

## Absorption des acides aminés par les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis*

Par

P. HANOWER, J. BRZOWSKA et M. NIAMIEN NGORAN

Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Centre d'Adiopodoumé,  
Laboratoire de Physiologie Végétale, B.P. V 51 Abidjan (Côte d'Ivoire)

(Reçu le 5 août 1976; révisé le 26 octobre 1976)

### Abstract

*Absorption of Amino Acids by Lutoids from the Latex of Hevea brasiliensis.*

The latex of *Hevea brasiliensis* is a fluid protoplasm containing organelles with a single membrane that are called lutoids. They are microvacuoles of a lysosomal character. The intact lutoids can easily be isolated in an isotonic medium by the usual procedures of cellular fractionation.

Previous studies have shown the existence of a compartmentation of the free amino acids in latex. While acidic components dominate in the cytoplasmic serum, the lutoid serum contains mainly basic components. These findings, as well as the part played by the lutoids in the latex flow and in the process of latex coagulation, led the authors to study the penetration of acidic, neutral and basic amino acids into the lutoids. Labeled amino acids were used for the purpose. Special interest was given to the uptake of lysine, which is transported into the lutoids against a concentration gradient in the absence of a metabolic energy source. The process is linear for at least 30 min and follows Michaelis-Menten kinetics as a function of the lysine concentration. The uptake is strictly temperature and pH dependent. It increases in the presence of ATP. Lysine uptake by lutoids is also increased by application of Ethrel, ethylene generator, to the bark of tapped trees. 2,4-Dinitrophenol (2,4-DNP), ammonium chloride and N-ethylmaleimide (NEM) inhibit the influx. Neutral L-amino acids do not affect the uptake of L-lysine, while L-arginine inhibits lysine transport competitively. D-lysine is without effect on L-lysine uptake by lutoids. Under conditions used in this study no lysine efflux is observed. A mechanism governing the penetration of basic amino acids against a concentration gradient is discussed, and the possible role of a proton gradient is suggested.

### Introduction

Le latex d'*Hevea brasiliensis* est un protoplasme fluide qui contient des éléments figurés unimembranaires nommés lutoïdes. Les lutoïdes sont des microvacuoles ayant des propriétés lysosomales. La nature vacuolaire des particules lutoïdiques, entrevue par Wiersum (1957), a été confirmée par

Archer *et al.* (1969) et Ribailier *et al.* (1971). Le caractère lysosomal a été découvert par Pujarnisclé (1968).

Les lutoïdes peuvent être aisément isolés intacts en milieu isotonique par les procédés de fractionnement cellulaire usuels. La fraction sédimentable contenant, à côté des lutoïdes, les particules de Frey-Wyssling, joue un rôle important, non encore entièrement élucidé, dans l'écoulement et la coagulation du latex, facteurs limitant la productivité des arbres. Ces phénomènes sont liés à la rupture des membranes des particules conduisant à la mise en contact de leur contenu avec celui du milieu ambiant, le sérum cytoplasmique (Southorn et Edwin 1968, Southorn et Yip 1968, Ribailier 1972, Hanower *et al.* 1976).

D'autre part, les lutoïdes en tant que vacuoles dont la membrane est douée de perméabilité sélective, sont susceptibles de jouer un rôle régulateur du métabolisme cellulaire en accumulant certaines substances. On signale l'accumulation dans le sérum lutoïdique des cations divalents ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) et de certains anions, phosphate et citrate (Ribailier *et al.* 1971, d'Auzac et Lioret 1974, Lambert 1975), des protéines à point isoélectrique élevé (Archer *et al.* 1969, Moir et Tata 1960), de certains alcaloïdes (Archer *et al.* 1969).

Récemment nous avons mis en évidence une compartimentation très nette des acides aminés libres dans le latex (Brzowska *et al.* 1974). Alors que dans le sérum cytoplasmique dominent les acides aminés acides, les lutoïdes se distinguent par une forte proportion d'acides aminés basiques — plus de 50% de la teneur globale. Un gradient de concentration important existe entre les deux compartiments au niveau des composés basiques, leurs concentrations dans les lutoïdes étant de 5 fois (lysine) à 20 fois (acide  $\alpha$ ,  $\gamma$ -diaminobutyrique) supérieures à celles trouvées dans le sérum cytoplasmique.

Pour expliquer l'existence de deux "pools" séparés d'acides aminés on peut imaginer deux types de mécanismes:

1. fabrication, simultanée ou non, en deux sites séparés;

O. R. S. I. O. M.

Collection de Références

26 M 8637 BBV  
26 AOÛT 1977 CR

2. fabrication a un endroit, puis sécrétion sélective des acides aminés vers l'autre site cellulaire. Ceci pose le problème de la perméabilité sélective de la membrane lutoïdique aux acides aminés.

Plusieurs systèmes spécifiques d'absorption des acides aminés ont été caractérisés chez la levure (Grenson 1973), dont une perméase générale activant la pénétration de différents aminoacides (Grenson *et al.* 1970), et différentes perméases spécifiques responsables de l'absorption d'un acide aminé particulier (Grenson 1966, Grenson *et al.* 1966, Crabeel et Grenson 1970). Mais l'absorption des acides aminés par les cellules de la levure implique un transport du milieu extérieur dans le cytoplasme et du cytoplasme dans les vacuoles. Jusqu'à présent des essais pour analyser ces systèmes séparément, par l'isolement, soit des membranes vésiculaires des cellules (Lombardi et Kaback 1972, Short *et al.* 1972, Prasad *et al.* 1975), soit des vacuoles (Nakamura et Schlenk 1974, Boller *et al.* 1975), sont extrêmement rares.

Dans le travail présent nous étudions la perméabilité des lutoïdes aux acides aminés acide (acide glutamique), neutre (alanine) et basique (lysine) à l'aide de molécules radioactives.

*Abréviations:* 2,4-DNP, 2,4-Dinitrophénol; NEM, N-Ethylmaleimide.

### Matériel et méthodes

*Matériel végétal.* Les expériences sont effectuées avec des lutoïdes isolés de latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. Les latex proviennent, soit d'un lot de 6 arbres du clone Pb 86, soit, et dans la majorité des cas, d'un lot de 30 arbres du clone PR 107, sélectionnés à la plantation de l'Institut de Recherches sur le Caoutchouc en Afrique (IRCA) de Bimbrasso en Côte d'Ivoire.

*Prélèvement du latex.* Les arbres sont saignés deux fois par semaine en spirale entière (S J/3 J/4).

Le latex qui s'écoule pendant la première minute est écarté car il contient des organites ayant souffert du traumatisme causé par la saignée. Puis on recueille, dans un tube plongé dans de la glace, 50 ml de latex par arbre. On mélange les latex recueillis de tous les arbres afin de constituer un échantillon moyen.

*Stimulation des arbres.* Après avoir étudié individuellement, durant 3 à 5 saignées, les caractéristiques de chaque arbre, on constitue deux lots et on procède à un traitement stimulant la production sur l'un des lots.

La stimulation est effectuée à l'aide de l'Ethrel, générateur d'éthylène, à 5 ou 10% de produit actif dans de l'huile de palme (Ribaillier et D'Auzac 1970). Après avoir gratté une bande d'écorce de 2 cm de largeur en-dessous de l'encoche, on la badigeonne au pinceau avec le produit stimulant.

*Isolement des lutoïdes.* Le latex est centrifugé dans une ultracentrifugeuse réfrigérée Sorvall, rotor SS 34, pendant 30 min à 27 000 g. On écarte le caoutchouc qui se concentre à

la surface des tubes. Le surnageant blanc, liquide, est décanté et le culot est resuspendu dans un tampon mannitol 0,3 M,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M, pH 7,0 (ajusté avec KOH), c'est à dire approximativement le pH du sérum cytoplasmique. La fraction particulaire est lavée 3 fois au tampon par centrifugations successives de 15 min chacune, puis diluée au  $\frac{1}{2}$  avec le même tampon et soigneusement homogénéisée par plusieurs "pipettages".

*Incubation avec les composés radioactifs et comptage.* Les lutoïdes sont placés dans un milieu isotonique dépourvu de matériel métabolique énergétique. Le milieu d'incubation de volume total = 1 ml (dont 0,25 ml de lutoïdes) contient 225  $\mu\text{mol}$  mannitol, 75  $\mu\text{mol}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7,0, et, suivant l'acide aminé étudié, 378 nmol lysine, 3755 nmol alanine ou 4503 nmol acide glutamique, la radioactivité introduite étant de 0,5  $\mu\text{Ci}$  et les activités spécifiques, respectivement, de 1,323  $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$  pour la lysine, de 0,133  $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$  pour l'alanine et de 0,111  $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$  pour l'acide glutamique. La concentration de l'acide aminé non radioactif du milieu est égale à celle du sérum cytoplasmique. Les gradients naturels de concentration en acides aminés testés étant ainsi respectés, l'absorption se fait dans le sens du gradient pour l'acide glutamique et l'alanine (3:1) et contre le gradient de concentration pour la lysine (1:5). C'est pourquoi l'accent est mis sur l'étude de l'absorption de ce dernier composé. Les molécules radioactives correspondant sont uniformément marquées au  $^{14}\text{C}$ . Les incubations sont généralement réalisées en tubes à essais à raison de 5 par variante, à 25°C pendant 30 min. Les cas particuliers d'essais dans des conditions différentes sont indiqués dans le texte. L'incubation est arrêtée en additionnant au tube mis dans de la glace 9 ml de la solution tampon (conservée au préalable dans la glace) dépourvue de l'acide aminé radioactif mais contenant l'acide aminé non radioactif à la même concentration que celle utilisée lors de l'incubation. On centrifuge immédiatement pendant 10 min à 17 300 g. Deux autres lavages du culot sont réalisés de la même manière afin d'éliminer les molécules radioactives non incorporées dans les lutoïdes.

Le sédiment est enfin traité par 1 ml de Triton X-100 à 1% afin de détruire les structures. A 0,2 ml de cet homogénat on ajoute 5 ml de liquide scintillant et la radioactivité est mesurée par un scintillateur Intertechnique.

*Exsorption de l'acide aminé absorbé.* Pour ces essais le temps de contact avec l'acide aminé radioactif (lysine) est de 1 h. Après l'arrêt de l'incubation, centrifugation et 3 lavages, les lutoïdes sont resuspendus dans le milieu primitif dépourvu d'acide aminé, pour une durée de 1 h. Après centrifugation, le comptage est effectué dans les conditions habituelles.

*Mesure de pH intralutoïdique.* Les lutoïdes sont soumis à l'action des ultrasons pendant 5 min afin de faire éclater les structures. La suspension liquéfiée ainsi obtenue est centrifugée 2 h à 120 000 g (Spinco, rotor Ti 50) et le pH du surnageant est déterminé.

*Contrôle de l'intégrité des lutoïdes. Expression des*

**résultats.** Les résultats sont généralement rapportés à 1 mg de protéines de la suspension de lutoïdes. Pour ce faire les protéines sont dosées systématiquement dans chaque prise d'incubation par la méthode de Lowry *et al.* (1951). Ce mode d'expression des résultats permet, d'une part, de comparer valablement les résultats de différentes expériences et, d'autre part, de contrôler l'état des lutoïdes après incubation et les trois lavages suivant le contact avec les molécules marquées. Parallèlement aux dosages des protéines, et toujours pour contrôler l'état des lutoïdes, on détermine l'indice d'éclatement des lutoïdes (activité phosphatase acide libre/activité phosphatase acide totale; Ribaillier 1972).

La grande variabilité du matériel végétal étudié se traduit par les valeurs qui varient parfois de façon appréciable d'une expérience à l'autre sans que les tendances observées en soient affectées. Les résultats exposés ci-dessous représentent les moyennes d'au moins trois expériences qui diffèrent de moins de 10%.

### Résultats et discussion

#### 1. Caractéristiques générales de l'absorption des acides aminés par les lutoïdes

**Cinétique de la pénétration.** L'absorption de l'acide L-glutamique, de la L-alanine et de la L-lysine est linéaire en fonction du temps pendant au moins 30 min (Figure 1). Dans les conditions expérimentales utilisées, proches des conditions physiologiques, la lysine est le plus intensément absorbée, alors que l'influx de l'acide glutamique est extrêmement faible. Après 30 min de contact les quantités suivantes des trois acides aminés ont été absorbées: 9 nmol de la L-lysine sur 378 nmol présentes dans le milieu (2,4%), 64 nmol de la L-alanine sur 3755 nmol (1,7%) et 9 nmol de l'acide L-glutamique sur 4503 nmol (0,2%).

**Influence de la température.** L'absorption des acides aminés est thermodépendante. Elle est très faible à 0°C comparativement à celle observée à 30°C. Les valeurs élevées de  $Q_{10}^{\circ C}$  (4,2 entre 0°C et 10°C, 2,5 entre 10°C et 20°C et 2,2 entre 20°C et 30°C pour la L-lysine) impliquent le

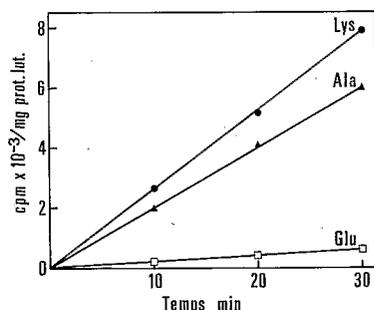


Figure 1. Cinétique de pénétration de la L-lysine (●), de la L-alanine (▲) et de l'acide L-glutamique (□) dans les lutoïdes.

franchissement de la membrane (Figure 2); elles pourraient indiquer que le phénomène ne correspond pas à une simple diffusion mais à un transport actif.

**Influence de la concentration externe en acide aminé.** En suivant l'absorption en fonction d'une gamme de concentrations comprises entre 0,01 et 50 mM on obtient pour les deux acides aminés testés, la L-lysine et la L-alanine, une cinétique de Michaelis-Menten. Les courbes vitesse — concentration en substrat (acide aminé) sont d'allure hyperbolique. La représentation des inverses permet d'obtenir des droites conduisant à des  $K_m$  apparents d'environ 12 mM pour la L-lysine et 33 mM pour la L-alanine (Figure 3).

La cinétique de Michaelis-Menten laisserait supposer que l'influx est lié à l'existence d'un transporteur pouvant être saturé en substrat.

**Influence du pH du milieu externe.** Les pH testés se situent entre 5,5 et 8,5. Le pH du milieu d'incubation influe sensiblement sur la vitesse de pénétration des acides aminés dans les lutoïdes. La Figure 4 montre que la pénétration de la L-lysine est optimale à pH 7,5–8,5 et baisse de façon importante à pH 6. A pH 7,0, où la pénétration de la L-lysine est très significative, la quasi totalité des molécules est représentée par la forme à trois groupes ionisés. Le maximum de pénétration de la L-alanine est à pH 6,0 et celui de l'acide L-glutamique à pH 5,5 ou inférieur.

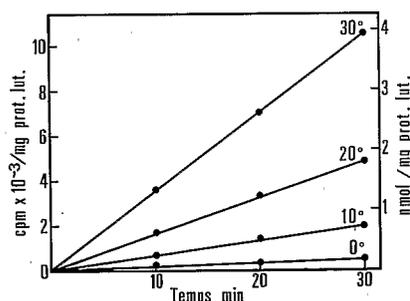


Figure 2. Influence de la température sur la cinétique de pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes.

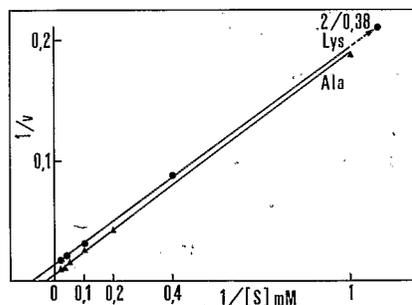


Figure 3. Représentation par les inverses de la vitesse de pénétration de la L-lysine (●) et de la L-alanine (▲) dans les lutoïdes, en fonction du milieu d'incubation du milieu d'incubation correspondant. Représentation de Lineweaver et Burk.

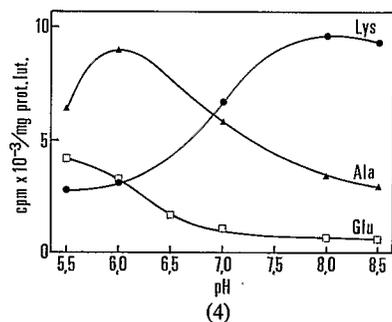


Figure 4. Influence du pH sur la pénétration de la L-lysine (●), de la L-alanine (▲) et de l'acide L-glutamique (□) dans les lutoïdes. Tampon habituel  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  remplacé par tampon Sørensen ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,067 M) couvrant la gamme de pH testé (entre 5,5 et 8,5).

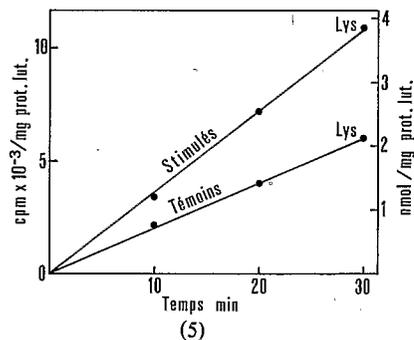


Figure 5. Influence de la stimulation des arbres par l'Ethrel sur la cinétique de pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes.

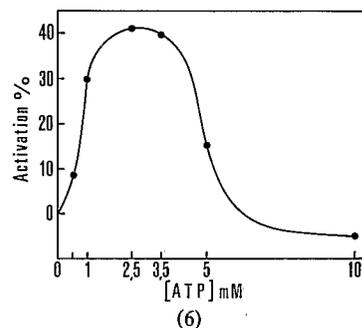


Figure 6. Action de l'ATP à concentration croissante sur la pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes. Résultats exprimés en % d'activation par rapport au témoin incubé sans nucléotide.

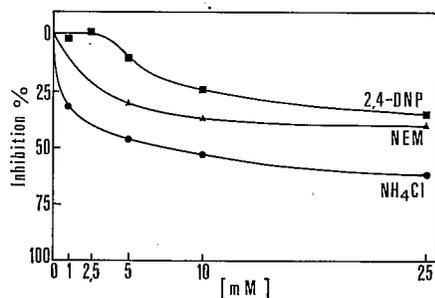


Figure 7. Action du 2,4-DNP (■), du  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (●) et de la NEM (▲) à concentration croissante sur la pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes. Résultats exprimés en % d'inhibition par rapport au témoin incubé sans effecteur.

Nous avons eu recours, pour cette démonstration, à côté du tampon phosphate, au tampon Tris-maléate. La nature du tampon influe sur la vitesse de l'influx des acides aminés sans que l'allure des courbes se trouve modifiée. On peut dire que les optima de pénétration se situent au voisinage des points isoélectriques. Ceci indiquerait que les molécules à charges compensées pénètrent mieux.

Dans les conditions naturelles, au sein du latex, il existe un gradient de pH entre le sérum cytoplasmique dont le pH est proche du neutre et le sérum intralutoïdique de pH de l'ordre de 5,6 (Ribaillier 1972). Ce gradient de protons pourrait être un des facteurs permettant l'absorption par les lutoïdes de la lysine, et plus généralement, des acides aminés basiques, contre le gradient de concentration. Les résultats des expériences relatives à la pénétration de la L-lysine en fonction du pH du milieu plaident en faveur d'une telle hypothèse.

Nous reviendrons sur ce point important plus loin.

## 2. Activateurs et inhibiteurs de la pénétration

*Action d'un traitement stimulant la productivité des arbres sur la pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes.* La stimulation des arbres par de l'Ethrel, générateur de l'éthylène, se traduit par une augmentation importante de la vitesse de pénétration de la L-lysine: de 40% pour le clone Pb 86 à 80% pour le clone PR 107 (Figure 5).

Ce phénomène pourrait être relié à une augmentation du gradient de pH extra/intralutoïdique. En effet, Ribaillier (1972) a mis en évidence une augmentation du pH cytoplasmique après traitement des arbres à l'Ethrel. De plus, Lambert et Coupé (communication personnelle 1976) ont constaté une diminution simultanée du pH intralutoïdique chez des arbres traités.

*Action de l'ATP.* L'ATP exalte la pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes (Figure 6). Son action commence déjà à 0,5 mM et atteint le maximum à 2,5 mM — vitesse de l'absorption multipliée par un facteur 1,4. Au delà de 5 mM l'effet positif disparaît.

Deux modes d'action sont généralement attribués à l'ATP: chargement du gradient de protons et création des liaisons à haut potentiel énergétique ( $X \sim I$ ). Dans le cas de l'accumulation du citrate dans les lutoïdes étudiées par D'Auzac et Lioret (1974), l'augmentation de la vitesse de pénétration observée en présence de l'ATP est attribuée au renouvellement des liaisons à haut potentiel électrique. Dans le cas de la L-lysine l'interprétation faisant intervenir le gradient de protons semble, comme nous le verrons plus loin, devoir être prise en considération.

*Action des divers inhibiteurs: 2,4-DNP,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , NEM* (Figure 7). Le 2,4-DNP inhibe l'absorption de la L-lysine par les lutoïdes. L'inhibition débute à 5 mM et atteint 35% à 25 mM. L'action du 2,4-DNP en tant que découpleur des phosphorylations peut avoir une double explication: soit qu'il

décharge le gradient de protons, soit qu'il décharge la liaison à haute énergie  $X \sim I$ .

Le  $NH_4Cl$  est bien connu comme substance qui décharge le gradient de protons intrachloroplastique. Contrairement à ce qui a été noté par D'Auzac et Lioret (1974) pour le citrate, le  $NH_4Cl$  inhibe fortement la pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes. Son action commence à 1 mM. A 7 mM, l'inhibition est sensiblement de 50%. Ceci va dans le sens de l'hypothèse suivant laquelle le gradient de protons joue un rôle dans le transport de la L-lysine.

La NEM à 5 mM a un effet inhibiteur net sur l'absorption de la L-lysine. A 10 mM l'inhibition est presque maximale, de l'ordre de 40%. La NEM étant un inhibiteur des groupes SH, ceci indiquerait que ces groupes sont, de quelque manière, liés à la pénétration de la L-lysine.

### 3. Spécificité du transport de la lysine

Nous avons testé l'effet inhibiteur d'un certain nombre d'acides aminés non radioactifs de la série L et D sur la pénétration de la L-lysine  $^{14}C$  dans les lutoïdes.

Aucune inhibition n'est constatée en présence des L-aminoacides neutres, aliphatiques ou aromatiques (L-alanine,

L-sérine, L-leucine, L-phénylalanine et L-tyrosine) utilisés à concentrations dix fois plus élevées que celle de la L-lysine. Ou les sites de pénétration ne sont pas les mêmes pour ces aminoacides, ou les transporteurs sont différents et spécifiques.

Contrairement aux acides aminés neutres, la L-arginine inhibe fortement le transport de la L-lysine  $^{14}C$ . L'inhibition de la vitesse initiale d'entrée de la L-lysine (0,5 mM) par la L-arginine (5 mM) est de 46%. L'analyse cinétique de cette inhibition montre qu'elle est de type compétitif (Figure 8). Le  $K_i$  est de l'ordre de 6 mM. Il en découle que les deux L-aminoacides basiques peuvent utiliser le même système transporteur.

L'énantiomère D est sans influence sur l'absorption de la L-lysine. Vu le peu de différence structurale entre les deux isomères ce fait témoignerait d'une haute stéréospécificité du transport de la L-lysine et laisserait supposer l'existence d'un transporteur enzymatique. Notons que les résultats analogues ont été obtenus avec les formes énantiomères de l'alanine: la forme D n'inhibait pas la pénétration dans les lutoïdes de la forme L.

### 4. Exsorption de la lysine

Après une heure d'incubation avec la L-lysine radioactive puis une heure d'incubation dans un milieu sans lysine, on retrouve dans les lutoïdes  $13,8 \pm 0,5$ , des  $14,1 \pm 0,6$  cpm  $\times 10^{-3}$ /mg protéines lutoïdiques absorbés (intervalles de confiance au seuil 0,05). On peut en conclure que dans les conditions expérimentales utilisées aucun efflux de la lysine ne se produit.

### 5. Corrélation entre le gradient de pH extra/intralutoïdique et la vitesse de pénétration de la L-lysine dans les lutoïdes

Les faits exposés ci-dessus indiquent que l'influx de la L-lysine dans les lutoïdes se fait *in vitro* à partir d'un milieu

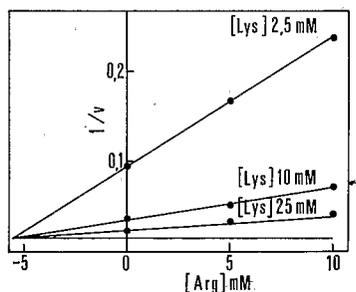


Figure 8. Inhibition compétitive de la pénétration de la L-lysine par la L-arginine. Les inverses de la vitesse portées en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Le  $K_i$  apparent est de l'ordre de 6 mM.

Tableau 1. Influence des différents effecteurs sur le gradient de pH entre le milieu extralutoïdique naturel ou artificiel et le sérum intralutoïdique après 30 min d'incubation à 25°C. Milieu de base: mannitol 0,3 M, tampon phosphate 0,1 M.

Milieu extralutoïdique			
Composition	pH	pH du sérum intralutoïdique	$\Delta$ pH
Sérum cytoplasmique	6,80	5,58	1,22
Sérum cytoplasmique	6,87	5,62	1,25
Milieu de base seul	7,00	6,09	0,91
Milieu de base seul	7,00	6,12	0,88
Milieu de base + ATP 2,5 mM	7,00	5,92	1,08
Milieu de base + ATP 2,5 mM	7,00	5,95	1,05
Milieu de base + $NH_4Cl$ 25 mM	7,00	6,38	0,62
Milieu de base + $NH_4Cl$ 25 mM	7,00	6,52	0,48
Milieu de base + 2,4-DNP 20 mM	7,00	6,28	0,72
Milieu de base + 2,4-DNP 20 mM	7,00	6,30	0,70

non énergétique contre le gradient de concentration. Vu l'exaltation de cette pénétration par l'ATP et son inhibition par le  $\text{NH}_4\text{Cl}$  et le 2,4-DNP, l'hypothèse a été émise suivant laquelle le gradient de protons existant entre les deux compartiments pourrait fournir l'énergie nécessaire à ce transport. Pour étayer cette hypothèse nous avons recherché dans quelle mesure ces effecteurs influent sur le pH intralutoïdique. Le Tableau 1 résume les résultats obtenus.

On constate qu'une corrélation positive existe effectivement entre la valeur du gradient de pH et la vitesse de pénétration de la L-lysine: l'ATP, activateur de pénétration, abaisse le pH intralutoïdique et, de ce fait, fait augmenter le gradient de pH; au contraire, le 2,4-DNP et surtout le  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , inhibiteurs de pénétration, font monter le pH intralutoïdique et abaissent ce gradient. La stimulation des arbres par de l'Ethrel, en faisant baisser le pH du sérum lutoïdique, agirait dans le sens de l'augmentation de ce gradient. Ceci amène à penser que pour un cation organique tel que la L-lysine, la pénétration dépendrait du gradient d'ions hydroxynium.

### Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus indiquent que les lutoïdes, compartiment vacuolaire à caractère lysosomal, absorbent la L-lysine selon un processus faisant intervenir un système de transport médiat. Le transport observé s'effectue contre le gradient de concentration; il présente un caractère vectoriel ainsi qu'une spécificité accentuée pour les L-aminoacides basiques; il paraît nettement relié au gradient de pH existant entre les deux compartiments.

Dans l'état actuel des connaissances, l'hypothèse d'un système de transport spécifique assurant l'échange couplé entre un proton et une mole d'acide aminé basique nous paraît intéressante à retenir. Ce système fonctionnerait du fait de l'existence du gradient de pH, ce dernier résultant du fonctionnement d'une pompe à protons (Lambert 1975).

Ce travail a fait l'objet des contrats DGRST. N° 72 70 29 et 74 70 396. Action complémentaire coordonnée "Membranes biologiques. Structures et fonctions". Nous remercions vivement le Laboratoire de Radioisotopes du C.E.A. — ORSTOM à Adiopodoumé qui nous a fourni les molécules radioactives. Nous tenons également à remercier Monsieur J. D'Auzac, Professeur à la Faculté des Sciences de Montpellier, qui a bien voulu accueillir l'un de nous dans son laboratoire pour lui enseigner ses techniques, de même que Monsieur C. Lioret, Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay, qui s'est donné la peine de formuler les critiques concernant ce texte.

### Références

Archer, B. L., Audley, G. B., McSweeney, G. P. & Tan Chee Hong 1969. Studies on composition of latex serum and "bottom fraction" particles. — *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 21: 560–569.  
 D'Auzac, J. & Lioret, C. 1974. Mise en évidence d'un mécanisme d'accumulation du citrate dans les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. — *Physiol. Vég.* 12: 617–635.  
 Boller, T., Dürr, M. & Wiemkin, A. 1975. Characterization of a specific transport system for arginine in isolated yeast vacuoles. — *Eur. J. Biochem.* 54: 81–91.

Brzowska, J., Hanower, P. & Chezeau, R. 1974. Free amino acids of *Hevea brasiliensis* latex. — *Experientia* 30: 894–895.  
 Crabeel, M. & Grenson, M. 1970. Regulation of histidine uptake by specific feedback inhibition of two histidine permeases in *Saccharomyces cerevisiae*. — *Eur. J. Biochem.* 14: 197–204.  
 Grenson, M. 1966. Multiplicity of the amino acid permeases in *Saccharomyces cerevisiae*. II. Evidence for a specific lysine-transporting system. — *Biochim. Biophys. Acta* 127: 339–346.  
 — 1973. Specificity and regulation of the uptake and retention of amino acids and pyrimidines in yeast. — *In Genetics of Industrial Microorganisms* (Z. Vanek, Z. Hostalek and J. Cudlin, eds.) 2: 179–193. Academia, Prague.  
 — Hou, C. & Crabeel, M. 1970. Multiplicity of the amino acid permeases in *Saccharomyces cerevisiae*. IV. Evidence for a general amino acid permease. — *J. Bacteriol.* 103: 770–777.  
 — Mousset, M., Wiame, J. M. & Bechet, J. 1966. Multiplicity of the amino acid permeases in *Saccharomyces cerevisiae*. I. Evidence for a specific arginine-transporting system. — *Biochim. Biophys. Acta* 127: 325–338.  
 Hanower, P., Brzowska, J. & Lioret, C. 1976. Etude du mécanisme de la coagulation du latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. I. Facteurs agissant sur la coagulation. — *Physiol. Vég.* (à paraître).  
 Lambert, C. 1975. Influence de l'ATP sur le pH intralutoïdique et sur la pénétration du citrate dans les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis*. — *C.R. Acad. Sci. (Paris) Série D* 281: 1705–1708.  
 Lombardi, F. J. & Kaback, H. R. 1972. Mechanisms of active transport in isolated bacterial membrane vesicles. VIII. The transport of amino acids by membranes prepared from *Escherichia coli*. — *J. Biol. Chem.* 247: 7844–7872.  
 Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. — *J. Biol. Chem.* 193: 265–275.  
 Moir, G. F. J. & Tata, S. J. 1960. The proteins of *Hevea brasiliensis* latex. III. The soluble proteins of "bottom fraction". — *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 16: 155–165.  
 Nakamura, K. D. & Schlenk, F. 1974. Examination of isolated yeast cell vacuoles for active transport. — *J. Bacteriol.* 118: 314–316.  
 Prasad, R., Kalra, V. K. & Brodie, A. F. 1975. Active transport of glutamine and glutamic acid in membrane vesicles from *Mycobacterium phlei*. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 63: 50–56.  
 Pujarniscle, S. 1968. Caractère lysosomal des lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* Müll. Arg. — *Physiol. Vég.* 6: 27–46.  
 Ribaillier, D. 1972. Quelques aspects du rôle des lutoïdes dans la physiologie et l'écoulement du latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. Action de produits libérant de l'éthylène. — *Thèse Doc. Etat (Sci. Nat.) Université d'Abidjan, C.N.R.S. N° A0 7716*.  
 — & D'Auzac, J. 1970. Nouvelles perspectives de stimulation hormonale de la production chez l'*Hevea brasiliensis*. — *Rév. Gén. Caout. Plast.* 47: 433–439.  
 — Jacob, J. L. & D'Auzac, J. 1971. Sur certains caractères vacuolaires des lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* Müll. Arg. — *Physiol. Vég.* 9: 423–437.  
 Short, S. A., White, D. & Kaback, H. R. 1972. Mechanisms of active transport in isolated bacterial membrane vesicles. IX. The kinetics and specificity of amino acid transport in *Staphylococcus aureus* membrane vesicles. — *J. Biol. Chem.* 247: 7452–7458.  
 Southorn, W. A. & Edwin, E. E. 1968. Latex flow studies. II. Influence of lutoïdes on the stability and flow of *Hevea* latex. — *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 20: 187–200.  
 Southorn, W. A. & Yip, E. 1968. *Idem*. III. Electrostatic considerations in the colloidal stability of fresh latex from *Hevea brasiliensis*. — *Ibid.* 20: 201–215.  
 Wiersum, L. K. 1957. Enkele latex problemen. — *Vakbl. Biol.* 37: 17–26.