

ÉTUDE PRÉLIMINAIRE SUR LES LUTOÏDES DU LATEX ET LEUR POSSIBILITÉ D'INTERVENTION DANS LA BIOSYNTHÈSE DU CAOUTCHOUC *

S. PUJARNISCLE

ORSTOM, Centre d'Adiopodoumé.

D. RIBAILLIER

IRCA, Bimbresso.

Les résultats présentés montrent que les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* ont des points communs avec les lysosomes de la cellule animale. La déstabilisation des lutoïdes dans le latex semble inhiber la biosynthèse du caoutchouc « in vitro ». Des hypothèses sont avancées quant aux relations qui peuvent exister entre la déstabilisation des lutoïdes au sein de la cellule laticifère et les accidents physiologiques de saignée. Ces hypothèses rendent compte du fait que ces accidents physiologiques semblent pouvoir être induits par des causes premières diverses.

Introduction.

En 1948, Homans et Van Gils (1) montrèrent qu'il existe dans le latex d'hévéa des particules qui se présentent au microscope sous forme d'agrégats et qui se sédimentent dans les couches inférieures lors d'une centrifugation à basse vitesse. Ces particules sont désignées par le terme « lutoïdes » ; elles constituent la majeure partie du culot de centrifugation, appelé aussi fraction jaune par suite de la présence des particules de Frey-Wissling qui lui communiquent leur coloration.

Divers auteurs (2, 3, 4) ont étudié la morphologie des lutoïdes, mais les fonctions de ces particules dans la cellule laticifère restent encore très obscures. Bien que les travaux de Bandurski et Teas (5) n'aient pas fait apparaître un rôle direct de ces particules dans la biosynthèse du caoutchouc, Archer et ses collaborateurs (6) ont montré par la suite que ces particules possèdent une activité phosphatasique et peuvent décomposer l'ATP et le pyrophosphate d'isopentényle, rendant ce dernier incapable de se transformer en caoutchouc.

Activité phosphatasique des lutoïdes.

L'un de nous (7), en étudiant d'une façon plus détaillée l'activité phosphatasique des lutoïdes, est arrivé à la conclusion que ces particules, par leur comportement et leur activité, sont vraisemblablement très proches des lysosomes de la cellule animale (8).

En effet, si l'on détermine l'activité phosphatasique en incubant des lutoïdes dans des tampons acétate-borate-cacodylate 0,1 M (de divers pH) (10) avec, comme substrat, du phosphate de p. nitro-phényle (9), il apparaît que la phosphatase est du type acide et que son activité maximale se situe entre pH 4 et 5.

De plus, l'activité phosphatasique peut être accrue par divers traitements amenant la lyse des particules tels que :

- le vieillissement de la préparation ;
- la dilution avec de l'eau ;
- l'incubation dans des solutions de différentes tonicités ;

(*) Les travaux faisant l'objet de la publication de MM. S. Pujarnisclé et D. Ribaillier ont été effectués en Côte-d'Ivoire sur le matériel végétal disponible à la station de Bimbresso, de l'Institut de Recherche sur le Caoutchouc en Afrique. Nous sommes particulièrement reconnaissants à M. le Professeur Camus, directeur général de l'ORSTOM, d'avoir bien voulu réserver à l'étude du latex d'hévéa l'activité de M. S. Pujarnisclé, chargé des recherches à l'ORSTOM.

I.R.C.A.

— l'incubation en présence d'un détergent non ionique comme le Triton X-114 (9).

Il a également été montré que l'activité spécifique de la phosphatase acide (activité par mg d'azote protéique) est considérablement plus élevée dans la fraction lourde contenant les lutoïdes que dans le surnageant. Pour ce faire, le latex, centrifugé selon la technique d'Archer et coll. (6), a été séparé en fraction lourde et surnageante, puis sur chacune de ces fractions

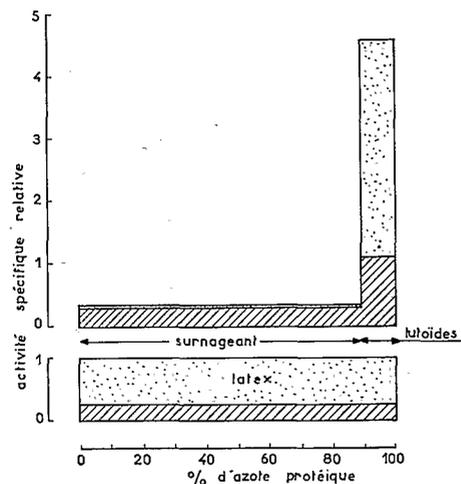


FIG. 1. — Distribution de la phosphatase acide dans le latex après centrifugation. En hachuré : activité phosphatasique libre. En pointillé : activité phosphatasique liée (activité phosphatasique totale—activité phosphatasique libre).

on a dosé, d'une part, l'activité phosphatasique libre mesurée directement (en milieu mannitol 0,3 M tamponné à pH 5 par l'acétate 0,1 M), et, d'autre part, l'activité phosphatasique totale, libérée par l'éclatement des lutoïdes sous l'action du Triton X-114 (0,1 % tamponné à pH 5 par l'acétate 0,1 M). Les résultats sont donnés, dans la figure 1, selon le principe de De Duve et coll. (10); chaque fraction est représentée en abscisses par son pourcentage d'azote protéique et en ordonnées par l'activité spécifique relative de la phosphatase (rapport du pourcentage d'activité enzymatique au pourcentage d'azote protéique de la fraction).

Les méthodes cytochimiques ont été également utilisées afin de situer l'activité phosphatasique au sein du latex. La technique de Gomori (11) a permis de déceler, dans une goutte de latex déposée sur une lamelle

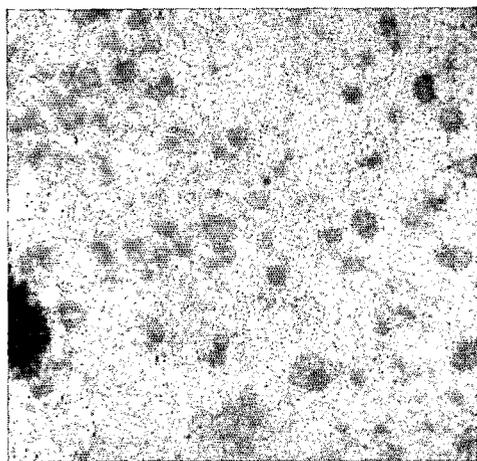
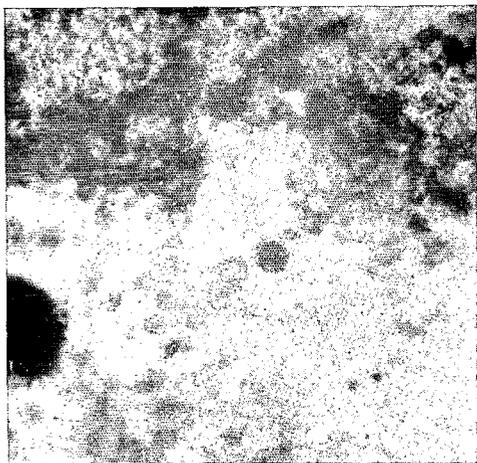


FIG. 2 ET 3. — Révélation des lutoïdes par leur activité phosphatasique acide.

de microscope, l'activité de la phosphatase acide par la coloration noire qu'elle produit. Sur les figures 2 et 3, on observe les lutoïdes sous forme de particules noires, souvent emprisonnées dans des amas de caoutchouc coagulé. On constate également la présence d'une grande quantité de membranes de lutoïdes éclatées et vidées de leurs enzymes, ces dernières semblent d'ailleurs avoir été plus ou moins absorbées par de petites particules de caoutchouc qui apparaissent sous forme de points noirs.

Activités enzymatiques diverses des lutoïdes.

Diverses activités enzymatiques ont pu être caractérisées dans les lutoïdes ; c'est le cas, notamment, de la peroxydase et de la DOPA oxydase déjà mises en évidence par Hsia (12). De plus, on a décelé dans cette fraction des activités bêta-glucosidase, ribonucléase et desoxyribonucléase ; cependant, ces deux dernières pourraient simplement être dues à la présence d'une phosphodiesterase.

Si l'on excepte donc les deux oxydases citées plus haut, la fraction lutoïdique est caractérisée par la présence d'hydrolases, principalement la phosphatase acide, dont l'activité peut être fortement accrue par des traitements amenant la lyse des particules. Les analogies qui existent entre les lutoïdes et les lysosomes de la cellule animale, d'après leur activité enzymatique et leur comportement, font apparaître très probable

l'existence d'une proche parenté entre ces deux types de particules.

En raison des activités hydrolytiques des enzymes que les lutoïdes peuvent libérer lorsqu'ils sont lésés, on conçoit que la stabilité de ces particules au sein du latex, et peut-être même de la cellule laticifère, puisse intervenir dans la biosynthèse du caoutchouc. Comme il a été constaté précédemment que les lutoïdes sont très sensibles aux changements de pression osmotique du milieu, on peut penser qu'une telle variation soit susceptible d'entraîner la lyse d'une partie des lutoïdes et la libération de leurs enzymes, dont la phosphatase acide. Il est évident que l'apparition d'une activité phosphatasique importante peut provoquer l'hydrolyse des composés phosphorylés à haute énergie, ainsi que des divers intermédiaires phosphorylés, entraînant ainsi le blocage de toutes les biosynthèses, dont celle du caoutchouc.

Relations entre les activités phosphatasiques et biosynthétiques du latex.

Les considérations précédentes nous ont conduits à étudier l'existence de relations entre l'activité phosphatasique, le potentiel osmotique et l'activité biosynthétique « in vitro ». Pour ce faire, 26 latex issus d'une même famille d'illégitimes (Tjir. 1 ill.) ont été utilisés (*) :

- le potentiel osmotique a été mesuré par cryoscopie ;
- la phosphatase acide a été déterminée en faisant la distinction entre activité totale et libre comme on l'a indiquée précédemment ;
- l'activité biosynthétique est définie comme le rendement de la transformation d'acétate ^{25}C en caoutchouc radio-actif obtenu après incubation de ce promoteur dans le latex « in vitro » (13).

Les résultats obtenus sont représentés sur les figures 4 et 5 et leur analyse statistique a permis de mettre en évidence les corrélations suivantes :

- relation directe entre l'activité biosynthétique du latex et le rapport entre l'activité phosphatasique acide totale et phosphatasique acide libre (ce rapport peut être considéré comme un indice de la stabilité des lutoïdes du latex considéré)

$$n = 26 \quad r = + 0,45 \quad 0,01 < p < 0,05 \\ Y = 0,117x + 4,082$$

- relation directe entre le rapport des activités phosphatasique acide totale et libre et le potentiel osmotique

$$n = 26 \quad r = + 0,46 \quad 0,01 < p < 0,05 \\ Y = 0,007x + 0,221$$

On peut donc déduire de cette expérimentation que le potentiel osmotique du latex est effectivement un des facteurs qui commande la stabilité des lutoïdes dont la lyse entraîne la libération d'hydrolases venant inhiber la biosynthèse du caoutchouc.

Considérations sur une éventuelle activité lutoïdique in situ.

Il paraît important de savoir si les lutoïdes, relativement faciles à dégrader « in vitro », sont susceptibles de déstabilisation au sein de la cellule laticifère. On sait en effet que dans la cellule animale, dans certains cas pathologiques sous l'influence de facteurs externes, les lysosomes peuvent se dégrader, entraînant la nécrose et la dégénérescence des tissus (14).

(*) Les essais ont été conduits sur des arbres illégitimes, ce matériel étant le seul en saignée lors des essais. Ces mesures seront reprises sur des arbres greffés afin de diminuer la variabilité, dès que cela sera possible.

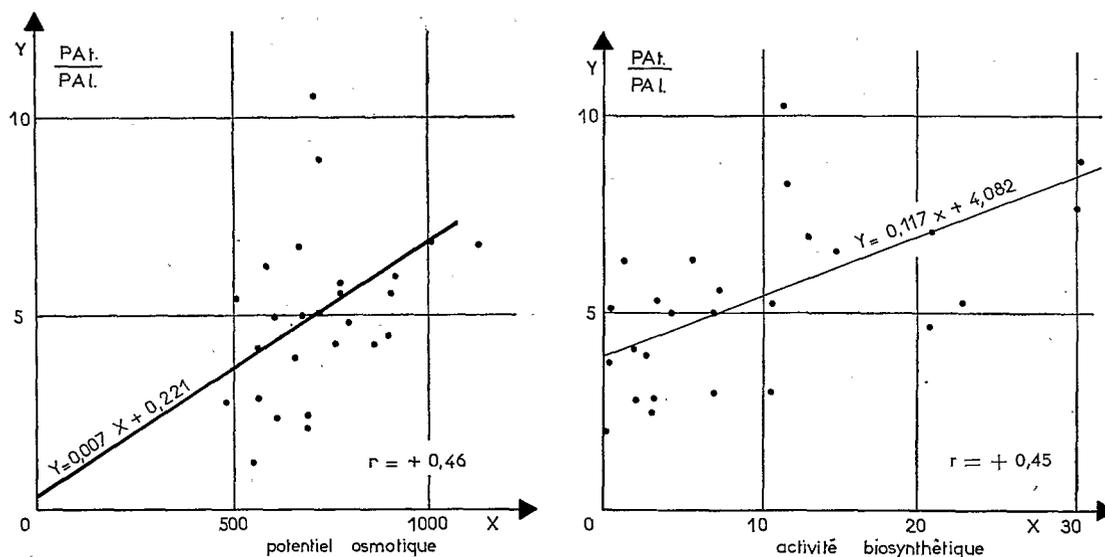


FIG. 4 ET 5. — Corrélations entre l'activité phosphatasique acide, le potentiel osmotique et l'activité biosynthétique de différents latex (Tj 1 ill.).

PAf : activité phosphatasique totale (après traitement au Triton).
PAI : activité phosphatasique libre (immédiatement dosable).

PO : potentiel osmotique (J/kg).
Activité biosynthétique = Rendement % de l'incorporation de l'acétate ^{24}C dans le caoutchouc.

Si l'analogie entre lutoïdes et lysosomes se confirme, l'importance que revêt la caractérisation précise de la fonction des lutoïdes apparaît clairement ; en effet, il serait alors possible de transposer les résultats obtenus dans la cellule animale au cas particulier de l'étude de la cellule laticifère.

On peut notamment songer à aborder sous un jour nouveau les accidents physiologiques de saignée (en particulier le « Brown bast »). Ces accidents, qui peuvent aller de la coagulation partielle sur l'encoche de saignée jusqu'à une siccité totale de l'encoche, avec éventuellement des nécroses et des déformations du panneau, ont été décrits et classés par Compagnon, Tixier et Roujansky (15), lesquels ont montré que les arbres les plus sensibles se trouvaient être généralement les plus hauts producteurs ou ceux soumis à une exploitation trop intensive. On peut imaginer que la déstabilisation des lutoïdes puisse être susceptible d'expliquer, au moins en partie, un certain nombre de ces accidents. Nous avons remarqué en effet que, pour les latex instables qui présentent de nombreuses précipitations sur encoche, le rapport activité phosphatasique totale sur activité phosphatasique libre est relativement faible.

Si une telle hypothèse se vérifiait, la déstabilisation des lutoïdes ne saurait cependant être considérée que comme la conséquence de troubles plus profonds ; il faudrait chercher plus loin la cause du mal et l'on pourrait penser qu'un déséquilibre organique ou minéral et notamment l'excès de certains cations (Mg, Ca, ...) puisse, comme dans le cas des lysosomes (16), déstabiliser les lutoïdes. Un tel déséquilibre peut lui-même résulter de plusieurs causes telles que saignée intensive, alimentation organique déficiente du panneau de saignée, carence en éléments minéraux majeurs ou mineurs, etc.

Il n'est donc pas interdit de penser que, si la déstabilisation des lutoïdes joue effectivement un rôle dans

les accidents physiologique de saignée, l'approfondissement des causes de cette déstabilisation, en analogie avec les lysosomes de la cellule animale, pourra conduire à une meilleure connaissance de phénomènes dont l'incidence pratique sur la productivité des plantations est importante.

**

Remerciements.

Nous tenons à remercier M. J. Veira Da Silva, du laboratoire de physiologie végétale de l'ORSTOM, qui a effectué les mesures de potentiel osmotique, et Mlle J. Ruinen, du Centre Néerlandais de l'ORSTOM, qui nous a aidés pour l'application des techniques cytochimiques au latex. Nous adressons également nos remerciements au Commissariat à l'Energie Atomique (CEA) qui nous a fourni gratuitement l'acétate ^{24}C .

Références.

- (1) L.N.S. HOMANS et VAN GILS, *Nature* 161, 177 (1948).
- (2) J. RUINEN, *Ann. Bogorensis*, vol. 1, part. 1, 27 (1950).
- (3) Th.G.F. SCHOON et K.L. PHOA, *Arch. Rubbercult.* 23, 195 (1956).
- (4) W.A. SOUTHERN, *Proceeding of the Rubb. Res. Conf. Kuala Lumpur*, 766 (1960).
- (5) R.S. BANDURSKI et H.J. TEAS, *Plant. Physiol.* 32, 643 (1957).
- (6) B.L. ARCHER, B.G. AUDLEY, E.G. COCKBAIN et B.P. Mc SWEENEY, *Biochem. J.* 89, 565 (1963).
- (7) S. PUJARNISCLE, *C.R. Acad. Sci.* 261, 2127 (1965).
- (8) C. DE DUVE, *Dans Subcellular particles* (Ronald Press, N.Y.), p. 128 (1959).
- (9) R. WATTIAUX et C. DE DUVE, *Biochem. J.* 63, 606 (1956).
- (10) C. DE DUVE, B.C. PRESSMAN, R. GIANETTO, R. WATTIAUX et F. APPEMANS, *Biochem. J.* 60, 604 (1955).
- (11) H.U. BERGMAYER, *Methods of enzymatic analysis* (Academic Press), 933 (1963).
- (12) R.C.H. HSIA, *I.R.I. Trans.* 34, 267 (1959).
- (13) J. D'AUZAC, S. PUJARNISCLE, P. FOURNIER et TUONG CHI CUONG, *Ann. Fac. Sci. Saigon*, p. 97 (1962).
- (14) C. DE DUVE, *Symposium de la fondation CIBA sur les lysosomes* (Churchill), p. 1 (1963).
- (15) P. COMPAGNON, P. TIXIER et G. ROUJANSKY, *Arch. V. Rubber Cult.*, Extra number, p. 54 (1953).
- (16) A.L. TAPPEL, P.L. SAWANT et S. SHIBKO, *Symposium de la fondation CIBA sur les lysosomes* (Churchill), p. 78 (1963).

Bio et Animal

**ÉTUDE PRÉLIMINAIRE SUR LES LUTOÏDES DU LATEX
ET LEUR POSSIBILITÉ D'INTERVENTION
DANS LA BIOSYNTÈSE DU CAOUTCHOUC**

S. PUJARNISCLE et D. RIBAILLIER

Extrait de la
REVUE GÉNÉRALE DU CAOUTCHOUC
ET DES PLASTIQUES
Février 1966

**O. R. S. T. O. M.
Collection de Référence**

10445

4 MARS 1966

n° 10445