

# DU RÔLE DES LUTOÏDES DANS L'ÉCOULEMENT DU LATEX CHEZ L'HEVEA BRASILIENSIS

## I. - ÉTUDE DE L'ÉVOLUTION DES HYDROLASES LUTOÏDIQUES ET DE QUELQUES PROPRIÉTÉS DU LATEX LORS DE LA MISE EN SAIGNÉE D'ARBRES VIERGES

**Serge PUJARNISCLE**

*Laboratoire de Physiologie Végétale  
Office de la Recherche Scientifique  
et Technique Outre-Mer  
Centre d'Adiopodoumé  
(Côte d'Ivoire)*

et

**Daniel RIBAILLIER**

*Laboratoire d'Etude de la Formation  
et de l'Écoulement du latex  
Institut de Recherches  
sur le Caoutchouc en Afrique  
Bimbresso (Côte d'Ivoire)*

---

La variation de différents facteurs caractérisant le latex et son écoulement est étudiée en fonction des saignées successives, lors de la mise en exploitation des hévéas. La modification de ces facteurs : activité de quelques hydrolases lutoïdiques, teneur en magnésium et en azote protéique, activité biosynthétique et teneur en caoutchouc du latex, production de caoutchouc et indice d'obstruction, est analysée en corrélation avec l'évolution des lutoïdes dont le rôle du point de vue de l'écoulement et, par conséquent, de la production apparaît important.

---

A côté du caoutchouc qui est le constituant principal du latex d'*Hevea brasiliensis*, on rencontre dans cette suspension de nombreux autres organites et en particulier les lutoïdes caractérisés par Homans et Van Gils (1).

L'étude morphologique des lutoïdes a été entreprise par de nombreux auteurs soit au microscope photonique (2, 3, 4), soit au microscope électronique (5, 6). Cependant, jusqu'à ces dernières années, peu de travaux de nature biochimique ont été effectués sur ces organites. Archer et col. (7) trouvèrent une phosphatase dans la fraction lourde obtenue par centrifugation du latex et constituée principalement par des lutoïdes. Plus tard, Pujarnisclé (8, 9, 10) montra qu'un certain nombre d'hydrolases du type acide sont concentrées dans les lutoïdes et que ceux-ci présentent de nombreuses propriétés physico-chimiques très proches de celles des lysosomes décrits par De Duve (11) dans les cellules hépatiques du rat. Ces résultats ont amené à suggérer que les lutoïdes étaient des organites équivalents aux lysosomes de la cellule animale et qu'ils devaient posséder des fonctions similaires dans la cellule laticifère (12).

Cependant, malgré ces analogies, il n'a pas été possible de définir clairement les fonctions des lutoïdes dans le latex. Néanmoins, de nombreuses observations faites en Malaisie semblent montrer qu'ils constituent le principal facteur régissant la stabilité colloïdale des particules de caoutchouc et l'arrêt de l'écoulement du latex (13, 14). De notre côté, nous avons pu établir une corrélation inverse entre la stabilité des lutoïdes et l'activité biosynthétique du latex, c'est-à-dire sa capacité à transformer l'acétate  $2\text{-}^{14}\text{C}$  en caoutchouc radioactif (15).

Ainsi les lutoïdes pourraient-ils constituer un facteur négatif, mais cependant d'une très grande importance, susceptible de contrôler les mécanismes de la formation du caoutchouc et de l'écoulement du latex lors de la saignée.

Nous avons tenté d'étudier l'évolution de la stabilité des lutoïdes et de certaines hydrolases « lutoïdiques » dans deux cas bien précis :

— lors de la mise en production d'hévéas n'ayant encore jamais été saignés, afin d'étudier le comportement des

lutoïdes sous l'effet de ce traumatisme répété, étude qui fait l'objet de la présente communication ;

— au cours de l'écoulement du latex, lors de la saignée d'un hévéa, afin de discerner dans quelle mesure les lutoïdes pourraient intervenir dans l'arrêt de cet écoulement, résultats qui feront l'objet d'une prochaine publication (16).

✱

En hévéaculture, on appelle « arbres vierges », des hévéas qui n'ont encore jamais été soumis à la saignée. Lorsque ces arbres atteignent à 1 m du sol une circonférence de 50 cm (5 à 7 ans après le plantage selon les clones), ils sont aptes à être exploités. C'est alors qu'une encoche de saignée est ouverte sur le tronc ; cette blessure est ravivée périodiquement (généralement deux fois par semaine) afin de recueillir le latex d'où sera extrait le caoutchouc.

L'hévéa est devenu le principal producteur de caoutchouc naturel non seulement à cause de la pureté du produit commercial obtenu, mais encore parce que l'arbre « répond » à la saignée. A l'ouverture d'un panneau vierge, le latex qui s'écoule est très épais, instable et coagule très rapidement ; la production des premières saignées est quasi négligeable. Cependant, à la longue, l'arbre semble s'habituer à ce traumatisme répété et, le latex devient plus fluide ; il s'ensuit une augmentation du caoutchouc récolté, l'hévéa est alors en production normale.

Le problème était ici d'étudier les réactions des lutoïdes, au cours du temps, à la blessure répétée que constitue la saignée et d'observer de quelle manière l'accoutumance à ces traumatismes se manifeste au niveau de ces organites.

### MATERIEL ET TECHNIQUE

Dans les expériences décrites plus loin, l'échantillonnage étant relativement faible, nous n'avons fait aucune tentative pour dégager les caractéristiques clonales des hévéas ainsi sélectionnés. L'interprétation a porté essentiellement sur les moyennes des résultats obtenus lors des différentes répétitions, et seules ces moyennes seront mentionnées dans cette étude.

Les mesures ont été effectuées sur les latex de 12 arbres appartenant à trois clones différents (PR 107, Tjirandji 1 et Ong Yem 1). Lors de la mise en saignée ils étaient âgés de 6 ans environ et avaient le diamètre requis à un ou deux centimètres près.

Ces arbres ont été saignés en spirale entière deux fois par semaine (saignée S-J3/J4). Les analyses ont été effectuées dès la première saignée, une saignée sur deux; à la saignée suivante la production en caoutchouc était mesurée. Cette alternance d'analyses du latex et de mesures de production a ensuite été conservée, et l'expérimentation s'est poursuivie ainsi jusqu'à la 26<sup>e</sup> saignée, soit durant 13 semaines. Les déterminations ont porté sur les caractéristiques indiquées ci-après.

— **Activités phosphatase acide libre et totale, activités  $\beta$ -glucosidase, phosphodiesterase et cathepsine totales.**

Ces hydrolases lutoïdiques ont été retenues, car elles sont susceptibles de dégrader les constituants biologiques majeurs (esters phosphoriques, hétérosides et oligosaccharides, lécithine, acides nucléiques et protéines). En outre, la mesure de l'activité phosphatase libre permet de déduire l'indice d'éclatement des lutoïdes (17) qui est défini comme le rapport, en pour cent, de l'activité phosphatase libre sur l'activité phosphatase totale. Ce concept repose sur le postulat que toute l'activité phosphatase acide du latex provient des lutoïdes, ce qui bien entendu n'est pas tout à fait exact. Cependant, comme la part la plus importante de l'activité de cette enzyme est d'origine lutoïdique, ce rapport rend compte, dans une large mesure, du degré d'altération de ces particules.

Ces activités enzymatiques ont été mesurées à pH 5,0 pour la phosphatase, à pH 7,0 pour la  $\beta$ -glucosidase, à pH 6,5 pour la phosphodiesterase et à pH 3,7 pour la cathepsine, suivant des techniques décrites précédemment (10). Elles sont exprimées en  $\mu$ moles de substrat transformé par minute et par ml de latex.

— **L'azote protéique** est dosé sur le latex selon la technique de Pujarnisclé (10).

— **La production en caoutchouc**, exprimée en grammes de caoutchouc sec par saignée, est mesurée après coagulation du latex dans la tasse de saignée; le coagulum est ensuite lavé et crêpé, puis séché jusqu'à poids constant.

— **La teneur en caoutchouc sec du latex**, exprimée en grammes pour cent de latex, est obtenue en prenant les 9/10 de l'extrait sec du latex.

— **La teneur en magnésium du latex** est déterminée à l'aide de l'E.D.T.A. comme agent complexant (18).

— **L'activité biosynthétique du latex** est définie comme égale au rendement, en pour cent, de la transformation de l'acétate  $2\text{-}^{14}\text{C}$  en caoutchouc radioactif; elle représente

la capacité à synthétiser du caoutchouc à partir d'acétate. Cette mesure est effectuée en incubant, pendant 3 heures à 30°C, 5 $\mu$ Ci d'acétate  $2\text{-}^{14}\text{C}$  d'activité spécifique 8,1 mCi/mM dans 1 ml de latex. Le latex est ensuite coagulé, le caoutchouc récupéré est purifié, sa radioactivité est déterminée au compteur Geiger (19).

— **L'indice d'obstruction** (plugging index) a été défini par Milford et col. (20) comme étant le rapport entre la production moyenne de latex des 5 premières minutes et la production totale en millilitres. Cet indice rend compte de la vitesse à laquelle les vaisseaux laticifères s'obstruent sous l'effet de microcoagulats.

**RESULTATS EXPERIMENTAUX**

Les résultats obtenus ont été rassemblés sur les figures 1 à 4. On remarquera que les propriétés des latex présentent des variations d'assez grande amplitude au cours des premières saignées; ces variations semblent ensuite s'amortir et se stabiliser vers la vingtième saignée.

On peut essayer de classer les différentes propriétés étudiées en divers groupes en tenant compte de leurs variations.

— La production, l'azote protéique et l'activité biosynthétique (fig. 1), après une augmentation parfois très importante dans les premières saignées, diminuent pour se stabiliser ensuite à un niveau nettement supérieur à celui de la première saignée.

— La teneur en caoutchouc sec du latex (fig. 2), très importante à la première saignée, diminue régulièrement jusqu'à atteindre un niveau normal. Il en est de même de l'indice d'obstruction, dont la valeur, très élevée au départ, diminue régulièrement pour se stabiliser à une valeur comprise entre 3 et 5 (fig. 2).

— La teneur en magnésium, minimale au départ, augmente rapidement et se stabilise vers la sixième saignée (fig. 2).

— La phosphodiesterase, la phosphatase libre et la phosphatase totale (fig. 3) présentent des activités qui augmentent régulièrement, puis paraissent se stabiliser vers la vingtième saignée à un niveau nettement plus élevé qu'au départ. En outre, comme la phosphatase totale augmente beaucoup plus rapidement que la phosphatase libre, il s'ensuit que l'indice d'éclatement des lutoïdes (fig. 3) diminue au cours des saignées.

— Enfin, la cathepsine et la  $\beta$ -glucosidase donnent des variations assez anarchiques (fig. 4).

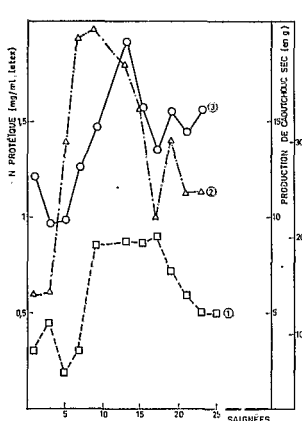


FIG. 1

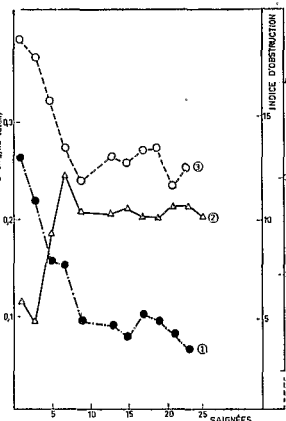


FIG. 2

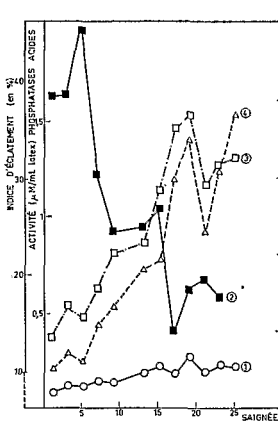


FIG. 3

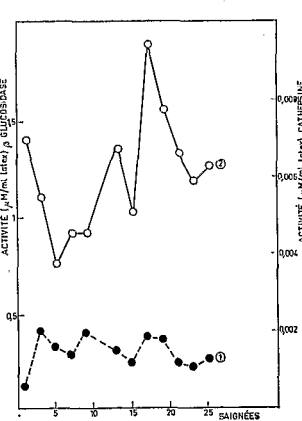


FIG. 4

Variations observées dans les latex obtenus au cours des saignées pratiquées après la mise en exploitation des arbres vierges : Fig. 1. - Activité biosynthétique (1), production de caoutchouc sec (2), azote protéique (3). — Fig. 2. - Indice d'obstruction (1), teneur en magnésium (2), teneur en caoutchouc sec (3). — Fig. 3. - Activité phosphatase acide libre (1), indice d'éclatement des lutoïdes (2), activités phosphodiesterase (3) et phosphatase acide totale (4). — Fig. 4. - Activités cathepsine (1), et  $\beta$ -glucosidase (2).

## DISCUSSION

L'ensemble des observations recueillies lors de la mise en exploitation des « arbres vierges » nous amène à distinguer trois stades correspondant aux différentes réactions de la cellule laticifère vis-à-vis de la saignée.

1° A la première saignée, les caractères étudiés sont à leur niveau le plus bas dans le latex, excepté la teneur en caoutchouc, l'indice d'obstruction et l'indice d'éclatement qui, eux, sont à leur maximum.

Il est logique de penser que, dans ce latex provenant de cellules laticifères jusque-là à l'état de « repos », le métabolisme est à son niveau le plus bas et que les vitesses des réactions doivent être sinon nulles, du moins peu importantes: d'où les faibles valeurs de l'activité biosynthétique et des activités hydrolytiques trouvées dans ce latex. Pour la même raison, il est normal que la concentration en caoutchouc soit très forte car, selon Bonner (21), ce serait elle qui contrôlerait le mécanisme de la biosynthèse du caoutchouc.

2° La saignée crée un déséquilibre dans la cellule laticifère, non seulement parce qu'elle la vide d'une partie de son latex, déclenchant ainsi les processus réactionnels en vue de la régénération de son cytoplasme, mais aussi peut-être par le choc traumatique provoqué par la blessure. Il se produit alors dans le latex:

a) Une très nette synthèse de protéines, de caoutchouc et vraisemblablement de lutoïdes, car l'activité des hydrolases lutoïdiques, plus spécialement de la phosphatase et de la phosphodiesterase, augmente rapidement. En outre, les enzymes conduisant à la formation du caoutchouc doivent être soit activées, soit synthétisées en plus grande quantité car l'activité biosynthétique du latex, de même que la production en caoutchouc, augmentent. Remarquons que l'accroissement de toutes ces activités, assez lent au début, s'accélère pour atteindre son maximum entre la 11<sup>e</sup> et la 15<sup>e</sup> saignée.

b) Une forte déstabilisation des lutoïdes lors des premières saignées. Cette dégradation des lutoïdes est bien provoquée par la saignée, car Ribailier (22, 23), en effectuant des microsaignées sur des arbres vierges (microsaignées pratiquées au moyen de piqûres d'épingle de manière que la blessure soit aussi minime que possible), a constaté que, dans ces conditions, la quantité de lutoïdes dégradés est très faible.

Si l'on raisonne par analogie, la déstabilisation des lutoïdes consécutive au traumatisme provoqué par la saignée ne saurait nous étonner. En effet, il est bien connu que, dans le règne animal, les lysosomes réagissent de cette manière lorsque la cellule subit un traumatisme quelconque (24). Comme la dégradation des lutoïdes entraîne la déstabilisation du latex et la formation de microcoagulats, il s'ensuit que, dans ce cas, l'indice d'obstruction est très élevé.

3° Après être passées par un maximum, la plupart des propriétés mesurées diminuent légèrement, puis se stabilisent aux alentours d'une valeur constante se situant

à un niveau nettement supérieur à celui de la première saignée. Mais, en ce qui concerne la teneur en caoutchouc ainsi que l'indice d'éclatement des lutoïdes et l'indice d'obstruction, on observe une variation inverse.

Le latex atteint ainsi aux alentours de la vingtième saignée, un nouvel état d'équilibre.

Nous sommes ici en présence d'une caractéristique vraiment remarquable de l'hévéa soumis à la saignée. Ce traumatisme, par la rupture d'équilibre qu'il provoque, entraîne une activation des processus métaboliques et des synthèses protéiques, ainsi que la déstabilisation des lutoïdes. Cependant, à la longue, l'arbre semble s'habituer à ce traumatisme répété. Les lutoïdes récupèrent alors leur stabilité, à la suite peut-être d'une modification de leur structure ou de la composition de leur membrane; les processus métaboliques se stabilisent à un niveau nettement supérieur à celui du début, entraînant de ce fait une synthèse accrue du caoutchouc. L'hévéa est alors dans sa phase de production normale.

## Remerciements.

Nous adressons nos remerciements au Commissariat à l'Energie Atomique (C.E.A.), qui nous a gracieusement fourni les éléments marqués nécessaires à cette étude et a mis à notre disposition le matériel de comptage de son antenne de Côte-d'Ivoire installée au Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé.

## Références.

- (1) L.N.S. HOMANS et G.E. VAN GILS, *Proceed. Sec. Rubb. Tech. Conf. Londres 292* (1948).
- (2) J. RUINEN, *Ann. Bogoricensis* 1, 27 (1950).
- (3) J. RUINEN et L.N.S. DE HAAN HOMANS, *Arch. Rubbercult.* 27, 243 (1950).
- (4) Th. G.F. SCHOON et K.L. PHOA, *Arch. Rubbercult.* 33, 195 (1956).
- (5) P.B. DICKENSON, *Proceed. Nat. Rubb. Prod. Res. Assoc. Jubilee Conf. Cambridge*, 52 (1964).
- (6) P.B. DICKENSON, *Nat. Rubb. Conf. Kuala Lumpur, Preprint* (1968).
- (7) B.L. ARCHER, B.G. AUDLEY, E.G. COCKBAIN et G.P. MAC SWEENEY, *Biochem. J.* 89, 565 (1963).
- (8) S. PUJARNISCLE, *C.R. Acad. Sci.* 261, 2127 (1965).
- (9) S. PUJARNISCLE, *C.R. Acad. Sci.* 262, 923 (1966).
- (10) S. PUJARNISCLE, *Phys. Végét.* 6, 27 (1968).
- (11) C. DE DUVE, dans *Subcellular particles*, Hayashi T., éd. The Ronald Press Co., N.Y., 128 (1959).
- (12) S. PUJARNISCLE, *Thèse Doctorat d'Etat (Sc. Nat.)*, Orsay (1969).
- (13) S.W. PAKIANATHAN, S.G. BOATMAN et D.H. TAYSUM, *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 19, 259 (1966).
- (14) W.A. SOUTHERN, *Nat. Rubb. Res. Conf. Kuala Lumpur - Preprint* (1968).
- (15) S. PUJARNISCLE et D. RIBAILLIER, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 43, 226 (1966).
- (16) S. PUJARNISCLE, D. RIBAILLIER et J. D'AUZAC, *Rev. Gén. Caout. Plast.*, à paraître.
- (17) D. RIBAILLIER, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 45, 1395 (1968).
- (18) S. PUJARNISCLE, *Bull. Caout. Série Indochine* 16, 41 (1957).
- (19) J. D'AUZAC, S. PUJARNISCLE, P. FOURNIER et TUONG CHI CUONG, *Ann. Fac. Sci. Saigon* 97 (1962).
- (20) G.F.J. MILFORD, E.C. PAARDEKOOPER et H.O. CHAI YEE, *Nat. Rubb. Res. Conf. Kuala Lumpur - Preprint* (1968).
- (21) J. BONNER, *Fortschritte der Chemie von organischer Naturstoffe* (1970), Zechmeister L., éd. Springer-Verlag, p. 1-16 (1963).
- (22) D. RIBAILLIER, *Diplôme Etudes Supérieures, Faculté des Sciences Abidjan* (1970).
- (23) D. RIBAILLIER, *Rev. Gén. Caout. Plast.*, sous presse.
- (24) C. DE DUVE et R. WATTIAUX, *Ann. Rev. Physiol.* 28, 435-492 (1966).

