

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. — *Étude préliminaire sur l'activité enzymatique des lutoïdes du latex d'Hevea brasiliensis. Analogie avec les lysosomes.*  
 Note (\*) de M. SERGE PUJARNISCLE, transmise par M. Georges Champetier.

Divers résultats expérimentaux permettent d'envisager que les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* pourraient correspondre aux lysosomes de la cellule animale.

Homans et Van Gils (<sup>1</sup>), en 1948, montrèrent la présence dans le latex non dilué d'un groupe de particules qu'ils baptisèrent « lutoïdes ». Ce sont, après les particules de caoutchouc, les plus abondantes du latex et elles

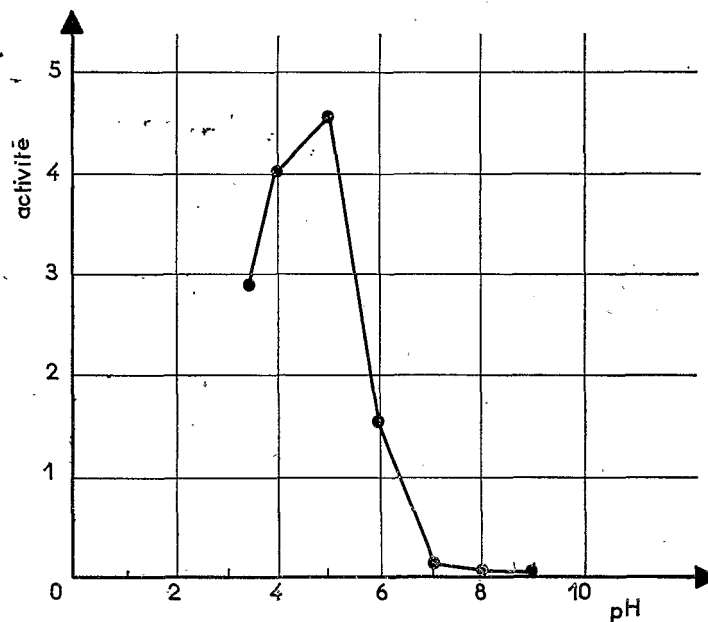


Fig. 1. — Activité phosphatasique des lutoïdes en fonction du pH; l'activité phosphatasique maximale apparaît pour un pH de l'ordre de 5.

se sédimentent aisément par centrifugation à basse vitesse. Divers auteurs [(<sup>2</sup>), (<sup>3</sup>), (<sup>4</sup>)] en ont étudié les aspects morphologiques toutefois leurs fonctions biologiques dans la cellule laticifère restent encore très obscures bien qu'Archer et coll. (<sup>5</sup>) aient montré que ces particules possèdent une activité phosphatasique. Une étude plus approfondie de cet enzyme et certains autres résultats nous ont conduit à émettre l'hypothèse d'une analogie entre ces particules et les lysosomes de la cellule animale.

Les lutoïdes ont été séparés du latex selon la technique d'Archer et coll. (<sup>5</sup>) en augmentant toutefois le nombre de lavages afin de les purifier au maximum. La phosphatase a été dosée en utilisant le phosphate de *p*-nitro-

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 10235

phényle comme substrat. Les incubations ont été effectuées à 30°C pendant 10 mn, soit en présence d'un tampon acétate-borate-cacodylate 0,1 M (<sup>7</sup>), lequel couvre une gamme de pH allant de 3,5 à 9,0, soit, par la suite en présence d'un tampon acétate 0,1 M de pH 5,0. Les activités sont exprimées en nombre de micromoles de *p*-nitrophénol libérées en 10 mn, soit par millilitre de suspension de lutoïde, soit par milligramme d'azote protéique.

Comme on le constate dans la figure 1, l'activité de la phosphatase des lutoïdes est maximale pour un pH compris entre 4 et 5 : il s'agit donc effectivement d'une phosphatase acide.

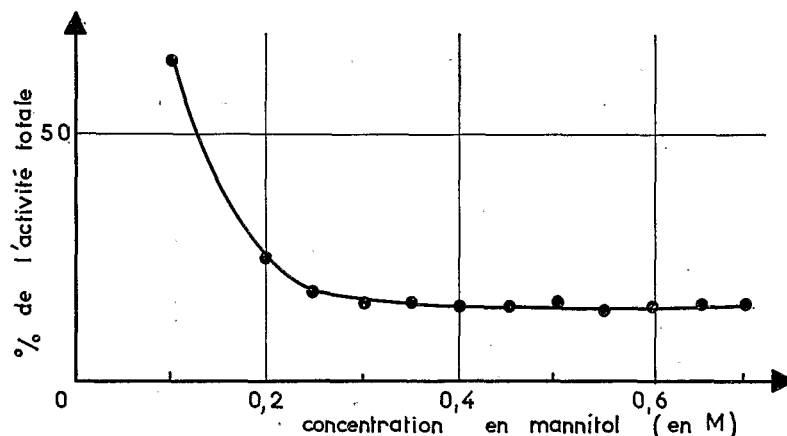


Fig. 2. — Activité phosphatasique du latex en fonction de la concentration en mannitol; l'activité phosphatasique augmente considérablement pour une concentration en mannitol inférieure à 0,3 M/l.

Nous avons vérifié que cette phosphatase est inhibée par le fluorure de sodium (inhibition de 75 % environ pour  $1 \cdot 10^{-3}$  M de fluorure de sodium) tandis que la cystéine est sans action.

Les lutoïdes sont relativement labiles et perdant leur intégrité morphologique, ils libèrent dans le milieu la phosphatase acide. Nous avons donc étudié la lyse de ces particules qui peut être obtenue de diverses façons :

a. par un vieillissement des particules conservées à 0°C (tableau I).

TABLEAU I.

*Influence du vieillissement sur l'activité phosphatasique des lutoïdes.*

pH du milieu (*) (tampon acétate 0,1 M).	Activité des lutoïdes fraîchement préparés (act./ml de suspension de lutoïdes).	Activité des lutoïdes après 3 jours de stockage à 0°C (act./ml de suspension de lutoïdes).
3,6.....	0,23	1,23
4,0.....	0,57	1,40
4,5.....	1,04	1,82
5,0.....	1,25	2,17
5,5.....	1,23	2,11

(\*) Toutes les incubations ont été faites en milieu mannitol 0,4 M.

b. par dilution des lutoïdes dans l'eau ou en incubant ces particules en présence d'un détergent non ionique comme le triton X 114 <sup>(8)</sup> (tableau II);

TABLEAU II.

*Action de la dilution et du triton X 114 sur l'activité phosphatasique des lutoïdes.*

	Activité en milieu mannitol 0,4 M et à pH 5 (act./ml de lutoïdes).
Lutoïdes . . . . .	4,08
Lutoïdes dilués 10 fois . . . . .	12,63
Lutoïdes + 0,06 % de triton X 114 . . . . .	13,45

c. par incubation dans des solutions de tonicités différentes (*fig. 2*).

Afin de démontrer l'origine particulière de la phosphatase acide, le latex a été fractionné par centrifugation en deux parties : une fraction lourde contenant les lutoïdes et un surnageant. Sur chacune de ces fractions on a mesuré l'activité spécifique (activité par milligramme d'azote protéique) de la phosphatase immédiatement dosable, (en milieu mannitol 0,3 M à pH 5) et celle de la phosphatase libérée après traitement de la suspension, au même pH, par le triton X 114 (0,1 %), les résultats obtenus sont donnés dans le tableau III.

TABLEAU III.

*Activité spécifique de la phosphatase dans le latex.*

	I. Activité spécifique de la phosphatase acide immédiatement dosable.	II. Activité spécifique de la phosphatase acide après traitement au triton.	Rapport $\frac{II}{I}$
Latex entier . . . . .	4,86	21,14	4,3
Surnageant . . . . .	5,68	6,99	1,2
Lutoïdes . . . . .	23,82	97,58	4,1

Il ressort de ces résultats que l'activité spécifique de la phosphatase est beaucoup plus importante dans la fraction lourde que dans le surnageant où l'activité est due presque exclusivement à l'enzyme libre.

De plus, nous avons pu caractériser dans la fraction lourde du latex la peroxydase et la DOPA-oxydase déjà mises en évidence par Hsia <sup>(9)</sup>, en outre des activités  $\beta$ -glucosidase, ribonucléase et désoxyribonucléase ont été également mises en évidence; toutefois ces deux dernières activités pourraient être simplement dues à la présence d'une phosphodiesterase.

Si l'on excepte les deux oxydases citées plus haut, la fraction lutoïdique se caractérise par la présence d'hydrolases et notamment de la phosphatase acide dont la mise en évidence est facilitée par des traitements entraînant

la lyse des particules, soit en présence d'une solution hypotonique, ce qui laisse supposer un éclatement dû aux forces osmotiques, soit par un détergent, ce qui implique la nature lipoprotéique de la membrane.

D'après leur comportement et leur activité les lutoïdes semblent donc voisins des lysosomes de la cellule animale <sup>(10)</sup> et il est fort probable qu'il existe une proche parenté entre ces deux types de particules.

(\*) Séance du 30 août 1965.

(1) L. N. S. HOMANS et G. O. VAN GILS, *Nature*, 161, 1948, p. 177.

(2) J. RUINEN, *Ann. Bogorienses*, I, Part. 1, 1950, p. 27.

(3) TH. G. F. SCHOON et K. L. PHOA, *Arch. Rubbercult.*, 23, 1956, p. 195.

(4) W. A. SOUTHORN, *Proceeding of the Nat. Rub. Res. Conf. K. L.*, 1960, p. 766.

(5) B. L. ARCHER, B. G. AUDLEY, E. G. COCKBAIN et G. P. MC SWEENEY, *Biochem. J.*, 89, 1963, p. 565.

(6) D. A. BESSEY, O. H. LOWRY et M. J. BROCK, *J. Biol. Chem.*, 164, 1946, p. 321.

(7) C. DE DUVE, J. BERTHET, H. G. HERS et L. DUPRET, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 31, 1949, p. 1242.

(8) R. WATTIAUX et C. DE DUVE, *Biochem. J.*, 63, 1956, p. 606.

(9) R. C. H. HSIA, *I. R. I. Trans.*, 34, 1959, p. 267.

(10) C. DE DUVE, *Dans Subcellular particles*, Ronald Press, New York, 1959, p. 128.

(Laboratoire de Physiologie végétale O.R.S.T.O.M.,  
Centre d'Adiopodoumé, B. P. n° 20, Abidjan, Côte-d'Ivoire.)