

Métabolisme des fructanes chez *Lolium perenne* L. : Identification de deux gènes codant des fructane exohydrolases (FEHs) et étude de la régulation de l'activité FEH par les sucres solubles. LOTHIER Jérémy, 2007. Université de Caen (France), 141 pages.

Résumé

Le ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.) est une espèce fourragère majeure des prairies. Après une défoliation, l'arrêt de l'acquisition des photoassimilats est compensé par une mobilisation des fructanes, polymères de fructose, via une augmentation de l'activité fructane exohydrolase (FEH). Pour étudier le rôle des sucres solubles en tant que signaux conduisant à la répression de l'activité FEH, des sucres solubles (glucose, fructose et saccharose) mais aussi des analogues structuraux non ou peu métabolisables (3-OMG, mannose, turanose, lactulose, palatinose, tréhalose) ont été pulvérisés sur des plantes coupées. Les résultats indiquent que les hexoses et le saccharose sont des signaux qui régulent négativement l'activité FEH et qu'ils seraient perçus respectivement par l'hexokinase et par un senseur plasmalemmique. Pour rechercher le niveau de régulation de l'activité FEH, deux ADNc ont été obtenus grâce au criblage d'une banque d'ADNc. La caractérisation fonctionnelle des protéines recombinantes obtenues par expression hétérologue dans la levure *Pichia pastoris*, a permis de montrer qu'il s'agissait d'une 1-FEH (Lp1-FEHa) et d'une 6-FEH (Lp6-FEHa), hydrolysant respectivement les liaisons β -(2,1) et β -(2,6). L'analyse transcriptionnelle de ces deux gènes indique que la régulation de l'activité FEH après la défoliation se fait en partie au niveau post-transcriptionnel. Un modèle de régulation du métabolisme des fructanes chez les Poacées prairiales est proposé. Nous suggérons que l'activité FEH serait le métronome permettant à la cellule de moduler le métabolisme des fructanes en réponse à la carence carbonée induite par la défoliation.

Abstract

Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) is a major grassland forage species. After defoliation, the suppression of photoassimilate acquisition is compensated by the mobilisation of fructans (fructose polymers), via an increase of fructan exohydrolase activity (FEH). To study the role of soluble sugars as signals leading to the repression of FEH activity, soluble sugars (glucose, fructose, and sucrose) and also non- or poorly- metabolizable analogues (3-OMG, mannose, turanose, lactulose, palatinose, trehalose) were sprayed on defoliated plants. The results demonstrate that hexoses and sucrose are signals which negatively regulate FEH activity and which seem to be perceived by hexokinase and a plasmalemmic sensor, respectively. To investigate the level of FEH activity regulation, two cDNA were obtained by screening a cDNAs library. Functional characterization of the recombinant proteins by heterologous expression in the yeast *Pichia pastoris* showed that the cDNAs code for a 1-FEH (Lp1-FEHa) and a 6-FEH (Lp6-FEHa), hydrolyzing β -(2,1) and β -(2,6) linkages, respectively. Transcriptional analysis of these both genes indicates that FEH activity after defoliation is regulated at least partly by a post-transcriptional mechanism. A model of fructan metabolism regulation in grasses is proposed. We suggest that FEH activity is the metronome which allows the cell to modulate fructan metabolism in response to the carbon starvation induced by defoliation..