La lignine est un polymère phénolique présent dans les parois de certaines cellules végétales. La présence/absence et la quantité/qualité de la lignine est un paramètre majeur déterminant la qualité de nombreux produits (textile, matériaux composites, bio-carburants...) issus de la biomasse ligno-cellulosique. De ce fait, une meilleure compréhension de la régulation de la biosynthèse de la lignine et des mécanismes influant sur la variabilité de ce polymère permettra de sélectionner des variétés mieux adaptées pour la production de produits de qualité. Dans ce contexte, le lin (*Linum usitatissimum* L.) représente un modèle expérimental d'intérêt.

Les fibres longues de cette espèce sont traditionnellement employées dans l'industrie textile. Ces fibres sont constituées de cellules situées dans la tige entre l'écorce et le bois. En comparaison avec les parois secondaires du bois, les parois de fibres longues contiennent des faibles teneurs en lignines (approx. 3 %) et sont qualifiées d'« hypolignifiées ». Ce type de paroi n'est pas classique et ne se retrouve que dans très peu d'autres espèces (le chanvre par exemple). Le lin constitue donc un modèle d'étude intéressant pour la compréhension des mécanismes de régulation de la lignification.

Afin d'évaluer la régulation des gènes impliqués dans la mise en place de la paroi des fibres de lin, nous avons développé une stratégie de « découverte de gènes » (genes discovery) en nous focalisant sur l'expression de gènes « paroi » et des facteurs de transcription potentiellement impliqués dans la régulation transcriptionnelle de ces gènes. L'expression différentielle des gènes entre les tissus internes (bois) et externes (riches en fibres) a alors été évaluée par une approche microarray (Nimblegen 385K). Nos résultats ont alors démontré que plusieurs gènes « lignines » étaient sous-exprimés dans les tissus externes en comparaison avec les tissus internes suggérant l'existence d'une régulation transcriptionnelle.

Nous avons ensuite recherché les facteurs de transcription ayant un profil d'expression similaire et antagoniste aux gènes « lignine ». Parmi les facteurs de transcription retenus par cette analyse se trouvent des facteurs des familles NACs et MYBs impliqués dans la mise en place de la paroi secondaire chez autres espèces.

Actuellement, afin de démontrer que ces facteurs sont capables de moduler les expressions des gènes lignines, nous réalisons des expériences de « transient activation analysis » en co-infiltrant des constructions effecteur (sur-expression FT) et rapporteur (promoteur-GUS *LuPAL*, *LuCAD* et *LuCCoAOMT*) dans les feuilles de tabac. En parallèle, la caractérisation fonctionnelle de ces facteurs sera réalisée chez les sur-exprimeurs chez *Arabidopsis thaliana*

Spa1 : a *Brachypodium distachyon* cell wall mutant with an original phenotype

Timpano H., Sibout R., Darracq O., Badel E., Pollet B., Lapierre C., Höfte H., Vernhettes S., and Gonneau M.

Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA centre de Versailles-Grignon, route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex.

e-mail: helene.timpano@versailles.inra.fr

Efficiency in biofuels production is one of nowadays most important issues in plant science. The saccharification yield of the cellulose is the major trait we can improve to use the ligno-cellulose biomass the best we can in order to turn biofuels in a competitive alternative of fossil energy. Many plant species, like *Miscanthus giganteus* are studied for the production of the second generation of biofuels, highlighting important requirements such as large amount of biomass and reduced water needs. *Brachypodium distachyon* is a new emergent monocot model for the biomass dedicated plants. It grows rapidly, its genome is quite small and sequenced. Many tools are now available to study *Brachypodium* including microarrays, transformation, crosses, tilling, and a sodium azide mutagenized population of 10000 families is available in Versailles. From the screening of this population for cell wall mutants we isolated a very particular mutant called *spa*.

The *spa* mutant shares characteristics with the *brittle culm* mutants of rice and barley, such as brittleness, irregular xylem, and a high cellulose defect. But the particularity of this mutant is the "floppy" phenotype, compared to all the *brittle culm* mutants which remain upright. We investigated more in depth this phenotype by cytological analysis (stainings and immunolabeling specific of cell wall components), cellulose and lignin contents, mechanical parameters analysis.

Our results show a high cellulose deficiency, especially in stems, with 50% of the quantity found in the wild type, with no consequence on the saccharification efficiency or the X-ray diffraction spectra. NIRS analysis revealed modifications for wave numbers attributed to crystalline cellulose domains. Both stainings and lignin assays indicate a higher amount of lignin. More thorough analysis of lignin composition suggest a characteristic profile of stress lignin in this mutant. Finally the mechanical strength defect of *spa* was illustrated by a value of Young's modulus three times lower than for the wild type.

We are using two complementary approaches to find the *spa* mutation. A list of candidate genes related to cell wall synthesis or co-expressed with secondary cell wall cellulose synthases are being sequenced. On the other end we use classical chromosome mapping strategy to locate the mutation, or at least reduce the region of interest.

The whole analysis and the molecular biology let us believe that the mutation could concern an unknown gene involved in cell wall synthesis.

Analysis of the intracellular trafficking of CESA3 and KOR1 in *A. thaliana*

Thomas Vain¹, Eric Biot¹, Elizabeth Faris Crowell², H el ene Timpano¹, Thierry Desprez¹, Herman H ofte¹, Martine Gonneau¹, Samantha Vernhettes¹.

¹*Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB), UMR1318 INRA-AgroParisTech, INRA Centre de Versailles-Grignon, Route de St-Cyr, 78000 Versailles France.*

²*Membrane Traffic and Cell Division Laboratory, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75015 Paris, France.*

e-mail: thomas.vain@versailles.inra.fr

In plant, anisotropic growth and organ differentiation involve a spatio-temporal regulation of primary cell wall biosynthesis. Cellulose is synthesized by a large molecular weight complex, which comprises at least three different cellulose synthases (CESAs) and also requires the presence of an endo-1,4-b-D-glucanase, KORRIGAN1 (KOR1) (Nicol *et al.*, 1998). Although an endo-1,4-b-D-glucanase is also required for cellulose synthesis in bacteria, its role is unknown in both bacteria and plants.

Here, we studied the localization and dynamics of KOR1 and CESA3 fused to green fluorescent protein (GFP), expressed with their endogenous promoter in mutant background. In the epidermis of etiolated hypocotyls, GFP-KOR1 is expressed in the same cells at the same time as GFP-CESA3 (Desprez *et al.*, 2007 ; Crowell *et al.*, 2009). Surprisingly, GFP-KOR1 and GFP-CESA3 migrate with comparable velocities along linear trajectories at the cell surface. In addition, we found that the cortical microtubule array is involved in the organization of GFP-KOR1 at the plasma membrane as has been previously shown for CESA proteins. Using transgenic lines that express specific intracellular markers, we showed that GFP-KOR1 is present in different intracellular compartments. Using semi-automatic image processing and intensity based colocalization, we computed correlation coefficients to measure the influence of cellulose biosynthesis inhibitor (CGA) on the intracellular localization of GFP-CESA3 and GFP-KOR1. Preliminary results suggest that the regulation of KOR1 and CESA3 is different.

Using both *in vitro* and *in planta* protein interaction assays, we show that KOR1 specifically interacts with CESA proteins. Analysis of truncated forms of KOR1 indicated that the transmembrane domain of KOR1 is required for the interaction with CESA proteins. Our data support a model in which KOR1 participates in the primary cell wall Cellulose Synthase Complex at the plasma membrane.

Caractérisation fonctionnelle de NGT1, une glycosyltransférase potentiellement impliquée dans la biosynthèse des polysaccharides pariétaux.

Kousar S., Grassot V., Fasmer Hansen S., Breton C., & Lerouxel O.

Glycobiologie Moléculaire, CERMAV-CNRS, Université de Grenoble I, Grenoble, France.

e-mail : breton@cermav.cnrs.fr

Le répertoire des glycosyltransférases (GTs) dans les génomes est censé refléter la diversité des structures glycanniques synthétisées par les organismes et on estime généralement que cette famille d'enzymes représente environ 1% des gènes. Cependant, les plantes se caractérisent par un nombre de gènes potentiels de GTs bien plus grand que la plupart des organismes séquencés à ce jour (460 séquences recensées à ce jour dans le génome d'*Arabidopsis* dans la banque de données CAZy soit 2 fois plus que dans le génome humain). Ce nombre élevé de GTs s'explique en partie par le réseau complexe de polysaccharides pariétaux et par les très nombreux métabolites secondaires glycosylés. Cependant, nous avons démontré récemment que ce nombre est encore sous-estimé. L'utilisation conjointe d'outils bioinformatiques agissant au niveau 1D, 2D et 3D, nous a permis d'identifier plus de 150 nouvelles séquences protéiques dont une vingtaine présentent des signatures peptidiques les apparentant à des GTs (1,2).

La caractérisation fonctionnelle de l'un de ces gènes, NGT1, a été entreprise au laboratoire. De façon intéressante, la séquence NGT1 présente une signature peptidique de type fucosyltransférase (1). Les FucTs impliquées dans la biosynthèse des N-glycannes ayant déjà été identifiées, NGT1 constituait une piste possible pour identifier celle(s) impliquée(s) dans la fucosylation de polysaccharides pariétaux (ex : RG-II). L'analyse phénotypique de deux mutants *Arabidopsis* alléliques (*ngt1-1* and *ngt1-2*) révèle des défauts développementaux qui s'accompagnent également d'une modification de certains composants pariétaux. Nos résultats suggèrent pour NGT1 une fonction biochimique différente de celle proposée sur la base des analyses de séquence.

References:

(1) Fasmer Hansen S, Bettler E, Wimmerova M, Imberty A, Lerouxel O, Breton C, Combination of several bioinformatics approaches for the identification of new putative glycosyltransferases in *Arabidopsis*. *J. Proteome Res.*, 8, 743-753, 2009.

(2) Fasmer Hansen S, Bettler E, Rinnan A, Engelsen SB, Breton C, Exploring genomes for glycosyltransferases. *Mol. Biosyst.*, 2010.

Rôle des modifications des pectines par les pectines méthylestérases (PMEs) sur la croissance chez *Arabidopsis*

Sénéchal F^a., Assoumou Ndong Y^a., Lamour R^b., Mareck A^b., Guerineau F^a., Mouille G^c., Schaller A^d., Lerouge P^b. & Pelloux J^a.

^a, EA3900-BioPI Biologie des Plantes et contrôle des Insectes ravageurs, Université de Picardie, 33 Rue St Leu, F-80039 Amiens, France.

^b, EA4358-Glyco-MEV Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, IFRMP 23, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan, France.

^c, Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, Bâtiment 2, INRA Centre de Versailles-Grignon, Route de St Cyr (RD 10), F-78026 Versailles Cedex France.

^d, Universität Hohenheim, Institut für Physiologie und Biotechnologie der Pflanzen (260) D-70593 Stuttgart, Germany.

e-mail: fabien.senechal@u-picardie.fr

Chez les végétaux, la croissance nécessite division et élongation cellulaire. Cette dernière est notamment contrôlée par la pression vacuolaire, mais dépend également des changements de rhéologie de la paroi primaire. Chez les dicotylédones, comme *Arabidopsis thaliana*, la paroi primaire est constituée de micro-fibrilles de celluloses, enchevêtrées dans une matrice de polysaccharides hautement hydratés, que sont les hémicelluloses et les pectines. Les pectines sont majoritaires au sein de la paroi des végétaux supérieurs, représentant respectivement 35% et 10% de la matière sèche des dicotylédones et des monocotylédones (Wolf et al., 2009). Les pectines sont constituées d'une grande variété de polysaccharides riches en acides galacturoniques (Gal-A), dont les principaux sont les homogalacturonanes (HG) et les rhamnogalacturonanes de type I et II (Willats et al., 2006). Les HG, qui sont les plus abondants (65% des pectines), correspondent à un enchaînement linéaire de Gal-A lié en α 1-4 et présentent une méthylestérification au niveau des groupements carboxyliques C6 (Pelloux et al., 2007 ; Wolf et al., 2009). Ils sont excrétés vers la paroi sous forme hautement méthylestérifiée, où ils vont pouvoir être modifiés par l'activité d'enzymes pariétales faisant partie de familles multigéniques chez *Arabidopsis*. Le degré de méthylestérification (DM) des HG peut-être modifié par les pectines méthylestérases (PME EC3.1.1.11, Pelloux et al., 2007), dont l'activité est régulée par les inhibiteurs de PME (PMEI). Il existe 2 types de structures protéiques au sein des PME dénommés groupe 1 et groupe 2. Chez les PME du groupe 2, la partie mature (Domaine PME, PF01095) est précédée d'une extension en N-terminale (Partie PRO) qui présente des similarités avec les PMEI (Domaine PMEI, PF04043) (Pelloux et al., 2007). Cette partie PRO permet la rétention des PME de groupe 2 au sein de l'appareil de golgi, régulant l'activité PME (Wolf et al., 2009). Récemment, il a été démontré que les subtilases (SBT) pourraient jouer un rôle majeur dans le clivage de la partie PRO et par conséquent dans la régulation des PME du groupe 2.

La régulation de l'activité PME par les PMEI et les SBT et les conséquences de celle-ci sur la croissance seront présentées.

Pelloux J. et al. (2007) Trends in Plant science, 12: 231-278.

Willats W.G.T. et al. (2006) Trends in food science & technology, 17: 97-104

Wolf S. et al. (2009) Molecular Plant, 2: 851-860.

Mise en évidence par micro-analyse thermique à balayage (S_{Th}M) de gradients de température de transitions vitreuses dans les parois végétales.

Jean-Eudes MAIGRET^a, Jean Stéphane ANTONIOW^b, Mihai CHIRTOC^b, Johnny BEAUGRAND^a, Patrice DOLE^a.

^a INRA, UMR 614 FARE, 2 esplanade Roland Garros, F-51100 Reims, France

^b GRESPI-ECATHERM EA 4301, URCA, UFR Sciences, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2

e-mail: jean-eudes.maigret@reims.inra.fr

Ce travail s'inscrit dans un ensemble de stratégies actuellement testées pour accéder à la distribution in-situ des températures de transition vitreuse des polymères lignocellulosiques constitutifs des parois végétales, ce qui présente un intérêt à la fois académique et applicatif. Les travaux sont réalisés à l'aide d'un microscope thermique μ TA 2990 sur différents polymères pour référence, et sur un échantillon de cellules de peuplier. Le dispositif expérimental permet de procéder à une analyse thermique locale et d'obtenir des images topographiques de l'échantillon et du flux thermique dissipé par la sonde à température donnée.

Lors d'une analyse thermique locale, la sonde thermique est utilisée pour générer une rampe linéaire de température. Grâce à la mesure de la puissance dissipée par la sonde et à l'étude de ses variations, une information liée à la conductivité thermique et à la capacité thermique spécifique des zones sub-surfaciques étudiées peut être obtenue.

Etant donnée la dimension d'une paroi végétale (quelques μm), il convient de trouver un compromis entre la nécessité de disposer d'une grande résolution spatiale et le besoin de solliciter thermiquement une zone relativement importante afin d'améliorer la sensibilité aux variations de capacité thermique liées au passage d'une transition de phase. Une alternative à ce dilemme est de déplacer la sonde à une vitesse donnée en fixant sa température. Cette méthode permet de solliciter un volume d'échantillon plus grand, tout en conservant une bonne résolution spatiale car la quantité de chaleur diffusée dans l'échantillon lors de la mesure est d'autant plus faible que la vitesse de déplacement est élevée. Cependant, la méthode de calibration en température de la sonde habituellement réalisée en mode local n'est plus valable. Nous proposons d'établir alors une nouvelle loi d'échelle en température à partir d'échantillons polymères standards (polyéthylène téréphtalate, acide polylactique) analysés préalablement par calorimétrie différentielle à balayage.

Les premières investigations sur les parois végétales de peuplier par micro-analyse thermique à balayage démontrent la possibilité d'exploiter la topographie de surface ainsi que les signatures thermiques pour visualiser les zones de transitions. L'existence d'une température de transition vitreuse variant entre 65°C et 71°C a ainsi pu être établie le long d'une ligne de surface traversant une mince paroi d'une cellule de peuplier, de moins de 2 μm d'épaisseur.

Impact des pratiques culturelles sur les fibres de chanvre (*Cannabis sativa* L.) à destination d'agromatériaux

Fernandez-Tendero E^{a,b,d}, Day A^b, Augier L^a, Legros^c S, Hawkins S^b, Chabbert B^d

^a *Fibres Recherche Développement, Troyes, France.*

^b *Université Lille Nord de France, Lille 1 UMR INRA 1281, SADV, F-59650, Villeneuve d'Ascq cedex, France*

^c *CETIOM- ITC, Troyes, France*

^d *UMR614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement Reims, France.*

e-mail: eva.fernandez@reims.inra.fr

La culture de chanvre pour la production de fibres à usage industriel a connu un fort développement au cours des dernières années. En raison de leurs propriétés intrinsèques, les fibres longues de chanvre (sclérenchyme) situées en périphérie de la tige, constituent une alternative respectueuse de l'environnement aux fibres de verre dans la fabrication de composites base polymère. Les caractéristiques physico-chimiques de ces fibres végétales représentent un paramètre majeur dans les propriétés des agro-matériaux, conditionnant ainsi les marchés d'application. Dans ce contexte, la connaissance du développement et de l'architecture de la paroi des fibres permettra le développement de matériaux composites standardisés plus performants. Les caractéristiques structurales et les propriétés mécaniques des fibres sont fortement conditionnées par le contexte environnemental de la culture [1]. La plupart de ces études indiquent un effet des pratiques agricoles sur le rendement en fibres et/ou leur composition, généralement à une seule échelle d'observation.

Dans le cadre du projet MAPROFI axé sur la maîtrise des propriétés des fibres de chanvre pour ses valorisations en agro-composites, l'impact des pratiques culturelles sur les fibres de chanvre de deux variétés a été examiné en privilégiant différentes échelles d'observation. La démarche expérimentale a consisté à comparer les tissus de tige de chanvre selon leur position dans la tige en combinant des approches macroscopiques (morphologie de la tige), microscopiques (architecture tissulaire, morphologie des fibres) et spectroscopiques (FTIR).

Les premiers résultats montrent que la quantité de fibres secondaires est affectée par l'irrigation et la densité de semis. Ces pratiques culturelles ont également un effet sur l'organisation et la distribution des fibres primaires dans la tige. Ces observations indiquent une adaptation de la plante par la mise en place des structures fibreuses spécifiques en réponse aux différentes conditions de culture.

Le contrôle de ces paramètres agri-cultureux permettra de maîtriser la qualité des fibres et leur adaptation aux procédés de transformation et fabrication des agro-matériaux selon les exigences industrielles

[1] Westerhuis, W., Amaducci, S., Struik, P. C., Zatta, A., van Dam, J. E. G., Stomph, T. J. (2009) Sowing density and harvest time affect fibre content in hemp (*Cannabis sativa*) through their effects on stem weight. *Annals of Applied Biology* 155 225-244.

Impact de prétraitements chimiques sur les phénols pariétaux et la saccharification enzymatique de miscanthus

Belmokhtar N.^{1,2}, Habrant A.¹, Lopes-Ferreira N.², Chabbert B.¹

¹UMR FARE, INRA-URCA, BP 224, 51686 Reims cedex France

²IFP Energies nouvelles, 1&4 avenue du Bois Préau, 92500, Rueil-Malmaison France

Correspondance: Nassim.Belmokhtar@reims.inra.fr

Le miscanthus (*Miscanthus giganteus*) est une graminée pérenne à forte productivité de biomasse aérienne susceptible de se substituer à l'énergie fossile sous forme de biocarburants de seconde génération. Parmi les ressources lignocellulosiques, le miscanthus est l'une des espèces candidates pour la production par voie biologique de bioéthanol à partir de cellulose. L'efficacité de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose en sucres fermentescibles est entravée par plusieurs facteurs physicochimiques et structuraux liés à la nature et l'architecture des parois lignocellulosiques. Les principaux facteurs limitant l'accessibilité des enzymes à leur substrat sont liés à l'agencement des polymères pariétaux et la présence de lignine qui favorisent la fixation non productive des hydrolases. Des prétraitements sont donc nécessaires pour réduire la complexité de ces réseaux lignocellulosiques et faciliter l'accès des enzymes à la cellulose

Afin d'identifier les principaux verrous liés aux constituants phénoliques pariétaux qui limitent la saccharification enzymatique, nous avons comparé l'effet de prétraitements acide et alcalin sur l'efficacité d'un cocktail cellulolytique fongique sur des fragments de tige de miscanthus. En particulier, nous avons tenté de préciser l'impact de l'hétérogénéité des parois en fonction des types cellulaires.

Aucune altération des tissus n'a été observée après 144h d'incubation enzymatique d'échantillons de miscanthus non prétraités contrairement aux échantillons prétraités. Une investigation détaillée de la distribution de la lignine et des acides phénoliques au sein des parois secondaires du sclérenchyme épidermique et périfasciculaire, des vaisseaux et du parenchyme a été réalisée par micro spectrophotométrie UV à transmission. La comparaison des spectres d'absorbance après prétraitement montre une réduction variable de la lignine et des composés phénoliques en fonction des types cellulaires. L'hétérogénéité de distribution des composés phénoliques au sein des types cellulaires pourrait impacter l'efficacité des prétraitements en vue d'améliorer la saccharification de la lignocellulose.

Amélioration de la saccharification chez les mutants *cad* de *Brachypodium*

Bouvier d'Yvoire M^a, Sibout R^a, Bouchabke O^a, Legay S^a, Darracq O^a, Antelme S^a, Gomez L^b, Cezard L^a, Lapierre C^a. & Jouanin L^a.

^a Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB), UMR1318 INRA-AgroParisTech, 78026 Versailles, FR

^b Centre for Novel Agricultural Products, Biology Dept, University of York, York YO10 5 YW, UK

e-mail: madeleine.bouvier-dyvoire@versailles.inra.fr

Les biocarburants de seconde génération, utilisant les sucres fermentescibles provenant des parois de plantes à faible apport énergétique, pourraient constituer une solution à l'augmentation des besoins énergétiques avec un faible impact sur les ressources alimentaires. Les céréales présentent des caractéristiques avantageuses dans cette optique et *Brachypodium distachyon* a récemment été choisi comme plante modèle pour les céréales de climat tempéré.

Les lignines sont des polymères importants des parois cellulaires secondaires dont la quantité et la composition dépendent de facteurs intrinsèques mais également environnementaux. Elles proviennent de la polymérisation des monolignols. Les lignines confèrent aux parois végétales leur hydrophobicité et leur rigidité, permettant la croissance et le maintien en milieu terrestre ainsi que la conduction de la sève. Cependant, elles représentent un obstacle à beaucoup de procédés industriels ciblant la cellulose ou les hémicelluloses, et il devient alors nécessaire de les éliminer par des techniques souvent chères, polluantes et nécessitant un fort apport en énergie.

Il a été montré que les rendements de saccharification (conversion enzymatique de la cellulose en sucres fermentescibles en éthanol-carburant) sont améliorés chez les plantes moins lignifiées. Afin d'identifier des compositions pariétales plus favorables à la saccharification, les mutants de la collection de *Brachypodium* de Versailles ont été criblés sur la base de la couleur des tiges, les éléments vasculaires oranges, rouges ou marrons constituant chez d'autres espèces un signe de lignines altérées. Les mutants identifiés, nommés « *brown stem* » (*bs*), ont été analysés et certains présentent une saccharification améliorée. Parmi eux, nous avons identifié des mutants dans un gène candidat *CAD* (cinnamyl alcool déshydrogénase) impliqué dans la dernière étape de biosynthèse des monolignols. Ces mutants ont moins de lignines et ces lignines sont enrichies en groupes phénoliques libres, en unités sinapaldéhydes et en liaisons résistantes. Par ailleurs, ils présentent les plus hauts rendements de saccharification des lignées *bs*. La complémentarité fonctionnelle de mutants *cad* d'*Arabidopsis thaliana* et de *Brachypodium* par ce candidat confirme sa fonction. Des lignées RNAi *CAD* sont en cours de sélection afin d'analyser des lignées dont plusieurs gènes de la famille multigénique *CAD* seront éteints.

Résumés des Posters



Liste des Posters

P1

Impact de la composition de la paroi de paille de blé sur la mouillabilité et la conversion enzymatique par des cellulases de *Trichoderma reesei*.

Baumberger S., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

stephanie.baumberger@versailles.inra.fr

P2

Impact of secondary cell wall composition variability, in natural *Brachypodium distachyon* accessions, on saccharification yield.

Legay S., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

sylvain.egay@versailles.inra.fr

P3

Caractérisation de lignines de graminées par FTIR. Discrimination des spectres par analyse en composantes principales

Chazal R., *INRA Angers-Nantes*

r.chazal@hotmail.fr

P4

Constitution d'une collection de mutants de *Brachypodium distachyon* et identification de mutants d'intérêt.

Darracq O., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

olivier.darracq@versailles.inra.fr

P5

Effect of water deficit on the cell wall composition of date palm (*Phoenix dactylifera* var. *Deglet nour*) fruits and roots

Gribaa A., *Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen*

ali.gribaa@etu.univ-rouen.fr

P6

Adsorption des éléments traces métalliques par les écorces et les endocarpes des fruits de l'Arganier Algérien.

Optimisation des propriétés par modifications induites par voies chimique.

Hachem K., *LP2VM, université d'Oran (Algérie)*

kadda46@hotmail.com

P7

Biochemical characterization and regulation of AtPME3.

Lamour R., *Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen*

romain.lamour@univ-rouen.fr

P8

Les liaisons β -O-4 dans tous leurs états

Méchin V., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

P9

Arabinoxylans and desiccation tolerance in the South African resurrection grass *Eragrostis nindensis*.

Plancot B., *Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen*
barbara.plancot@etu.univ-rouen.fr

P10

Silencing of GDP-D-mannose 3,5-epimerase (GME) affects L-galactose incorporation in rhamnogalacturonan II (RG-II) and induces both partial dimerisation of RG-II and growth defects in tomato plants.

Voxeur A., *Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen*
aline.voxeur@univ-rouen.fr

P11

Diminution de la teneur en lignines d'*Arabidopsis thaliana* par la surexpression de microRNAs ciblant les laccases

Mazel J., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*
julien.mazel@versailles.inra.fr

P12

Spécificité des Laccases végétales dans la polymérisation *in vitro* et *in vivo* des monolignols

Baratiny D., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*

P13

Dissecting the link between pectin metabolism and morphogenesis in a simple plant developmental model

Mravec J., *Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles*
jmravec@versailles.inra.fr

P14

Search of secreted proteins involved in construction and deconstruction of cell walls in *Brachypodium distachyon*.

Douché T., *Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales UMR 5546, Castanet-Tolosan*
lezica@lrsv.ups-tlse.fr

P15

Production de PME d'*Arabidopsis* hétérologues et caractérisation fonctionnelle

Rayon C., *EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens*
catherine.rayon@u-picardie.fr

P16

Formation et structure du mucilage séminal chez le lin

Pageau K., *EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens*
ovw@u-picardie.fr

P17

Vers l'identification des molécules responsables des propriétés mécaniques de la couche G du bois de tension

Guedes F., *INRA, UR588 Amélioration, Génétique, et Physiologie Forestières, Orléans*
fernanda.guedes@orleans.inra.fr

P18

Caractérisation de peupliers transgéniques surexprimant *PtaRHE1*, un gène codant pour une protéine de type RING2

Moussawi J., *Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Gosselies, (Belgique)*

jihadelmoussawi@hotmail.com

P19

Un réacteur pour comprendre la saccharification de la biomasse végétale

R. Looten, M.-F., *UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, INRA, Nantes*

rlooten@nantes.inra.fr

P20

QTL for biomass quality in three recombinant inbred line (RIL) progenies of *Arabidopsis thaliana* and search for candidate genes involved in cell wall biosynthesis and degradability

Barrière Y., *Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes INRA, Lusignan*

yves.barriere@lusignan.inra.fr

P21

Involvement of two Pectin methylesterases AtPPME1 and AtPME48 during Arabidopsis pollen tube growth.

Lehner A., *Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen*

arnaud.lehner@univ-rouen.fr

P22

Synchrotron FTIR assessment of chemical heterogeneity of grass cell walls and modifications induced by polysaccharide-active enzymes

Chabbert, B., *UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims*

chabbert@reims.inra.fr

P23

Identification de mutants paroi chez le lin (*Linum usitatissimum* L.) : Criblage haut débit d'une collection EMS.

Chantreau M., UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1

simon.hawkins@univ-lille1.fr

P24

Inactivation génique induite par le TRV chez *Linum usitatissimum*

Chantreau M., UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1

simon.hawkins@univ-lille1.fr

P1

Impact de la composition de la paroi de paille de blé sur la mouillabilité et la conversion enzymatique par des cellulases de *Trichoderma reesei*.

Heiss-Blanquet S.^{a*}, Zheng D.^b, Lopes Ferreira N.^a, Lapierre C.^b & Baumberger S.^b

^a IFP Energies nouvelles, 1 et 4, avenue de Bois-Préau, 92852 Rueil-Malmaison, France

^b Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318 AgroParisTech/INRA, Pôle Systèmes Cellulaires, Morphogénèse et Signalisation, 78026 Versailles, Cedex, France.

e-mail: stephanie.baumberger@versailles.inra.fr

La conversion des ressources ligno-cellulosiques en éthanol par biocatalyse implique le pré-traitement de la matière première, l'hydrolyse enzymatique de la fraction polysaccharidique par des cellulases puis la fermentation du glucose libéré et la récupération de l'éthanol produit. Comprendre les facteurs contrôlant l'étape d'hydrolyse enzymatique est primordial pour améliorer le rendement de conversion en glucose et ainsi déduire le coût global de la production d'éthanol.

Cette étude se focalise sur l'impact de la composition de la paroi végétale sur l'adsorption des cellulases et sur la dégradabilité de la paille de blé. Des échantillons couvrant une large gamme de teneurs en lignine ont été obtenus en soumettant un échantillon de paille de blé initial soit à une délignification organosolv soit à une explosion à la vapeur suivie d'une cellulolyse progressive. Des tests de mouillabilité appliqués à des pastilles de paille broyée et compactée ont montré l'existence d'une corrélation positive ($R^2=0,89$) entre la teneur en lignine Klason et l'hydrophobicité du matériel ligno-cellulosique. Inversement, l'adsorption des trois principales cellulases (Cel7A (CBH1), Cel6A (CBH2) and Cel7B (EG1)) de *Trichoderma reesei* et l'activité cellulolytique globale des enzymes adsorbées sont apparues inversement proportionnelles à la teneur en lignine, et donc à l'hydrophobicité. De plus, la proportion des enzymes liées à la paroi de façon non spécifique s'est avérée dépendre à la fois de l'enzyme et de la teneur en lignine.

Si la teneur en lignine apparaît donc comme un des facteurs limitant l'hydrolyse enzymatique, la contribution de la porosité et de la surface accessible sur l'adsorption des cellulases reste à étudier indépendamment du facteur lignine. Appliqués à d'autres types de substrats ligno-cellulosiques, les tests de mouillabilité et d'adsorption permettront en outre de confirmer si l'hydrophobicité peut être utilisée comme indicateur de l'adsorption des cellulases.

P2

Impact of secondary cell wall composition variability, in natural *Brachypodium distachyon* accessions, on saccharification yield.

Legay S., Oudihat M., Darracq O., Antelme S., Lapierre C., Jouanin L., Sibout R.

IJPB-UMR1318 INRA AgroParisTech, Centre INRA Versailles-Grignon, France.

e-mail: sylvain.legay@versailles.inra.fr

Lignocellulosic derived biomass represents one of the most abundant renewable sources of carbohydrate for the production of bioenergies. Amongst the available biomass, emerging bioenergy crops such as grasses show great potential for the production of lignocellulose. In the last few years *Brachypodium distachyon* has come forth as a model for temperate grass species due to numerous advantages: small stature, low growth requirements, genomic resources ... Still relatively little is known about the secondary cell wall composition in *Brachypodium*. To gain insight on the variability of the secondary cell wall composition of *Brachypodium*, we selected a collection of natural accessions of *Brachypodium* in order to conduct a detailed biochemical analysis of the different secondary cell wall polymers. A total of 22 natural accessions of *Brachypodium* were selected based on differences of ploidy, genotypes and phenotypes. Total biomass production, as well as NIRS and FTIR spectral analysis of stems enabled the classification of the accessions in 3 groups. Further detailed analysis of lignin and polysaccharide composition was accessed. Finally, to investigate the potential impact of the cell wall composition variability on the production of bioethanol, we conducted saccharification assays to evaluate the sugar yield.

Caractérisation de lignines de graminées par FTIR. Discrimination des spectres par analyse en composantes principales

Chazal R^a, Guillon F^a, Saulnier L.^a, Lapierre C^b, Robert P^a.

^aINRA Angers-Nantes, rue de la géraudière BP 71627, 44316 Nantes.

^bINRA, Centre de Versailles-Grignon, Route de Saint-Cyr (RD10), 78026 Versailles Cedex

Email : r.chazal@hotmail.fr

En raison de l'épuisement des ressources fossiles, le développement des biocarburants de seconde génération est un enjeu majeur des prochaines années. Les tiges de graminées, constituées de parois lignocellulosiques, représentent une part importante de la biomasse disponible n'entrant pas en compétition avec des usages alimentaires. La principale limite rencontrée pour la conversion de ces ressources en éthanol résulte des difficultés liées à la dégradation enzymatique des polysaccharides. Les parois des tiges de graminées sont constituées d'un réseau de microfibrilles de cellulose inclus dans une matrice d'hémicelluloses et de lignines. L'amélioration de la dégradabilité requiert divers pré-traitements visant à augmenter l'accessibilité des polysaccharides aux enzymes. S'il est établi que le premier facteur affectant la dégradabilité des tiges est la teneur en lignines, d'autres paramètres tels que la structure des lignines ou leurs liaisons avec les polysaccharides peuvent moduler la dégradabilité.

L'objectif de notre étude est de développer des outils pour la caractérisation des polymères pariétaux des tiges de graminées. La spectroscopie infrarouge est une méthode puissante pour la caractérisation des polymères.

La spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier (FTIR) appliquée au matériel pariétal issu de graminées (paille de blé, paille de brachypodium, entrenœud sous épi de maïs des lignées F2, F2bm1, F2bm3, F4) permet de caractériser les lignines (1600, 1500 et 1247 cm^{-1}), la cellulose (1160, 1060, 1030, 980 et 890 cm^{-1}), et les xyloanes (1150, 1041, 891 cm^{-1}).

Les lignines des graminées retenues ont été extraites au dioxane chlorhydrique et purifiées par précipitation dans l'eau avant lyophilisation. Les spectres infrarouge présentent des bandes d'absorption caractéristiques de groupements carbonyles (entre 1700 et 1640 cm^{-1} , carbonyles non conjugués et carbonyles conjugués), de cycles aromatiques (1600, 1510 et 1420 cm^{-1}) ainsi que des bandes plus spécifiques des noyaux syringyles (S) diméthoxylées (1330 cm^{-1}) ou guaiacyles (G) monométhoxylées (1270 cm^{-1}). Les analyses en composantes principales montrent que les lignines de maïs se différencient des lignines de blé et de brachypodium par une quantité plus importante de liaisons C=O conjuguées attribuables aux esters p-coumariques abondants dans ces lignines. Les conséquences des mutations cinnamyl alcool déshydrogénase (CAD, mutant F2bm1) et caffeoyl-O-méthyltransferase (COMT, mutant F2 bm3) sur la structure des lignines sont également montrées. Par rapport à F2, les lignines de F2bm1 sont enrichies en groupes cinnamaldéhydes conjugués (1659 cm^{-1}) tandis que celles de F2bm3 sont appauvries en unités syringyles (1330 cm^{-1}) et enrichies en unités guaiacyles (1270 cm^{-1}).

Ces résultats préliminaires nous permettront de construire une base de données pour la caractérisation FTIR des parois lignocellulosiques et des produits issus de leur fractionnement.

Constitution d'une collection de mutants de *Brachypodium distachyon* et identification de mutants d'intérêt.

Darracq O^a, Oria N^a, Antelme S^a, Dalmais M^b, Bendahmane A^b, Jouanin L^a & Sibout R^a.

^a IJPB, UMR1318 INRA-AgroParisTech, 78026 Versailles

^b URGV, UMR1165, Evry

e-mail: olivier.darracq@versailles.inra.fr, nicolas.oria@versailles.inra.fr

La production d'agrocarburants de seconde génération issus de la biomasse des céréales est un nouvel enjeu pour l'agriculture. Elle nécessite une meilleure connaissance des mécanismes de synthèse de la paroi des cellules végétales et de ses constituants (cellulose, lignines, hémicellulose). La sélection de plantes agronomiques sur des critères pariétaux permettra ainsi d'améliorer les rendements de saccharification. La petite monocotylédone, *Brachypodium distachyon*, présente les critères nécessaires pour en faire une plante modèle. Elle est phylogénétiquement proche des céréales cultivées dans les pays tempérés (blé, orge...) et son génome vient d'être séquencé. Afin de procéder à des études de génétique forward et reverse, l'IJPB et l'URGV ont produit une collection de mutants chez *Brachypodium*. Cette population de 5600 lignées a été générée par mutagenèse chimique à l'azide de sodium. Suite à cette étape de production, différents outils de génétique ont été mis en place pour la détection de mutants potentiellement intéressants. Premièrement, une plateforme TILLING (Targeted Induced Local Lesions IN Genome) a été créée à l'URGV. Le TILLING est une technique de génétique inverse qui permet de cribler par une approche moléculaire des mutations induites dans le génome d'une plante. Nous avons jusqu'à maintenant détecté dans cette collection, 40 mutants d'intérêts pour cinq gènes candidats potentiellement impliqués dans la lignification. Nous estimons le taux de mutations de la population à 1/566 kb. Deuxièmement, des approches complémentaires de génétique classique (forward) ont été développées. Ainsi, 500 familles M2 (3000 mutants) ont été phénotypées à différents stades du développement des plantes (post-levée, épiaison, maturité). Plus de 60 phénotypes ont été relevés : ils concernent l'aspect général de la plante (tallage, taille) et toutes les parties aériennes (talles, feuilles, épis, grains). Les résultats de ce crible sont disponibles en ligne (<http://urgv.evry.inra.fr/UTILLdb>). Enfin, un crible de détection de mutants de paroi à haut débit est en cours de développement. Il utilise la NIRS (Near Infra-Red Spectroscopy), une approche basée sur l'analyse statistique des données spectrales. Ce crible a permis d'identifier des lignées d'intérêt.

Ces trois outils, très complémentaires, ont permis d'identifier de nombreux mutants, en particulier des mutants pour des gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des lignines. Des analyses complémentaires sont actuellement menées sur les générations suivantes afin de caractériser plus en détail les mutations dans des gènes connus (TILLING) ou d'identifier de nouveaux gènes (NIRS et phénotypage visuel).

Effect of water deficit on the cell wall composition of date palm (*Phoenix dactylifera* var. *Deglet nour*) fruits and roots

Gribaa A.^{ab}, Dardelle F.^a, Rihouey C.^c, Bernard S.^a, Burel C.^a, Driouich A.^a & Mollet J-C.^a

^a*Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, and ^aPlate-forme en Imagerie PRIMACEN de l'IFRMP23, Université de Rouen, France.*

^b*Aridocultures et Cultures Oasiennes, Institut des Régions Arides, Tunisie.*

^c*Polymères-Biopolymères-Surfaces, UMR CNRS 6270 Université de Rouen, France.*

e-mail : ali.gribaa@etu.univ-rouen.fr

Phoenix dactylifera var. *Deglet nour* is the major date palm tree cultivated in the (semi)-arid regions of Northern Africa and especially in Tunisia. It has also a very important economical value for export because of the high gustative quality of the fruits. Nevertheless, one of limiting factor to reach full maturity, a major determinant for the fruit quality, is water. With the increasing period of drought in Tunisia and the lack of water irrigation in many plantations, we aim to determine the impact of water deficit on the growth, protein profile and cell wall polysaccharides (1) of fruits harvested at different development stages in irrigated and non-irrigated palm tree plantations and (2) of 6 month-old plantlets submitted to different water field capacities (FC=100, 60 and 20%). Fruits collected in the non-irrigated plantation displayed a dramatic decrease in size compared to the irrigated situation, especially during the last stages of development. The root and shoot systems of plantlets cultivated under low water supply (60 and 20% FC) were also affected by a clear reduction of the length of leaves and primary roots. The stressed plants exhibited also a progressive short tuberized root phenotype with an important reduction of lateral root branching. A return to 100% irrigation slightly reversed the phenotype to normal. Cell wall polymers of fruits and roots were investigated by immuno-cytochemical techniques using a set of monoclonal antibodies directed against polysaccharides and glycoproteins epitopes. Moreover, the cell wall was sequentially fractionated with hot water, ammonium oxalate, sodium carbonate and KOH to obtain pectin and hemicellulose enriched fractions. Data regarding the composition and localisation of the different cell wall polymers in the fruits and roots under these different water stress conditions are presented.

P6

Adsorption des éléments traces métalliques par les écorces et les endocarpes des fruits de l'Arganier Algérien.

Optimisation des propriétés par modifications induites par voies chimique.

Hachem K^a, Gloaguen V^b. & Kaid-harche M^a.

^a *Laboratoire des Productions, Valorisations Végétales et Microbiennes, LP2VM, Faculté des Sciences, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, ALGERIE*

^b *Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, EA1069, Faculté des Sciences et Techniques, 123 avenue Albert Thomas, F-87060 Limoges, France*

e-mail: kadda46@hotmail.com

Dans le cadre d'une politique de développement durable, la chimie des substances renouvelables fait l'objet d'une attention particulière. En effet, la biomasse trouvera à moyen terme une place de choix non seulement de par sa contribution dans le secteur énergétique (biocarburant par exemple), mais aussi parce qu'elle constitue la seule matière première renouvelable substituable au pétrole pour la pétrochimie. Entre autres caractéristiques, les activités agricoles et forestières génèrent des quantités considérables de sous produits ou produits connexes lignocellulosiques qui proviennent de la transformation des matières premières d'origine végétale.

La présente contribution vise à valoriser chimiquement les écorces et les endocarpes des fruits d'Arganier d'origine Algérienne dans le domaine de la biosorption. Un tel phénomène repose sur la capacité à adsorber les cations métalliques qui sont présents dans les eaux polluées.

Les capacités d'adsorption d'éléments trace métalliques (ETM) du Plomb et du Cadmium sur des poudres brutes d'écorce et d'endocarpe de l'arganier sont caractérisées par l'isotherme d'adsorption de Langmuir qui conduit aux valeurs de q_{\max} (capacité d'adsorption maximale en cations métalliques) et de b (constante de Langmuir). Ces dernières sont liées aux caractéristiques physico-chimiques des cations et les biosorbants utilisés.

Les écorces et les endocarpes sont ensuite modifiées chimiquement afin d'améliorer leur capacité d'adsorption du Pb^{2+} . Leurs polysaccharides constitutifs sont soumis à une fonctionnalisation aldéhyde par oxydation périodique. Les fonctions aldéhyde sont oxydées ensuite par le chlorite de sodium et du TEMPO (oxyde de 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine. Les matériaux obtenus sont caractérisés par spectroscopie infrarouge et Ph métrie. Les résultats montrent que leurs comportements pour le Pb^{2+} dévoilent une élévation sensible des valeurs de q_{\max} et de b sans oublier des pertes de masse parfois importantes induites par ces modifications.

Biochemical characterization and regulation of AtPME3.

Lamour R.^a, Mareck A.^a, Assoumou Y.^b, Sénéchal F.^b, Guerineau F.^b, Wuytswinkel OV.^b, Driouich A.^a, Gutierrez L.^b, Pelloux J.^b & Lerouge P.^a.

^a EA4358-GlycoMEV, Rouen, France

^b EA3900- BioPI, Amiens, France

email: romain.lamour@univ-rouen.fr

Plant growth is explained by two complementary phenomena, cell division and cell elongation. If the process of cell division is relatively known, little information is available on the regulation of cell elongation. The cell elongation is driven by turgor pressure and depends on specific changes in the primary cell wall. These changes in the extensibility of the cell wall are reflected in a family of polysaccharides, the pectins.

Pectins are a family of highly complex cell wall polysaccharides rich in galacturonic acid (GalpA). The most simple domain of pectins is represented by the Homogalacturonan (HGA). HGA is a linear homopolymer of α -(1-4) linked galacturonic acids, which can be either methylesterified at the C-6 carboxyl or carry acetyl groups at O-2 and O-3. They are synthesized in the *Golgi* apparatus and secreted in a fully methylesterified form into the cell wall. Once released, HGA can be specifically de-methylesterified by a large family of pectin methylesterase (PMEs) whose activity is controlled by endogenous pectin methylesterase inhibitors (PMEIs) (Pelloux et al.2008).

Our project focuses on the biochemical characterization of an ubiquitous pectin methylesterase (AtPME3) in *Arabidopsis thaliana*. For this purpose, plants exhibiting no expression of this PME (KO insertion mutant) have been compared with the wild type. A study on the regulation of this PME by different PMEIs is presented.

Les liaisons β -O-4 dans tous leurs états

Zhang Y^a., Zheng D^a., Lapierre C^a., Baumberger S^a. & Méchin V^a.

^a Equipe "Lignines, tannins: structures, assemblages et valorisation", Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, 78026 Versailles Cedex, France

Dans le contexte actuel de valorisation des lignocelluloses, la question de la lignification des parois est une question clé. Dans ce cadre, nous combinons des approches d'études structurales des lignines issues de plantes ou de matériaux agro-sourcés et de modélisation *in vitro* de la biosynthèse des lignines. Nous nous focalisons ici sur l'impact des liaisons β -O-4 sur la dégradabilité de paroi de maïs, sur l'évolution de ces liaisons au cours de traitements de greffage impliquant des lignines industrielles de graminées et sur l'étude de leur mise en place par modélisation *in vitro*.

Nous avons sélectionné des lignées de maïs à teneur comparable en lignine et avons, au sein de ce matériel, mis en évidence une corrélation négative et significative entre le rendement en unités liées uniquement par des liaisons β -O-4 et la dégradabilité des parois. Ainsi, une lignine plus riche en liaisons β -O-4 entraîne une diminution de la dégradabilité de paroi. Les lignines riches en liaisons β -O-4 sont plus linéaires ce qui permet la mise en place de nombreuses liaisons H avec les polysaccharides, limitant ainsi la dégradabilité des parois.

En étudiant la réactivité d'un système amidon-lignines au cours d'un traitement sous faisceau d'électrons, nous avons montré que l'évolution de la proportion d'unités de lignines uniquement liées en β -O-4 pouvait être utilisée comme indicateur du greffage et de l'hydrophobation de surface du matériau. Ces deux phénomènes sont en outre favorisés par la présence de composés phénoliques extractibles de faibles masses molaires.

Tout ceci illustre le fait que la proportion de liaisons β -O-4 dans les lignines est un paramètre clé permettant de rendre compte de leur effet barrière au sein d'une matrice de polysaccharides.

Afin de mieux appréhender les mécanismes de mise en place de ces liaisons β -O-4 au sein des lignines, nous avons développé une méthode de polymérisation *in vitro* pour synthétiser des lignines mimant assez fidèlement les lignines naturelles. Nous avons alors i) montré l'impact des variations de quantité de peroxidase sur la structure du polymère synthétisé et plus particulièrement sur la proportion de liaisons β -O-4 puis ii) étudié les mécanismes de polymérisation des sous unités de lignines. Nous avons montré que le seul ajout d'unités S fait basculer le mécanisme bulk (forte proportion de liaisons C-C) de polymérisation des unités G vers un mécanisme endwise (allongement progressif des oligomères avec une forte proportion de liaisons β -O-4). Un suivi cinétique nous a permis de définir la séquence de mise en place des liaisons entre monomères et d'identifier les étapes clés auxquelles la structure des lignines est programmée.

Arabinoxylans and desiccation tolerance in the South African resurrection grass *Eragrostis nindensis*.

Plancot B^a, Bourhis-loutelier C^b, Cooper K^c, Bardor M^a, Lerouge P^a, Farrant J^c,
Driouich A^a & Vicro-Gibouin M^a.

^a *Laboratoire Glyco-Mev- EA 4358- IFRMP23. Plateforme de Recherche en Imagerie Cellulaire de HN Faculté des Sciences Université de Rouen 76 821 Mont saint Aignan.*

^b *UMR 6014 Université de Rouen 76 821 Mont saint Aignan*

^c *Molecular and Cell Biology Dept, University of Cape Town Private Bag, Rondebosch, 7701, South Africa*

e-mail: barbara.plancot@etu.univ-rouen.fr

Eragrostis nindensis is one of the few grass worldwide able to survive severe (> 95%) water loss for a long period of time (Vander Willigen et al. 2003). Desiccation tolerance in the vegetative tissues is extremely rare in angiosperm plants concerning only 300 species, most of them being endemic to Southern Africa. These very unusual plants are termed “resurrection plants” due to their remarkable capacity to “resurrect” and recover full physiological activity after being almost completely dried (Farrant 2000; Vicro et al. 2004a; Moore et al. 2008). Drought represents a major problem facing agriculture in Africa and understanding the molecular basis of desiccation tolerance in resurrection plants is of high importance to establish African crop species more adapted to water deficit.

In order to cope with desiccation, resurrection plants have to overcome a number of stresses as water is lost from the cells. Mechanical stress consists of plasmolysis and subsequent tearing of the plasma membrane from the more rigid cell wall and results in irreversible damages for the cell (Vicro et al. 2004a). Cell wall folding occurs during desiccation in some resurrection plants such as *Craterostigma wilmsii*. This folding in *C.wilmsii* was shown to be accompanied by significant alterations of xyloglucan structure suggesting that the cell wall would have become more flexible during dehydration to prevent mechanical stress (Vicro et al. 2004b).

Our research project aimed to investigate the cell wall composition in the resurrection grass *E. nindensis*. Analyses were also performed on *Eragrostis tef*, a related species sensitive to dessication. Cell walls from hydrated and dried leaves were isolated from both species and the monosaccharides content was determined by gas chromatography. Our data show that arabinose and xylose were two predominant sugars, suggesting the presence of arabinoxylans in *Eragrostis sp*, which was confirmed by immunofluorescence studies using LM11 antibodies. Interestingly, *E. nindensis* was characterized by a high level of arabinose as compared to *E. tef*. Characterization of arabinoxylans using mass spectrometry revealed structural differences between desiccation sensitive and tolerant species. It is worth noting that arabinan side chains of pectins have been previously reported to confer flexibility to the cell wall (Moore et al. 2008).

References:

- Farrant et al. (2000) *Plant Ecol.* 151:29-39.
 Moore et al. (2008) *Plant Signaling and Behavior* 3 (2) : 102-104
 Vander Willigen et al. (2003) *Functional Plant Biology* 30 : 281-290
 Vicro et al. (2004a) *Plant Cell and Environment* 27 :1329-1340.
 Vicro et al. (2004b) *Physiol Plant* 120:229-239.

Silencing of GDP-D-mannose 3,5-epimerase (GME) affects L-galactose incorporation in rhamnogalacturonan II (RG-II) and induces both partial dimerisation of RG-II and growth defects in tomato plants.

Voxeur A.^a, Rihouey C.^b, Gilbert L.^c, Rothan C.^c, Baldet P.^c, Driouich A.^a and Lerouge P.^a

^a *Laboratoire Glyco-MEV, UPRES-EA 4358, IFRMP 23, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan, France*

^b *UMR 6270, IFRMP 23, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan, France*

^c *UMR 619 Biologie du Fruit, INRA, IFR 103, Université de Bordeaux, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France*

e-mail: aline.voxeur@univ-rouen.fr

L-galactose (L-Gal) is a rare monosaccharide which is synthesized in plants from GDP-D-mannose as its activated nucleotide sugar, GDP-L-galactose (GDP-L-Gal), by action of a cytosolic GDP-D-mannose 3,5-epimerase (GME, EC 5.1.3.18). GDP-L-Gal is involved in both L-ascorbate and rhamnogalacturonan II (RG-II) biosynthesis. Recently, it was reported that the partial inactivation of GME in RNAi-silenced tomato lines resulted in a 40-60% decrease of L-ascorbate as well as growth defects affecting both cell division and cell expansion (Gilbert *et al.*, 2009). Transgenic tomato lines exhibited an increased fragility and loss of fruit firmness. Furthermore, supplementation of RNAi-silenced lines by L-Gal was demonstrated to be able to rescue wild-type levels of L-ascorbate but has no effect on growth defects. Thus, this suggests that developmental phenotypes in GME-deficient lines are likely not related to L-ascorbate deficiency but to the alteration of a L-Gal-containing polysaccharide such as RG-II.

RG-II is a structurally complex pectic polysaccharide found in the primary cell walls of all vascular plants. RG-II exists in the wall as a dimer that is cross-linked *via* a borate diester bond between two side-chains. This *in muro* cross-linking of RG-II was proposed to regulate the porosity and mechanical properties of primary cell walls. Despite its complexity, the structure of RG-II is conserved in vascular plants. This suggests that proteins involved in RG-II synthesis appeared early in land plant evolution and that RG-II is central for the function of the primary cell wall. In the present study, we demonstrate that the silencing of GME in tomato affects the L-Gal incorporation in RG-II of the primary cell wall and the *in muro* dimerisation. Furthermore, supplementation of GME-deficient plants with boron was able to restore a wild-type growth phenotype. In conclusion, this study further underlines the crucial role of the boron-mediated cross-linking of RG-II in the plant development.

Gilbert L, et al. (2009) GDP-D-mannose 3,5-epimerase (GME) plays a key role at the intersection of ascorbate and non-cellulosic cell-wall biosynthesis in tomato. Plant J.; 60: 499-508

Diminution de la teneur en lignines d'*Arabidopsis thaliana* par la surexpression de microRNAs ciblant les laccases

Mazel J^a, Berthet S^{ab}, Cornuault V^a, Sibout R^a, Lapierre C^a & Jouanin L^a.

^a IJPB, UMR 1318 INRA-AgroParisTech, route de St-Cyr, 78026 Versailles CEDEX, France

^b present adress : Horticultural Sciences Department, University of Florida, Gainesville, FL32611, USA

e-mail : julien.mazel@versailles.inra.fr

Dans un contexte économique où les besoins en pétrole se font de plus en plus ressentir, il est nécessaire de mettre en place des stratégies alternatives comme le développement des biocarburants de seconde génération. La valorisation de la biomasse lignocellulosique représente un bon candidat, mais se heurte à l'impact négatif des lignines sur la conversion de la cellulose en bioéthanol.

Deux laccases contribuent significativement à la lignification de la hampe florale d'*Arabidopsis thaliana* : AtLAC4 et AtLAC17 (Berthet *et al.*, 2011). Leurs gènes sont ciblés par le même microRNA : miR397. Sa surexpression a été entreprise afin d'accentuer le clivage des transcrits laccase et de réduire ainsi la teneur en lignines dans la hampe.

Aucune expression de miR397 n'est détectée dans les conditions classiques de croissance. Des microRNAs (miRs), régulés par SPL7, réguleraient l'allocation de cuivre entre les différentes protéines à cuivre. Or, les laccases nécessitent 4 atomes de cuivre pour être fonctionnelles. En faisant croître les plantules sur milieu carencé en cuivre, une activation de miR397 a pu être établie. Des lignées d'*Arabidopsis* surexprimant miR397 ont été générées. Parmi celles-ci, sont observés des phénotypes similaires au double mutant *Atlac4xAtlac17* : un xylème collapsé et une hypolignification des fibres. Cette hypolignification est associée à un appauvrissement en unités guaiacyles (G). La réduction de la quantité de lignines laisse présager une accessibilité accrue à la cellulose.

Un second miR induit par la déficience en cuivre, miR408, a pour cible trois autres gènes de laccases : AtLAC3, AtLAC12 et AtLAC13. Seul AtLAC12 est exprimé dans la hampe d'*Arabidopsis*. Les lignées homozygotes pour la surexpression de miR408 montrent une répression des transcrits AtLAC3 et AtLAC13 dans les plantules. Dans les tiges matures, une diminution de 5% de la teneur totale en lignines par rapport au sauvage, à l'instar du simple mutant *Atlac12*, est également observée.

Si les résultats obtenus sur *Arabidopsis* sont extrapolables à des plantes d'intérêt (peuplier, riz ou maïs), l'utilisation des microRNAs est une nouvelle piste pour moduler la lignification. Ils permettraient en effet la répression simultanée de plusieurs laccases impliquées dans la formation des lignines, ce qui est indispensable dans cette famille multigénique.

Berthet *et al.* (2011) Plant Cell, doi:10.1105/tpc.110.082792.

Spécificité des Laccases végétales dans la polymérisation *in vitro* et *in vivo* des monolignols

Baratiny Da., Cottyn Ba., Berthet Sa., Jouanin La., Lapierre Ca., Ducrot P-Ha., Demont-Caulet Na b

a Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318 Inra/AgroParisTech *b* UFR des sciences du Vivant, Université Paris Diderot-Paris7, 75205 Paris Cedex 13, France

Les lignines sont des hétéropolymères composés de trois monolignols : les alcools *p*-coumarylique, coniférylique et sinapylique. Elles s'accumulent majoritairement dans la paroi secondaire des cellules, et forment une matrice autour des fibres de cellulose. Deux enzymes sont susceptibles de polymériser les monolignols : les laccases (LAC) et les peroxydases (PRX). Ces protéines oxydent les monolignols, en utilisant du dioxygène (O₂) pour les premières et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pour les secondes, permettant ainsi la polymérisation des sous unités en lignines. Deux laccases sont principalement impliquées dans la lignification chez *Arabidopsis*, LAC 4 et LAC 17, et l'absence d'expression des gènes codant ces laccases a pour conséquence une diminution de la quantité totale de lignines présente dans les tiges. La quantité de lignine chez les simples mutants est réduite de 20% et 10% respectivement par rapport à une plante sauvage et de 40% chez le double mutant. La détermination des sites d'expression de ces gènes localise LAC4 dans les fibres interfasciculaires et les vaisseaux tandis que LAC 17 est présente uniquement dans les fibres. Cette spécificité de site d'expression ainsi que la présence de sous unités monolignols G et S dans les fibres et uniquement G dans les vaisseaux pose la question d'une spécificité potentielle des enzymes vis-à-vis des monolignols. L'objectif du travail de recherche est de caractériser par des tests *in vivo* et *in vitro* la capacité des laccases à polymériser les monolignols, ainsi que l'existence ou non d'une spécificité de substrat des enzymes. Les premiers résultats de ces travaux seront présentés.

Dissecting the link between pectin metabolism and morphogenesis in a simple plant developmental model

Mravec J^a, Wolf S^a, Peaucelle A^a, Mouille G^a, Pelloux J^b & Höfte H^a.

^a *Laboratoire de Biologie Cellulaire, Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Versailles, France*

^b *Université de Picardie-Jules Verne, Biologie des Plantes et Contrôle des Insectes Ravageurs, Faculté des Sciences, Amiens, France*

e-mail: jmravec@versailles.inra.fr

In our work we are focusing on the simple plant developmental model – the *Arabidopsis* root tip to elucidate how dynamic molecular changes in one of the major components of the plant cell wall - pectin contribute to the regulation of cell elongation, morphogenesis and plant patterning. Particularly we are interested in the process of de-methylesterification of pectins by the enzymes pectin methylesterases (PMEs) and their inhibitors (PMEIs) which mainly determine the mechanical properties of the cell wall pectic matrix.

Our analysis of root specific PMEs (determination of expression and localization; isolation and phenotypic analyzes of the mutants) led to the identification of two interesting modes of regulation within the root tip. One is the regulation of pectin de-methylesterification tightly linked with the cell cycle. We hypothesize that pectin de-methylesterification plays a key role in the cell plate formation. The second mode is the regulation of maturation and sloughing off of the root cap cells. PME At2g21610 is expressed only in the outer layer of the root cap. Interestingly, its localization is not in the cell wall but in the cytosol. The root cap is a “first contact” tissue with the soil. We speculate that plasma membrane disintegration upon wounding or pathogen attack results in the leakage of PME from the cytosol into the apoplast following pectin de-methylesterification then cleavage by pectate lyases or polygalacturonases and consequently in cell separation. The details of our analyses will be presented.

**Search of secreted proteins involved in construction and deconstruction
of cell walls in *Brachypodium distachyon*.**

Douché T.^{a,b}, Valot B.^{c,d}, Roujol D.^{a,b}, Zivy M.^{c,d}, Jamet E.^{a,b} & Pont-Lezica R.^{a,b}

^a *Université de Toulouse; UPS; UMR 5546, Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales ; BP 42617, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

^b *CNRS; UMR 5546; BP 42617, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

^c *CNRS, PAPPSO, UMR 0320 / UMR 8120 Génétique Végétale, F-91190 Gif sur Yvette, France*

^d *INRA, PAPPSO, UMR 0320 / UMR 8120 Génétique Végétale, F-91190 Gif sur Yvette, France*

e-mail : lezica@lrsv.ups-tlse.fr

The development of dedicated energy crops in temperate zones has at present a technological barrier, the effective breakdown of polysaccharides into fermentable sugars, as a consequence of cross links between plant cell wall components. It is imperative to obtain fuel crops with modified cell walls adapted to high saccharification efficiency. *Brachypodium distachyon*, a model plant for temperate energy crops, is adapted to the search of secreted proteins that may be involved in the construction or/and deconstruction of cell wall architecture.

To identify the specific proteins involved in the relaxation of *B. distachyon* cell wall polysaccharides during cell elongation, the following strategy was as followed:

- 1) to compare the cell wall proteome of growing and fully grown organs (leaves and internodes);
- 2) to select the specific members of multigenic families present in growing or fully grown organs that may be important for the relaxation or the crosslinking of polysaccharides.

From the 359 proteins identified in young and mature tissues, those at least 3 fold more abundant in young (36 proteins) or mature (19 proteins) tissues were selected for additional studies. RNA abundance for the selected proteins was also measured to correlate with the results of protein abundance obtained by proteomics. The tissue and cellular localization of some proteins will be done in the near future.

Production de PME d'Arabidopsis hétérologues et caractérisation fonctionnelle

L'enfant M., Domon JM., Rosiau E., Pau C., Gillet F., Pelloux J., & Rayon C.

EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France.

e-mail : catherine.rayon@u-picardie.fr

Les pectines méthylesterases (PME, EC 3.1.1.11) sont des enzymes impliquées dans la déméthylesterification des homogalacturonanes (HGA) au sein de la paroi, conduisant à des modifications de la structure et de la charge des pectines. Les PME chez Arabidopsis sont codées par une famille multigénique dont la fonction de chaque isoforme dans le développement est pour le moment loin d'être élucidée.

Nous nous sommes intéressés à quatre gènes candidats PME (*At3g14310*, *At3g60730*, *At5g47500* et *At5g09760*) étudiés au laboratoire. Pour chacun de ces gènes, une protéine de fusion avec six résidus histidine a été obtenue en vue d'une purification. Les différents gènes ont été exprimés sous le contrôle d'un promoteur fort (35S) dans des plantes de tabac. Des analyses transcriptomiques ont confirmé l'expression du gène et l'homozygotie des plantes.

L'objectif de cette étude est d'étudier i) l'impact de l'expression d'une PME d'Arabidopsis dans des plantes de tabac ii) de purifier et de caractériser finement l'activité de chacune de ces PME.

En absence d'un phénotype drastique, nous avons déterminé la composition chimique de la paroi ainsi que l'activité PME de ces différentes lignées transgéniques. Des différences d'activité PME ont été observées chez certaines lignées transgéniques par rapport aux plantes témoins. Il apparaît également que ces différences d'activité PME sont liées au degré de méthylesterification (DM) des substrats HGA utilisés. Ceci suggère que les PME ne présenteraient pas la même affinité vis-à-vis des substrats pectiques et que cela dépendrait du DM des HGA. Des analyses préliminaires sur la composition chimique de la paroi montrent peu de variations significatives en oses neutres. D'autres résultats concernant les autres composés pariétaux (cellulose, acides uroniques, DM) obtenus par différents dosages biochimiques et par RMN seront présentés.

La purification des différentes PME a été réalisée par chromatographie d'affinité sur résine de nickel. L'activité enzymatique des PME purifiées est fonctionnelle, suggérant la bonne conformation des protéines recombinantes. La séquence peptidique des protéines purifiées est en cours de validation.

Différents motifs HGA seront testés avec les PME purifiées par des approches de spectrométrie de masse LC-MS-MS afin d'identifier ceux spécifiques à chacune des PME étudiée. Ces résultats permettront d'élucider la fonction de quelques PME végétales.

Formation et structure du mucilage séminal chez le lin

Acket S^a., Blondiaux M^a., Bouton S^a., Pageau K^a., Marcelo P^b., Fournet F^a., Pau-Roblot C^a & Van Wuytswinkel O^a.

^a BIOPI - *Biologie des Plantes et des Insectes ravageurs, Université de Picardie Jules Verne - Amiens, FRANCE*

^b ICAP – *Plateforme Ingénierie Cellulaire et Analyses des Protéines, Université de Picardie Jules Verne - Amiens, FRANCE*

e-mail: ovw@u-picardie.fr

Chez le lin, l'épiderme du tégument externe des graines produit des quantités importantes de mucilage contenant des pectines, des sucres et des protéines (Naran *et al.*, 2008). Ce mucilage constitue un matériel de choix dans l'étude de la structure des pectines végétales car il est facilement accessible, extractible et représente un co-produit valorisable (Diederichsen *et al.*, 2006; Alix *et al.*, 2008).

De plus, l'étude du mucilage constitue un bon modèle à la compréhension de la mise en place de la paroi chez les végétaux et notamment à la découverte de nouveaux gènes impliqués dans la synthèse, la sécrétion et la modification de certains composants de la paroi tels que les pectines (Arsovski *et al.*, 2010).

Notre étude consiste à caractériser, par une approche pluridisciplinaire, la formation et la structure du mucilage au cours du développement de la graine de 2 variétés de lin, Oliver - lin «huile» d'hiver et Viking - lin «fibre» de printemps. Ainsi, la structure du tégument externe, à l'origine du mucilage séminal, sera décrite *via* une approche cytologique. L'expression de gènes, identifiés chez *Arabidopsis thaliana*, impliqués dans la production du mucilage, sera analysée par PCR quantitative en temps réel. L'identification des sucres et la nature des liaisons osidiques seront réalisés par HPLC et GC-MS.

Enfin, une approche protéomique sera conduite par LC-MS/MS afin d'identifier les protéines présentes dans le mucilage séminal chez les 2 variétés étudiées.

Références bibliographiques

- Naran, R., Chen, G., and Carpita, N.C. (2008) Novel Rhamnogalacturonan I and Arabinoxylan Polysaccharides of Flax Seed Mucilage. *Plant Physiology* **148** : 132–141.
- Diederichsen, A., Raney, J.P., and Duguid, S.D. (2006) Variation of Mucilage in Flax Seed and Its Relationship with other Seed Characters. *Crop Science* **46** : 365–371.
- Alix, S., Marais, S., Morvan, C. and Lebrun L. (2008) Biocomposite materials from flax plants: Preparation and properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **39** : 1793–1801.
- Arsovski, A., Haughn, G., and Western T. (2010) Seed coat mucilage cells of *Arabidopsis thaliana* as a model for plant cell wall research. *Plant Signalling and Behavior* **5** : 1–6.

Vers l'identification des molécules responsables des propriétés mécaniques de la couche G du bois de tension

Guedes F., Takeuchi M., Laurans F. & Pilate G.

INRA, UR588 Amélioration, Génétique, et Physiologie Forestières, F-45075 Orléans cedex 2, France

e-mail: fernanda.guedes@orleans.inra.fr

Grâce à ses propriétés mécaniques particulières, la formation du bois de tension constitue un mécanisme d'adaptation remarquable permettant à l'arbre d'orienter son tronc et ses branches en réponse aux facteurs de l'environnement. Chez le peuplier, le bois de tension se caractérise par des fibres atypiques présentant une couche additionnelle appelée couche G, responsable des propriétés mécaniques du bois de tension. Il s'agit d'une couche très épaisse probablement dépourvue de lignines et fortement enrichie en microfibrilles de cellulose très cristalline orientées presque parallèlement à l'axe de la fibre.

Notre objectif est d'identifier les acteurs moléculaires responsables de la mise en tension des microfibrilles de cellulose et à l'origine des propriétés mécaniques du bois de tension : notre choix s'est porté sur des molécules composées de sucres complexes telles les pectines et la partie glycosidique des protéines à arabinogalactanes . En effet, récemment, la présence d'un large éventail de différents sucres a été mise en évidence dans la couche G, indiquant la présence de polysaccharides complexes autres que la cellulose dans cette couche.

La première étape de ce travail a consisté à étudier par immunohistochimie les fibres G du bois de tension en comparaison aux fibres de bois normal : des anticorps dirigés contre différents épitopes de polysaccharides ont révélé des différences importantes dans la répartition du marquage selon le type de bois, le type cellulaire et dans une même fibre entre les sous-couches de la paroi. Les différents résultats obtenus seront exposés et discutés sur le poster.

Caractérisation de peupliers transgéniques surexprimant *PtaRHE1*, un gène codant pour une protéine de type RING2

Moussawi J^a, Leplé J.-C^b, Mukoko Bopopi J^a, Mol A^a, Brunel N^c, Spokevicius A^d, Vandeputte OM^a, El Jaziri, M^a. & Baucher M^a

^aLaboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Gosselies, Belgique

^bUnité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, INRA Orléans, Ardon, France

^cUMR INRA PIAF, Université Blaise Pascal, AUBIER, France

^dDepartment of Forest and Ecosystem Science, School of Land and Environment, The University of Melbourne, Victoria, Australia

email : jihadelmoussawi@hotmail.com

PtaRHE1 est un gène codant pour une protéine contenant un domaine RING-H2 (Really Interesting New Gene). Les protéines RING sont largement représentées chez les plantes et jouent un rôle important dans la protéolyse ciblée, en tant que ubiquitine E3 ligase. Un test d'ubiquitination *in vitro* a montré que *PtaRHE1* possède en effet une activité E3 ligase. Par ailleurs, un test d'hybridation *in situ* a montré que le transcrite de *PtaRHE1* est localisé dans les cellules cambiales, ce qui suggère un rôle éventuel dans le développement et/ou le fonctionnement des tissus vasculaires. La surexpression de ce gène chez le tabac induit un phénotype pléiotropique caractérisé par des feuilles recourbées avec des nécroses, ainsi qu'un retard lors des premières étapes de croissance par rapport au type sauvage (Mukoko Bopopi et al., 2010).

Dès lors, afin de mieux caractériser la fonction de *PtaRHE1*, des lignées de peupliers (*P. tremula* x *P. alba*, clone INRA 717-1B4) transgéniques surexprimant *PtaRHE1* ont été produites. Lorsqu'elles ont été transférées en serre, certaines de ces lignées présentent un phénotype similaire aux tabacs transgéniques, avec des feuilles qui s'enroulent vers l'intérieur. Un autre trait marquant du phénotype des peupliers transgéniques est une altération dans le port dressé. En effet quatre lignées transgéniques se sont totalement affaissées lorsqu'elles ont atteint une certaine taille. Ces plantes se sont ensuite redressées mais en présentant une forte courbure suggérant une production importante de bois de tension. L'analyse moléculaire des différentes lignées est en cours.

Références

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

Remerciements

JM est financée par une bourse pré-doctorale du « Lebanese National Council for Scientific Research (CNRS-L) », MB est Maître de recherches au FRS-FNRS (Fonds National de la Recherche Scientifique Belge) et OMV est Chargé de Recherches FRS-FNRS.

Un réacteur pour comprendre la saccharification de la biomasse végétale

R. Looten, M.-F. Devaux, P. Robert, E. Bonnin, P. Papineau, A. Sire, L. Saulnier, C. Lapiere,
F. Guillon

UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, INRA, F44300 Nantes, France

L'utilisation des enzymes pour la saccharification de la biomasse végétale nécessite une meilleure compréhension des limites physiques et bio-chimiques des procédés de dégradations enzymatiques. Un réacteur torique a été développé pour suivre l'évolution de la taille des fragments de tissus végétaux au cours d'une dégradation enzymatique.

Le réacteur est composé d'un tore comportant une hélice qui permet l'agitation du milieu réactionnel et une fenêtre pour la visualisation des particules dans le réacteur. L'éclairage des échantillons permet la diffusion de la lumière à travers les particules et des images des particules en suspension sont acquises à des temps donnés par une caméra vidéo. La température peut être ajustée jusqu'à 60°C et le pH régulé. La modification des tailles de particules est quantifiée par analyse d'images en niveau de gris, sans segmentation des particules. En parallèle, les produits de dégradation sont analysés par une méthode colorimétrique à partir de prélèvements réalisés au cours de la dégradation enzymatique.

Des échantillons issus de trois lignées de maïs contrastées en digestibilité chez le ruminant ont été utilisés pour valider la démarche. Le matériel analysé pour son aptitude à la saccharification correspondait aux plantes entières sans épi. Un contrôle sans enzymes et deux essais de dégradations enzymatiques ont été réalisés pour chaque échantillon. Environ 600mg de matériel broyé est analysé après élimination du matériel soluble dans l'eau. Les dégradations enzymatiques sont réalisées à 40°C, pendant sept heures en présence d'un mélange de cellulase et d'hémicellulases commerciales (Novozyme _Celluclast NS50013, β -Glucosidase NS50010).

La taille des particules diminue au cours de la dégradation enzymatique et 77 à 85% de la matière introduite dans le réacteur est récupérée à la fin de la réaction. La dégradation est rapide durant les deux premières heures. Après sept heures de dégradation, 30 à 40% des oses totaux sont dégradés. Les différents génotypes sont distingués en fonction de l'évolution de tailles de leurs particules et du taux de libération des oses. Aucune évolution de la taille des particules ou des oses libérés n'est observée pour les contrôles sans enzymes.

Ces résultats montrent que ce réacteur est un outil pertinent pour étudier le potentiel de saccharification de différentes plantes. Il peut également être utilisé pour étudier l'efficacité de préparations enzymatiques sur la saccharification de la biomasse lignocellulosique.

**QTL for biomass quality in three recombinant inbred line (RIL) progenies
of *Arabidopsis thaliana* and search for candidate genes
involved in cell wall biosynthesis and degradability**

Barrière Y^a, Courtial A^{a,b}, Goué N^b, Chavigneau H^a, Delaunay S^a, Jouanin L^c, Reymond M^c, Méchin V^c.

^a INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 86600 Lusignan, France

^b UMR5546 CNRS - Université Paul Sabatier, 31326 Castanet-Tolosan, France

^c INRA, Institut Jean-Pierre Bourgin, 78026 Versailles, France

e-mail: yves.barriere@lusignan.inra.fr

Deciphering the genetic and genomic determinants involved in the cell wall assembly is a strategic issue for both ruminant feeding and biofuels production. The *Arabidopsis thaliana* model system has great potentials in the searches for regulation cascades of genes involved in cell wall component biosynthesis. QTL for biomass quality related traits (cell wall content, lignin content, and cell wall degradability) were searched for in the three RIL progenies Bay0 x Shahdara, Bur0 x Col0, and Blh1 x Col0 of *Arabidopsis*. On the whole, 40 QTL were detected for these traits, explaining up to 33 and 12 % of the observed phenotypic variation for lignin content and cell wall degradability respectively. Major hotspot of QTL were detected on chromosome 1 (position 5 Mbp), chromosome 4 (position 1 Mbp), and chromosome 5 (position 3 Mbp). Considered putative candidate genes were those previously described as involved in cell wall phenolics component biosynthesis, their regulation factors, and genes involved in lignified tissue patterning. Observed colocalisations between QTL and candidate genes showed that genetic determinant underlying cell wall traits were as much probably transcription factors regulating cell wall phenolic component biosynthesis or genes involved lignified tissue patterning as genes involved in monolignol biosynthesis and polymerization. AtLIM1, AtMYB58, a DOF-type zinc finger, the LOB domain LBD1, a GRAS SCARECROW-like encoding gene, and AtCCR1 colocalized with the Bur0 x Col0 QTL with high effects mapped in the upstream part of chromosome 1. Colocalizations were also shown with miRNA putatively involved in the regulation of lignifying tissue assembly. Based of the considered set of 82 putative candidates, colocalizations were observed for 57 % of monolignol biosynthesis related genes and 63 % of considered transcription factors or genes involved in lignified tissue patterning and assembly. Considered members of several gene families, including WRKY transcription factors, were never shown colocalizing with cell wall related QTL. The considered list of candidate is obviously not exhaustive and especially did not included genes encoding proteins of unknown functions. The true candidates are thus possibly out of the considered gene list. A first gene validation is in progress based on allele sequencing of candidate genes in both parental lines.

Involvement of two Pectin methylesterases AtPPME1 and AtPME48 during Arabidopsis pollen tube growth.

Leroux C^a, Lehner A^a, Kiefer-Meyer MC^a, Pelloux J^b, Driouich A^a, Lerouge P^a, & Mollet JC^a.

^a *Laboratoire Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, UPRES-EA 4358, PRIMACEN IBiSA, IFRMP 23, Université de Rouen, 76821 Mont Saint-Aignan Cedex, France.*

^b *Biologie des Plantes et contrôle des Insectes ravageurs, UPRES-EA 3900, Université de Picardie-Jules Verne, 80039 Amiens, France.*

e-mail: arnaud.lehner@univ-rouen.fr

Plant sexual reproduction involves the growth of tip-polarized pollen tubes through the female tissues in order to deliver the sperm nuclei to the egg cells. Despite the importance of this crucial step, little is known about the molecular mechanisms involved in this spatial and temporal growth control. Variation of cell wall stiffness of the tube, which is likely to be related to the level of methylesterification of pectic homogalacturonans (HG), has been proposed to participate in tube growth. Modulation of the degree of HG methylester is regulated in the cell wall by the action of pectin methylesterases (PMEs). In Arabidopsis, putative PME proteins are encoded by a 66-member gene family. Among them, 14 PME transcripts are specifically expressed in pollen grain or pollen tubes. Two of these PMEs (AtPPME1, At1g69940 and AtPME48, At5g07410) are of particular interest because their genomic and their coding sequences share 90% of homology (ClustalW2). Because of this strong homology, their expression level cannot be distinguished on available transcriptomic databases (EFP Browser or Genevestigator), but the analysis of the mRNA expression level by RT-PCR shows a distinct expression level. In order to understand how these two PMEs act during pollen germination and pollen tube growth, we have selected two mutant lines (knock out mutant for AtPPME1 and AtPME48). We investigated *in vitro* and *in vivo* pollen tube growth and morphology, as well as the impact of these mutations on the distribution of weakly and highly esterified HG epitopes in pollen tube cell wall.

Synchrotron FTIR assessment of chemical heterogeneity of grass cell walls and modifications induced by polysaccharide-active enzymes

Habrant A^a, Jamme F^b, Dumas P^b, Chabbert, B^a.

^a *UMR614 Fractionnement des Agroressources et Environnement, F-51100 Reims*

^b *Synchrotron Soleil, Saint-Aubin, BP 48, 91192 Gif-sur-Yvette cedex, France*

e-mail: chabbert@reims.inra.fr

Lignocellulosic biomass is a potential source of fermentable sugars for the production of second generation biofuels. Lignified plant cell walls are formed by successive deposition of cellulose, hemicelluloses and lignins to form a composite in which polymers are physically and chemically bound to each other. Notably, hemicelluloses and lignin are covalently linked through lignin-carbohydrate complexes, which have negative impact to polysaccharide saccharification. The lignified wall network may vary considerably depending on environmental factors, species, tissues and cell types, and the quality of these cell walls will impact on enzyme efficiency. Chemical and organisational heterogeneity of cell walls have thus been shown by UV transmission microspectroscopy and immuno-labelling techniques. In the scope of a better identification of the main limiting factors to saccharification, the impact of polysaccharide-active enzymes on wheat straw was addressed by synchrotron transmission infrared microspectroscopy using SMIS beam line. This non destructive technique allows exploring the chemistry within biological tissues with a high signal to noise ratio at high spatial resolutions.

The spectral changes between control and enzyme-treated specimen were compared according to the cell type (sclerenchyma, parenchyma, vessels, fibres and tracheids) and their extent of maturation using Principal Component Analysis. In control samples, sclerenchyma showed the highest chemical changes with regards to maturation. Significant modifications were observed for each cell type after enzymatic treatment with the highest variation obtained for sclerenchyma cell walls. Hence the extent of chemical variations of sclerenchyma related to maturation increased after enzymatic treatment.

Identification de mutants paroi chez le lin (*Linum usitatissimum* L.) : Criblage haut débit d'une collection EMS.

Chantreau M., Grec S., Fénart S., Boucly R., Blervacq AS., Chabbert B., Hawkins S.

UMR USTL-INRA 1281 UFR de Biologie, Villeneuve d'Ascq, France.

e-mail : simon.hawkins@univ-lille1.fr

Le lin est une espèce annuelle cultivée dans les climats tempérés à la fois pour ces fibres riches en cellulose et la production d'huile. Ces fibres sont traditionnellement utilisées dans l'industrie textile et, depuis peu, dans la production de matériaux agrosourcés. Les parois secondaires de cette espèce présentent un profil de lignification très contrasté entre les cellules du bois lignifié (20% de lignine) et les fibres périphloémiennes hypolignifiées (4% de lignine). Le lin est donc un modèle particulièrement intéressant pour l'étude de la formation des parois secondaires et des mécanismes moléculaires responsable de la lignification.

Afin d'approfondir nos connaissances concernant ces processus biologiques, une collection de 5 000 familles de mutants EMS a été générée. Des approches de « forward genetics » (criblage phénotypique visuel et cytologique) et de « reverse genetics » (TILLinG, HRM, Illumina sequencing) sont actuellement en cours afin de constituer une base de données phénotypique et d'identifier un certain nombre de mutant "fibres".

Des résultats préliminaires sur le criblage cytologique d'un lot de 1 000 familles M2 nous ont permis d'isoler une vingtaine d'individus présentant un phénotype "fibres lignifiées" ainsi qu'une famille avec phénotype *irx* (*irregular xylem*).

Ces mutants préalablement identifiés seront par la suite caractérisés, en génération M3/M4, par des analyses microscopique, spectroscopique, chimique et transcriptomique.

Les informations collectées au cours de ce projet permettraient d'approfondir nos connaissances fondamentales sur la régulation moléculaire de la lignification chez les plantes. De plus, ces informations pourront par la suite être utilisées dans les programmes de sélection, ceci afin d'améliorer la qualité des fibres de cette plante d'importance économique.

Inactivation génique induite par le TRV chez *Linum usitatissimum*

Chantreau M., Hawkins S. & Neutelings G.

Université Lille Nord de France, Lille 1, UMR-INRA 1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

e-mail : maxime.chantreau@ed.univ-lille1.fr

L'étude de la biosynthèse de la paroi végétale nécessite de pouvoir caractériser d'un point de vue fonctionnel tous les gènes intervenant dans ce phénomène. Dans le cadre d'une démarche de type "génétique inverse", la technique de VIGS (Virus Induced Gene Silencing) présente, grâce à sa rapidité d'exécution, un intérêt tout particulier en comparaison des autres techniques d'extinction de gènes.

En effet, la technique de VIGS a pour principe de détourner les mécanismes épigénétiques relatifs à la défense de la plante pour les réorienter vers la destruction de transcrits issus de gènes ciblés. Il sera ainsi possible d'effectuer un criblage phénotypique découlant de l'inactivation spécifique d'un gène de manière relativement rapide. L'intérêt d'une telle approche est d'autant plus intéressant que l'espèce étudiée est peu adaptée aux techniques de transformation génétique classiques.

Le VIGS a été testé chez notre espèce modèle, le lin (*Linum usitatissimum* L.), à l'aide d'un vecteur viral dérivé du TRV (Tobacco Rattle Virus) recombinaison avec des fragments homologues d'ADNc PDS (Phytoene Desaturase). L'inactivation de ce gène intervenant dans la voie de biosynthèse des caroténoïdes induit un phénotype de type "plante blanche". Les premières mises au point ont permis de déterminer la technique d'infection et les conditions opératoires optimales à la mise en place du VIGS. Des tests d'inactivation ont ensuite été menés sur un gène d'endo-1,4-β-D-glucanase associé à un phénotype irx et une cellulose synthase induisant un enroulement des feuilles.

Ces résultats confirment la faisabilité technique de cette méthode chez le lin et la possibilité de l'utiliser pour étudier rapidement le rôle de gènes candidats dans la biosynthèse de la paroi végétale dans la tige de lin.

Nom	Prénom	Organisme	Adresse électronique	Conférence/Poster
Aguié-Beghin	Véronique	UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims	veronique.aguie@reims.inra.fr	
Antelme	Sebastien	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	sebastien.antelme@versailles.inra.fr	C25, P2, P4
Baldwin	Laetitia	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	laetitia.baldwin@u-picardie.fr	C10,
Baratiny	Davy	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	davy.baratiny@versailles.inra.fr	P12
Barrière	Yves	Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères INRA, Lusignan	yves.barriere@lusignan.inra.fr	P20
Baucher	Marie	Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Gosselies, (Belgique)	mbaucher@ulb.ac.be	C16, P18
Baumberger	Stéphanie	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	stephanie.baumberger@versailles.inra.fr	P1, P8
Beaugrand	Johnny	UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims	johnny.beaugrand@reims.inra.fr	C22
Belmokhtar	Nassim	UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims	Nassim.Belmokhtar@reims.inra.fr	C24
Bensussan	Matthieu	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	matthieu.bensussan@versailles.inra.fr	C11
Blervacq	Anne-Sophie	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	Anne-Sophie.Blervacq@univ-lille1.fr	P23
Boucly	Romain	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	romain.boucly@laposte.net	C17, P23
Bouton	Sophie	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	sophie.bouton@u-picardie.fr	P16
Bouvier d'Yvoire	Madeleine	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	madeleine.bouvier-dyvoire@versailles.inra.fr	C25
Breton	Christelle	Glycobiologie Moléculaire, CERMAV-CNRS, Université de Grenoble I	breton@cermav.cnrs.fr	C20
Cabané	Mireille	UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières INRA-Nancy-Université	cabane@scbiol.uhp-nancy.fr	C13, C14
Chabbert	Brigitte	UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims	chabbert@reims.inra.fr	C24, C23, P22, P23
Chantreau	Maxime	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	maxime.chantreau@laposte.net	P23, P24
Chazal	Richard	UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, INRA, Nantes	r.chazal@nantes.inra.fr	P3
Dardelle	Flavien	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	flavien.dardelle@univ-rouen.fr	C1, P5
Darraçq	Olivier	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	olivier.darraçq@versailles.inra.fr	C25, C18, P2, P4
Day	Arnaud	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	arnaud.day@univ-lille1.fr	C6, C23
Déjardin	Annabelle	INRA, UR588 Amélioration, Génétique, et Physiologie Forestières, Orléans	annabelle.dejardin@orleans.inra.fr	C15
Domon	Jean-Marc	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	jean-marc.domon@u-picardie.fr	C10, P15
Douche	Thibaut	Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales UMR 5546, Castanet-Tolosan	douche@lrsv.ups-tlse.fr	P14
Driouich	Azeddine	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	azeddine.driouich@univ-rouen.fr	C1, P5, P7, P9, P10, P21
Durand-Tardif	Mylène	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	mylene.durand-tardif@versailles.inra.fr	C11
Fenart	Stephane	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	stephane.fenart@univ-lille1.fr	C6, C17, P23
Fernandez-Tendero	Eva	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	evaft3@hotmail.com	C23
Ferrigno	Pascale	INRA, UR588 Amélioration, Génétique, et Physiologie Forestières, Orléans	pascale.ferrigno@orleans.inra.fr	C15
Galvez-Lopez	Didiana	UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, INRA, Nantes	dgalvez@nantes.inra.fr	C8
Gillet	Françoise	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	francoise.gillet@u-picardie.fr	C10, P15
Grec	Sebastien	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	sebastien.grec@univ-lille1.fr	C17, P23
Gribaa	Ali	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	ali.gribaa@etu.univ-rouen.fr	P5
Guesdes	Fernanda	INRA, UR588 Amélioration, Génétique, et Physiologie Forestières, Orléans	fernanda.guedes@orleans.inra.fr	P17
Hachem	Kadda	LP2VM, université d'Oran (Algérie)	kadda46@hotmail.com	P6
Harrington	Michael	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	harrington.michael@versailles.inra.fr	
Hawkins	Simon	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	simon.hawkins@univ-lille1.fr	C6, C17, C23, P23, P24
Huis	Rudy	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	rudy_huis@hotmail.com	C17
Jamet	Elisabeth	Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales UMR 5546, Castanet-Tolosan	jamet@lrsv.ups-tlse.fr	C7, P14,
Jouanin	Lise	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	jouanin@versailles.inra.fr	C25, P2, P4, P11, P12, P20
Kurek	Bernard	UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims	bernard.kurek@reims.inra.fr	
Lamour	Romain	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	romain.lamour@univ-rouen.fr	C21, P7
Legay	Sylvain	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	sylvain.legay@versailles.inra.fr	C25, P2
Lehner	Arnaud	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	arnaud.lehner@univ-rouen.fr	C1, P21
Lerouge	Patrice	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	patrice.lerouge@univ-rouen.fr	C1, C21, P7, P9, P10, P21
Looten	Rachel	UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, INRA, Nantes	rlooten@nantes.inra.fr	P19
Lucau	Anca	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	Anca.Lucau@univ-lille1.fr	C17, C10
Maigret	Jean-Eudes	UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims	jean-eudes.maigret@lille.inra.fr	C22
Mareck	Alain	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	alain.mareck@univ-rouen.fr	C21, P7

Nom	Prénom	Organisme	Adresse électronique	Conférence/Poster
Mazel	Julien	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	julien.mazel@versailles.inra.fr	P11
Méchin	Valérie	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	valerie.mechin@versailles.inra.fr	P8, P20
Mollet	Jean Claude	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	jean-claude.mollet@univ-rouen.fr	C1, C12, P5, P21
Moussawi	Jihad	Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Gosselies, (Belgique)	jihadelmoussawi@hotmail.com	C16, P18
Mravec	Jozef	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	jmrvac@versailles.inra.fr	P13
Muschitz	Aurélié	Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Université de Limoges	aurelie.muschitz@unilim.fr	C12
Neutelings	Godfrey	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	godfrey.neutelings@univ-lille1.fr	C17, P24
North	Helen	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	helen.north@versailles.inra.fr	C3, C4
Obeuf	Annabelle	UMR1281, Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux, INRA-Université Lille1	Annabelle.obeuf@mons.inra.fr	
Oria	Nicolas	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	nicolas.oria@versailles.inra.fr	P4
Paés	Gabriel	UMR 614 INRA-URCA, Fractionnement des AgroRessources et Environnement, Reims	gabriel.paes@reims.inra.fr	
Pageau	Karine	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	karine.pageau@u-picardie.fr	P16
Pau-Roblot	Corinne	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	corinne.pau-roblot@u-picardie.fr	P15, P16
Pelloux	Jérôme	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	jerome.pelloux@u-picardie.fr	C10, C21, C9, P7, P13, P15, P21
Plancot	Barbara	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	barbara.plancot@univ-rouen.fr	P9
Rayon	Catherine	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	catherine.rayon@u-picardie.fr	C10, P15
Reymond	Matthieu	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	mreymond@versailles.inra.fr	P20
Richard	Beatrice	UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières INRA-Nancy-Université	richard@nancy.inra.fr	
Richet	Nicolas	UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières INRA-Nancy-Université	Nicolas.Richet@scbiol.uhp-nancy.fr	C13, C14
Rusterucci	Christine	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	christine.rusterucci@u-picardie.fr	C9
Saez Aguayo	Susana	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	susana.saez-aguayo@versailles.inra.fr	C4
Saulnier	Luc	UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages, INRA, Nantes	luc.saulnier@nantes.inra.fr	P3, P19
Segonne	Sandrine	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	sandrine.segonne@versailles.inra.fr	
Senechal	Fabien	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	fabien.senechal@u-picardie.fr	C21, P7,
Timpano	Hélène	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	helene.timpano@versailles.inra.fr	C18, C19
Tokarski	Caroline	USR CNRS 3290, Miniaturisation pour l'Analyse, la Synthèse & la Protéomique Lille1	Caroline.Tokarski@univ-lille1.fr	C6
Vain	Thomas	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	thomas.vain@versailles.inra.fr	C19
Van Wuytswinkel	Olivier	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	ovw@u-picardie.fr	P7, P16
Verger	Stephane	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	stephane.verger@versailles.inra.fr	C2
Vicre	Maité	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	Maite.Vicre@univ-rouen.fr	P9
Voxeur	Aline	Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, EA4358, Université de Rouen	aline.voxeur@univ-rouen.fr	P10
Watrelot	Aude	INRA Avignon	aude.watrelot@avignon.inra.fr	
Wattier	Christopher	EA 3900-BioPI, Université de Picardie Jules Verne, Amiens	christopher.wattier@u-picardie.fr	C9
Wolf	Sébastien	Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318, Versailles	sebastian.wolf@versailles.inra.fr	C5, P13