

## Preliminary communication

### Caractérisation d'une D-galactanne linéaire à liaison $\beta$ -(1→3) 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 5 août 1974; accepté après révision le 30 décembre 1974)

Dans une précédente communication<sup>1</sup> nous avons montré l'importance des formes polymères du D-galactose dans les polysaccharides hydrosolubles de quatre souches de *Rosa glauca* cultivées *in vitro* sur milieu gélosé. Nous avons obtenu à répétition dans plusieurs séries expérimentales et au cours de plusieurs années de culture des fractions polysidiques renfermant 62 à 87% de D-galactose suivant les souches. Ces fractions polysidiques précipitent au cours du refroidissement des solutions de polysaccharides extraits par l'eau chaude (90°). Elles sont isolées par centrifugation des solutions surnageantes, lavées à l'eau distillée, dialysées et lyophilisées.

Nous décrivons ici l'une de ces fractions correspondant à la souche A de *Rosa glauca* prélevée au 33ème transfert. L'hydrolyse de cette fraction après action d'une  $\alpha$ -amylase montre qu'elle est constituée essentiellement de D-galactose (82,3%),  $[\alpha]_D^{20} +79^\circ$  (c 0,5, eau). Elle renferme également du glucose (10,2%), ainsi que de très faibles quantités d'arabinose, de xylose, de rhamnose et de fucose<sup>1</sup>. Le pouvoir rotatoire négatif de cette fraction polysidique,  $[\alpha]_D^{20} -40^\circ$  (c 0,4, diméthyl sulfoxyde) traduit la présence de liaisons glycosidiques  $\beta$ -D. Par dosage au carbazole, on obtient un taux d'acides uroniques de 10,5%. L'insolubilité de cette fraction polysidique dans l'eau à froid augmente les difficultés du fractionnement. Un essai de purification a été effectué sur DEAE-Sephadex A 50 ( $\text{HCO}_2^-$ ) en bain à 80° (température nécessaire pour solubiliser le polysaccharide). Une D-galactanne neutre contenant encore du glucose, mais sans acides uroniques est éluee par l'eau. Du fait que ce traitement cause une dégradation de DEAE-Sephadex, nous avons méthylé la fraction brute initiale (méthylation suivant Hakomori). Après hydrolyse du produit méthylé, nous avons identifié les oses méthylés (sous forme de dérivés alditols acétates) par chromatographie en phase gazeuse\* et spectrographie de masse\*\*. Les dérivés méthylés du D-galactose représentent 94,3% des oses méthylés présents sur le chromatogramme: 2,4,6-tri-*O*-méthyl-D-galactose (93%), 2,3,4,6-tetra-*O*-méthyl-D-galactose (1,3%) (rapport tri à tétra 73:1), 2,4-di-*O*-méthyl-D-galactose (traces seulement). Ces résultats montrent qu'il s'agit d'un polysaccharide linéaire (ou très peu ramifié) formé essentiellement de résidues  $\beta$ -D-galactopyranosyles liés en (1→3). Les autres monoses méthylés caractérisés

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

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

et présents en très faible quantité sont le 2,3,4-tri-*O*-méthylglucose et le 2,3,6-tri-*O*-méthylglucose (total 3,5%), le 2,3,5-tri-*O*-méthylarabinose et le 2,3,4-tri-*O*-méthylxylose. Nous ne pouvons dire en l'état actuel de nos recherches si le glucose appartient ou non à la molécule de D-galactanne. Une purification s'est vraisemblablement effectuée au cours de la méthylation<sup>2</sup> de cette fraction polyosidique et a permis d'éliminer le contaminant acide. Celui-ci avait probablement copécipité lors du refroidissement de la solution aqueuse d'extraction riche en acides uroniques.

Ces résultats doivent être comparés aux structures des polymères du D-galactose décrites dans les polysaccharides extracellulaires des cultures en milieu liquide d'*Acer pseudoplatanus*<sup>3</sup> et de *Phaseolus vulgaris*<sup>4</sup> [arabinogalactannes branchées (1→3), (1→6)] et dans les parois cellulaires d'*Acer*<sup>5,6</sup> [D-galactanne linéaire (1→4) et arabinogalactanne branchée (1→3), (1→6)]. La D-galactanne caractérisée dans les cellules de *Rosa glauca* diffère nettement de ces polysaccharides. Il convient de souligner que nous n'obtenons pas ce polysaccharide à partir des parois obtenues par lavages répétés avec des solutions tampons selon le protocole de Talmadge *et al.*<sup>5</sup>. Ces observations suggèrent que cette D-galactanne a probablement une localisation cellulaire périphérique.

#### RÉFÉRENCES

- 1 A. Mollard, G. Hustache et F. Barnoud, *Physiol. Veg.*, 11 (1973) 539–552.
- 2 G. A. Henderson et G. W. Hay, *Carbohydr. Res.*, 23 (1972) 379–398.
- 3 G. O. Aspinall et J. A. Molloy, *Can. J. Biochem.*, 47 (1969) 1063–1070.
- 4 G. B. Hawes et G. A. Adams, *Phytochemistry*, 11 (1972) 1461–1465.
- 5 K. W. Talmadge, K. Keegstra, W. D. Bauer et P. Albersheim, *Plant Physiol.*, 51 (1973) 158–173.
- 6 K. Keegstra, K. W. Talmadge, W. D. Bauer et P. Albersheim, *Plant Physiol.*, 51 (1973) 188–196.