

Preliminary communication

Caractérisation d'une D-xylanne ramifiée dans les cellules de rosier cultivées *in vitro*

ANDRÉE MOLLARD et FERNAND BARNOUD

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (C.N.R.S.), B.P. 53, 38041 Grenoble (France)

(Reçu le 17 juin 1974; accepté après révision le 10 décembre 1974)

Des travaux récents^{1,2} sur les parois primaires de cellules d'*Acer* et de *Phaseolus* cultivés *in vitro* par la technique des suspensions cellulaires ont mis en évidence dans le groupe des hémicelluloses un polysaccharide du type D-xylo-D-glucanane formé par la répétition d'une unité heptasaccharidique. Celle-ci est constituée par quatre résidus de β -D-glucose liés en (1 \rightarrow 4), trois d'entre eux portant sur C-6 un résidu de D-xylose.

Dans le cadre de nos travaux sur les parois de cellules de plusieurs souches de rosier, nous avons obtenu, dans le cas de la souche New-Dawn, deux types de polysaccharides nettement différents qui, à notre connaissance, n'ont jamais été caractérisés dans des cellules de dicotylédones cultivés *in vitro*. Dans le premier, le D-glucose représente 90% de l'ensemble des sucres trouvés après l'hydrolyse; dans le second, le D-xylose constitue 70% des oses neutres. Nous rapportons ici les résultats obtenus sur ce second type de polysaccharide.

Il a été obtenu par fractionnement d'un mélange de polyosides extraits par une solution d'hydroxyde de potassium 4,3M sur des cellules où les pectines et la lignine ont été préalablement extraites. Avant l'action de la solution alcaline concentrée, les parois ont été traitées par le borohydrure de sodium puis par le diméthyl sulfoxyde (ce dernier solvant permet en particulier l'extraction de la D-glucanane pré-citée). L'acidification à pH 5,5 de la solution alcaline 4,3M ne conduit pas à une xylanne linéaire. La fraction surnageante a été dialysée et lyophilisée. A l'hydrolyse, le complexe polyosidique s'avère composé des oses neutres suivants (g.l.c., alditols acétates): galactose, 30,1; glucose, 30; xylose, 27,5; arabinose, 5,1; fucose, 4,6; rhamnose, 2,7 (% molaires). Le dosage des acides uroniques par décarboxylation³ établit une valeur de 11%. Après déprotéinisation par la Pronase et chromatographie sur colonne de DEAE-Sephadex (AcO⁻), on a pu obtenir plusieurs fractions par élution à l'eau, l'acide acétique 0,1M, l'acétate de sodium 0,1M (pH 5,3) et des solutions d'hydroxyde de sodium de 0,1M à 2M. Si toutes les fractions contiennent du xylose, seule la fraction élue par l'acétate de sodium (8% de l'ensemble) conduit à un poly-

saccharide caractérisé par un fort pourcentage en xylose (70%). Par électrophorèse sur acétate de cellulose après coloration selon Dudman et Bishop⁴, nous avons observé un composant unique, ce qui indique que l'hémicellulose étudiée est probablement pure. L'hydrolyse de ce polyoside montre la présence de xylose, glucose, galactose, arabinose, fucose et rhamnose dans les pourcentages molaires 70:14,3:6,5:5,9:2,2:1,1. Compte tenu de la grande prédominance du xylose, nous le désignerons dans ce texte par le terme de xylanne. Cette xylanne a un caractère faiblement acide (3% d'acides uroniques par le dosage au carbazole). Son pouvoir rotatoire, $[\alpha]_D^{20} -75^\circ$ (*c* 0,6, acétate de sodium 0,1M) est en accord avec celui d'une β -D-xylanne. Après méthylation par la méthode d'Hakomori et hydrolyse du polysaccharide méthylé, nous avons pu identifier les oses méthylés, sous forme d'acétates d'alditols, par chromatographie en phase gazeuse* et, dans le cas des constituants majeurs, également par spectrométrie de masse**. Ces constituants majeurs sont le 2,3-di-*O*-méthylxylose, le 2,3,4-tri-*O*-méthylxylose et le 3-*O*-méthylxylose dans les rapports molaires 11:5:4. Il faut noter que les oses méthylés dérivés du xylose constituent 87% de l'ensemble des monosaccharides méthylés présents sur le chromatogramme. Nous avons également identifié parmi les constituants mineurs le 2,3,4,6-tétra-*O*-méthylglucose (5,2%), de même que de très faibles quantités d'autres oses méthylés qui, d'après leur temps de rétention en g.l.c., pourraient correspondre au 2,3,5-tri-*O*-méthylarabinose, au 2,3,4-tri-*O*-méthylfucose, au 2,3,6-tri-*O*-méthylgalactose, au 2-*O*-méthylfucose et au 2,3-di-*O*-méthylgalactose.

On peut donc, en l'état actuel de nos recherches, envisager comme structure probable celle d'une D-xylanne formée de résidus β -D-xylopyranose liés en (1 \rightarrow 4) et portant de nombreuses ramifications le plus souvent terminées par un groupe de xylose. Les autres résidus de monoses et d'acides uroniques caractérisés en faibles quantités occuperaient soit des positions terminales soit des positions à l'intérieur des ramifications.

On voit que cette hémicellulose du type D-xylanne diffère fondamentalement de la D-xylo-D-glucanne des parois primaires d'*Acer* et de *Phaseolus*^{1,2}. Cette différence peut s'expliquer ainsi: (a) Les cellules de rosier sont du type anergié⁵; elles croissent avec facilité sur un milieu minéral glucosé. (b) Ces cellules sont cultivées sur un milieu solidifié par la gélose (1%). (c) L'état physiologique des parois est très différent (60 jours de croissance). La présence de lignine en quantité notable (8,7% sous forme de lignine thioglycolique)⁶ traduit bien l'évolution biochimique des parois par rapport à des parois primaires typiques.

Nous avons par ailleurs obtenu, à partir de ce même type cellulaire de rosier, des fractions polyosidiques neutres qui s'avèrent à l'hydrolyse formées en quantités sensiblement équimoléculaires de glucose et de xylose⁷. Il faut donc envisager comme probable dans ce type de parois la présence d'au moins deux groupes d'hémicelluloses.

*Packard-Becker Instruments (modèle 417), double colonne, ionisation de flamme, colonne ECNSS-M 3% sur Gas Chrom. Q et OV 225 3% sur Chrom. W-AW-DMCS, intégrateur Hewlett-Packard 3370 B.

**Spectrographe de masse MS-30 (A.E.I.).

RÉFÉRENCES

- 1 W. D. Bauer, K. W. Talmadge, K. Keegstra et P. Albersheim, *Plant Physiol.*, 51 (1973) 174.
- 2 M. Wilder et P. Albersheim, *Plant Physiol.*, 51 (1973) 889.
- 3 M. Bylund et A. Donetzhuber, *Svensk Papperstidn.*, 71 (1968) 505.
- 4 W. F. Dudman et C. T. Bishop, *Can. J. Chem.*, 46 (1969) 3079.
- 5 P. Nobécourt, *C. R. Acad. Sci. Paris*, 222 (1946) 817.
- 6 T. Higuchi et F. Barnoud, *Actes Sympos. Int. Lignine, Cellulose, Hémicelluloses*, Grenoble, 1964, p. 255.
- 7 A. Mollard et F. Barnoud, *Commun. Congrès Soc. Savantes* (1972) (sous presse).