

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

II. - ÉVOLUTION DES HYDROLASES LUTOÏDIQUES ET DE QUELQUES PROPRIÉTÉS DU LATEX AU COURS DE LA SAIGNÉE *

Serge PUJARNISCLE

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

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)

et

Jean d'AUZAC

Laboratoire de Physiologie Végétale
Faculté des Sciences
Abidjan (Côte d'Ivoire)

L'évolution de différents facteurs caractérisant le latex: azote protéique, activités hydrolytiques diverses, activité biosynthétique, indice d'éclatement des lutoïdes, ainsi que la variation de la vitesse d'écoulement, sont étudiés tout au long de la saignée. Il apparaît que la composition organominérale, les propriétés colloïdales et biochimiques du latex varient continuellement durant cette période. Ces résultats sont discutés dans le cadre de la physiologie de l'écoulement et font ressortir le rôle essentiel que sont susceptibles de jouer les lutoïdes dans les mécanismes de régulation de la production du latex.

Nous avons précédemment (1) étudié l'évolution des hydrolases lutoïdiques et de quelques propriétés du latex lors de la mise en saignée d'arbres vierges. Dans cet article, nous rapporterons les résultats obtenus dans une étude analogue effectuée sur les différentes fractions recueillies dans le temps, lors de l'écoulement du latex.

En effet, Pakianathan et coll. (2), puis Southorn (3), ont montré combien les lutoïdes sont susceptibles d'interférer sur l'écoulement du latex. D'après ces auteurs l'action des lutoïdes résulte, soit de leur lyse conduisant à la formation de microcoagulats, soit plus simplement d'une agglomération en particules plus volumineuses. Ces deux modifications sont susceptibles de conduire à une obturation plus rapide et complète des laticifères. Nous avons cherché ici à suivre la variation des propriétés des lutoïdes et du latex au cours de l'écoulement, en vue d'acquiescer ainsi une meilleure compréhension du rôle de ces organites dans le latex.

MATERIEL ET TECHNIQUES

L'expérimentation a porté sur six hévéas greffés appartenant aux clones Tjir 1, PR 107, LCB 1320 et Djas 1.

Des fractions successives de 20 ml de latex ont été récupérées après la saignée.

Les paramètres quantitatifs suivants ont été déterminés:

1. Production.
2. Teneur en caoutchouc.
3. Activité biosynthétique.
4. Azote protéique.
5. Teneur en magnésium.
6. Activités hydrolytiques: phosphatases acide libre et totale, β -glucosidase, phosphodiesterase et cathepsine totale.
7. Indice d'éclatement.

La plupart des techniques employées ont été décrites précédemment (1).

(*) La première partie de cette étude a paru dans notre numéro de septembre, p. 1001.

En outre, on a aussi mesuré:

8. La distribution de la phosphatase dans un gradient après centrifugation isopycnique du latex.
9. La vitesse d'écoulement du latex. Exprimée en ml/min, c'est la vitesse moyenne d'écoulement calculée à partir du temps nécessaire pour récupérer une fraction d'un volume donné du latex.
10. La quantité de culot. Ce paramètre est plus ou moins lié à l'état d'intégrité des lutoïdes (4). Par centrifugation à 50 000 g pendant 90 minutes, les lutoïdes, particules les plus lourdes du latex, sédimentent. Lorsqu'ils sont lysés, ils s'agglutinent avec les particules de caoutchouc, et prennent alors une densité plus faible que celle du sérum du latex. Cette quantité de culot rend compte, en première approximation, de la quantité des lutoïdes intacts présents dans le latex. En effet, les lutoïdes, s'ils sont quantitativement les principaux constituants du sédiment, n'en sont pas les seuls. En outre, les membranes lutoïdiques peuvent aussi sédimenter. Cependant ce test, bien qu'imparfait, est un moyen commode et simple pour se rendre compte de l'état d'intégrité des lutoïdes. Après centrifugation, le culot est récupéré, séché à poids constant et pesé. Sa quantité est exprimée en mg/ml de latex initial.

Les déterminations des paramètres 3, 6 et 9 sont effectuées immédiatement sur place; celles des autres paramètres le sont au laboratoire environ 3 h après la saignée (le latex ayant été, entre temps, conservé à une température comprise entre 0 et +5°C).

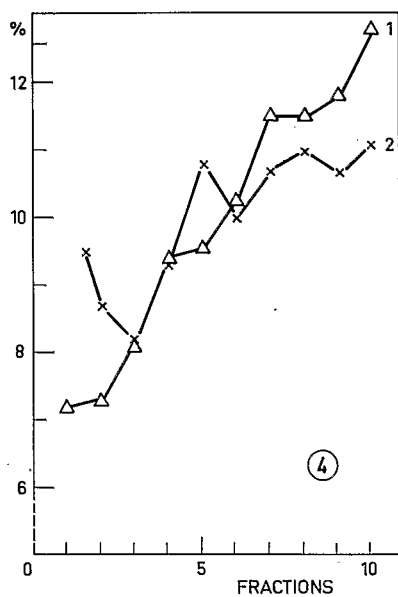
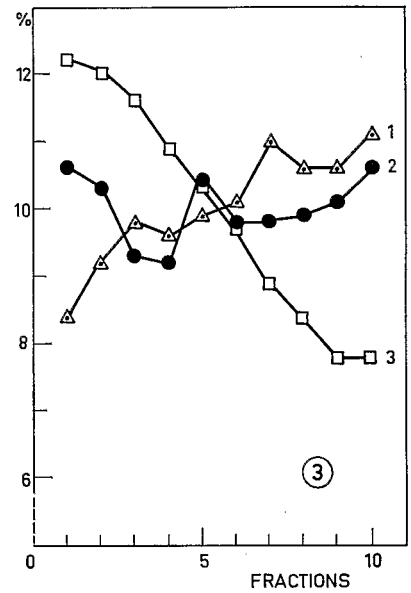
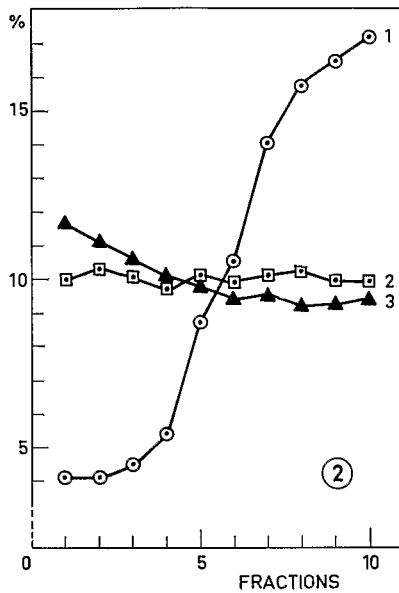
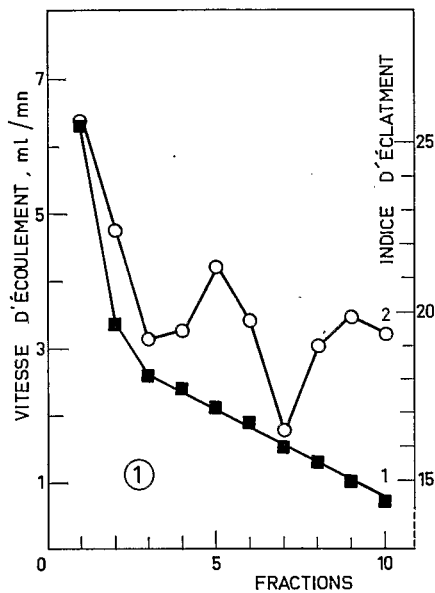
Présentation des résultats.

Pour chaque arbre, le nombre de fractions recueillies n'étant pas le même, en raison des différences de production, il était difficile d'établir une moyenne des propriétés étudiées dans le cas de chaque fraction. Cette difficulté a été tournée en divisant arbitrairement la production globale du latex en 10 fractions fictives. Pour un arbre donné le caractère étudié est exprimé, dans le cas de chaque fraction, en pour cent de la valeur globale trouvée expérimentalement dans le volume total de latex recueilli lors de la saignée.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Les résultats sont illustrés par les graphiques des figures 1 à 5, où chaque point représente la moyenne des pourcentages obtenus dans les séries de mesures effectuées sur les 6 arbres étudiés, sauf en ce qui concerne l'indice d'éclatement des lutoïdes et la vitesse d'écoulement du latex. Le tableau I fournit les résultats moyens se rapportant au volume total du latex obtenu au cours de la saignée.

15 AOUT 1971
O. R. S. T. O. M1317



Variations de plusieurs paramètres mesurés sur le latex provenant des diverses fractions obtenues au cours de la saignée.

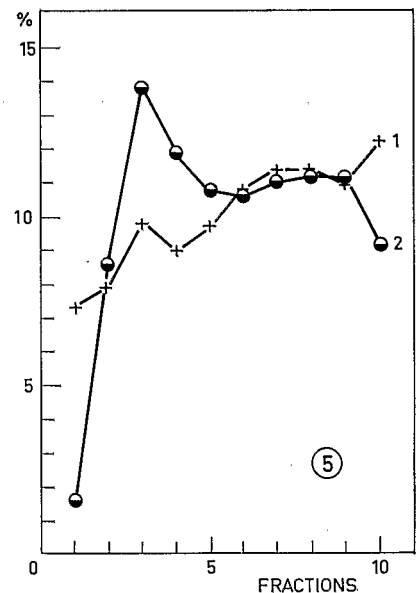
Fig. 1 : 1. Vitesse d'écoulement.
2. Indice d'éclatement.

Fig. 2 : 1. Activité biosynthétique.
2. Azote protéique.
3. Teneur en caoutchouc.

Fig. 3 : 1. Phosphatase totale.
2. Phosphatase libre.
3. Teneur en Mg.

Fig. 4 : 1. β -glucosidase.
2. Phosphodiesterase.

Fig. 5 : 1. Cathepsine.
2. Quantité de culot.



L'ensemble de ces résultats entraîne les remarques constatées.

- La vitesse d'écoulement (figure 1) diminue très rapidement au cours du temps, ce qui a été maintes fois constaté ;
- La teneur en caoutchouc sec (fig. 2) diminue régulièrement ; elle baisse de 25 % environ du début à la fin de la saignée, entraînant ainsi une chute de près

de 10 points. Cette valeur est assez considérable car les variations de la teneur en caoutchouc du latex sont généralement plus faibles.

- La teneur en magnésium (fig. 3) diminue régulièrement et de façon importante du début à la fin de la saignée (de 12,2 % à 7,8 %).
- L'activité biosynthétique (fig. 2), faible dans les 3 ou 4 premières fractions, augmente ensuite dans de fortes proportions. Ce résultat est assez remarquable, car d'Auzac, dans une expérience similaire effectuée au Vietnam, était arrivé à une conclusion diamétralement opposée.
- L'azote protéique (fig. 2) ne varie pratiquement pas.
- La phosphatase et la phosphodiesterase totales (fig. 3 et 4) voient leur activité croître, mais dans des proportions moindres que la β -glucosidase et la cathepsine. De son côté, la phosphatase libre, après une baisse d'activité assez importante dans les quatre premières fractions, augmente ensuite pour atteindre à nouveau sa valeur initiale dans la première fraction. Dans le même temps, la phosphatase totale augmente régulièrement ; il s'ensuit que l'indice d'éclatement des lutoïdes, fort au début, diminue pour se stabiliser ensuite (fig. 1). On assiste donc à une augmentation de la stabilité des lutoïdes au cours de la saignée.

TABLEAU I

RESULTATS MOYENS DES DIFFÉRENTES MESURES EFFECTUÉES AU COURS DE LA SAIGNÉE DES HEVEAS

Phosphatase totale	2,732 μ M de PNP libérées/mn/ml de latex.
Phosphatase libre	0,556 μ M de PNP libérées/mn/ml de latex.
β -glucosidase totale	1,501 μ M de PNP libérées/mn/ml de latex.
Phosphodiesterase totale ..	0,098 μ M de PNP libérées/mn/ml de latex.
Cathepsine totale	0,011 mg de tyrosine libérées/mn/ml de latex.
Azote protéique	1,591 mg d'azote/ml de latex.
Magnésium	548 μ g/ml de latex.
Teneur en caoutchouc sec ..	38,1 g de caoutchouc pour 100 g de latex.
Activité biosynthétique	11,0 %.
Quantité de culot	11,2 mg par millilitre de latex.

Ce résultat se retrouve d'ailleurs lorsque l'on considère les variations de la quantité de culot (fig. 5), ainsi que les diagrammes de distribution de la phosphatase acide après centrifugation isopycnique des latex de chacune des fractions recueillies au cours de la saignée (fig. 6). L'analyse de ces distributions entraîne quelques remarques intéressantes sur le comportement des lutoïdes au cours de la saignée.

Sur le diagramme 1 de la figure 6, il n'apparaît aucun pic médian qui correspondrait aux lutoïdes en bon état (7). Toute l'activité phosphate se localise dans le culot (aliquote 0) et surtout dans le sérum (aliquotes 10, 11 et 12), ainsi que dans le caoutchouc (aliquote 13). Tous les lutoïdes sont donc, soit agglutinés, soit lysés (respectivement 15 et 70 %, d'après les aires des pics correspondants).

A partir du diagramme 2, une faible activité phosphatase acide commence à apparaître dans l'aliquote 6. Elle devient de plus en plus importante par la suite, alors que les activités localisées dans le surnageant et dans le sédiment tendent à diminuer. Les lutoïdes deviennent donc de plus en plus stables et le pourcentage des particules agglutinées ou lysées a tendance à diminuer.

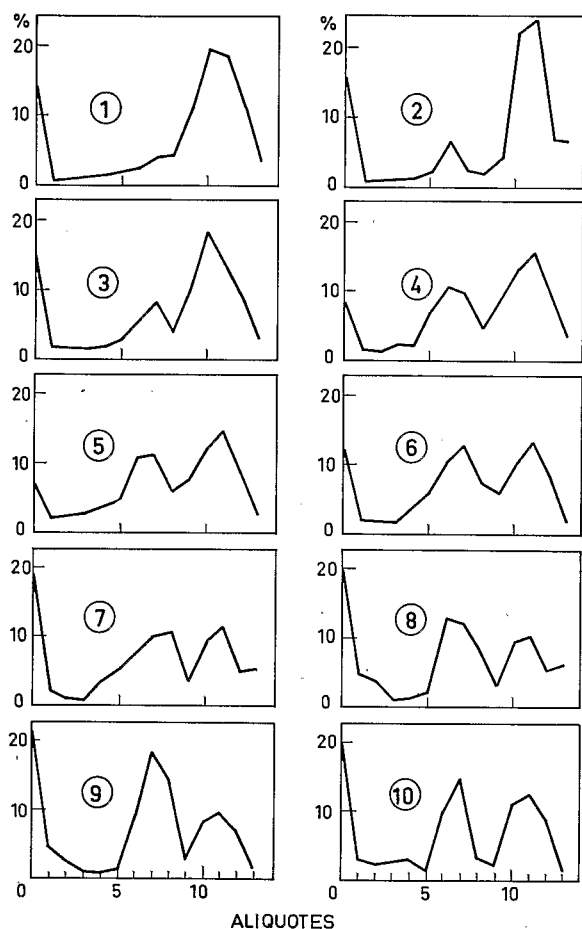


FIG. 6. — Répartition de la phosphatase acide le long d'un gradient après centrifugation isopycnique des latex provenant des diverses fractions obtenues au cours de la saignée.

En ordonnées : pourcentages de l'activité totale correspondant à chaque aliquote.

En abscisses : numéros des aliquotes obtenues, après percée du tube de centrifugation, dans l'ordre décroissant des densités. Aliquote 0 : sédiment se trouvant au fond du tube de centrifugation. Aliquote 13 : couche de caoutchouc au sommet du tube de centrifugation.

La numérotation des graphiques de 1 à 10 correspond aux fractions successives de latex récoltées au cours de la saignée.

Cependant, à partir des diagrammes 6 et 7, un nouveau phénomène apparaît. Alors que l'activité phosphatase localisée dans le sérum et le caoutchouc diminue régulièrement, à partir de la sixième fraction recueillie pendant l'écoulement du latex, cette activité localisée dans le sédiment augmente rapidement pour atteindre un taux voisin de 25 %. Les lutoïdes, s'ils sont devenus plus stables, ont vers la fin de l'écoulement du latex une très nette tendance à s'agglutiner. Un phénomène semblable avait été observé précédemment par Southorn (3). Cette forte tendance des lutoïdes à l'agglutination doit vraisemblablement refléter certaines modifications dans la structure et les propriétés de la membrane de ces organites vers la fin de l'écoulement.

DISCUSSION

Il est évident que le latex récolté au cours de la saignée est en fait un mélange constitué par :

- du latex issu de zones de plus en plus éloignées de l'encoche de saignée (8) ;
- du latex plus ou moins dilué à la suite de l'appel d'eau provoqué par une augmentation de la force de succion liée elle-même à la chute de pression de turgescence consécutive à la saignée (9) ;
- du latex qui a pu éventuellement être synthétisé « de novo » à la suite de la rupture d'équilibre provoquée par la saignée.

On conçoit que, dans ces conditions, il puisse s'ensuivre tout au long de l'écoulement une variation continue de la composition organo-minérale du latex comme des propriétés des lutoïdes.

Alors que le taux d'azote protéique reste pratiquement constant pendant tout l'écoulement, les hydrolases lutoïdiques voient leur activité croître dans des proportions différentes suivant leur nature. Cet accroissement général du taux d'hydrolase pourrait traduire soit une augmentation régulière du nombre des lutoïdes, soit une variation dans leur composition enzymatique. La courbe de la figure 5 montrant la variation du taux de culot est davantage en faveur de cette deuxième possibilité. L'enrichissement plus marqué en β -glucosidase et en cathepsine par rapport à la phosphatase et la phosphodiesterase est également en accord avec l'hypothèse d'une variation de l'éventail des enzymes hydrolytiques en fonction de l'origine des lutoïdes. Les lutoïdes issus de zones de plus en plus éloignées de l'encoche de saignée seraient donc plus riches en hydrolases.

*

En outre, on a pu constater, ici encore, que les lutoïdes des premières fractions sont fortement dégradés. Ces résultats confirment ceux de Pakianathan et coll. (2) et de Ribailhier (10, 11).

Pakianathan (2) attribue cette déstabilisation en début de saignée au fait que, celle-ci provoquant une chute de la pression de turgescence, il s'ensuivrait une rapide entrée d'eau et une brusque dilution du latex ayant pour conséquence le gonflement et l'éclatement des lutoïdes. Cependant, il n'a jamais pu être constaté expérimentalement de pressions osmotiques inférieures à 350 milliosmoles. Or, « in vitro », les lutoïdes restent parfaitement stables à cette pression osmotique (7).

De son côté, Southorn (3) a pu montrer qu'une part de la dégradation des lutoïdes des premières fractions est vraisemblablement due aux forces de cisaillement consécutives à un gradient de pression élevé en début de saignée à l'extrémité sectionnée des laticifères.

Enfin, pour expliquer cette instabilité, Lim et coll. (12) et Southorn (3) attirent l'attention sur un troisième facteur qui serait la chute de potentiel électrique se produisant dans les laticifères lors de la saignée de l'hévéa. Cette

chute de potentiel serait susceptible de dépolari- ser la membrane des lutoïdes et les rendrait ainsi plus sensibles à la déstabilisation.

✱

Il est remarquable de constater que, dès le début de la saignée, se trouve réunie la majorité des facteurs, qui, en toute logique, devraient provoquer l'arrêt de l'écoulement du latex, à savoir :

- taux de caoutchouc relativement élevé rendant le latex plus visqueux et conduisant à un écoulement difficile ;
- lutoïdes fortement déstabilisés (choc osmotique, cisaillement important, dépolari- sation de la membrane) ; l'éclatement des lutoïdes entraîne alors la formation de microcoagulats susceptibles d'obstruer les vaisseaux laticifères ;
- teneur maximale en Mg favorable, d'une part, à la déstabilisation de la suspension colloïdale qu'est le latex et, d'autre part, à celle des lutoïdes (4).

Il faut ajouter à cela les résultats récents de Ribail- lier (10-11) montrant la perturbation dans l'écoulement provoquée par la rencontre au niveau de l'encoche des deux flots de latex issus des panneaux haut et bas. Ces perturbations sont encore aggravées par le fait que les premières fractions de latex issues de l'écorce en voie de régénération immédiatement supérieure à l'encoche sont particulièrement instables (10-11).

Lorsque la conjonction de ces différents facteurs est suf- fisamment forte, il s'ensuit effectivement un arrêt rapide de l'écoulement. L'indice d'obstruction défini par Mil- ford (13) rend parfaitement compte, au moins en première approximation, de la conjonction des phénomènes condui- sant à une cessation rapide du flot de latex.

Dans le cas contraire, on peut penser, comme cela a été suggéré par ailleurs (10-11), que la forte pression régnant initialement dans les laticifères est efficace pour expulser les microcoagulats qui ont pu se former et lever ainsi le premier obstacle à l'écoulement.

Dans un deuxième temps, le choc osmotique principal étant dépassé, une vitesse d'écoulement réduite, des forces de cisaillement plus faibles et des lutoïdes plus stables seraient des facteurs favorables à la prolongation de l'écoulement.

En conséquence, s'il apparaît immédiatement des raisons valables pour que l'écoulement du latex cesse rapidement, peu après le coup de gouge de la saignée, les causes de cet arrêt plusieurs heures après sont plus difficiles à discerner. On peut se demander si la faible remontée de l'activité phosphatase libre et la légère baisse de la quantité de culot en fin d'écoulement (fig. 3 et 5) sont suffisantes pour expliquer l'arrêt de l'écoulement. Nous serions portés à accorder une certaine importance au fait que, en fin d'écoulement, 25 % de l'activité phosphatase se trouve dans des lutoïdes agglutinés, rassemblés dans le fond des tubes ayant permis les séparations par cen- trifugation isopycnique (fig. 6). Ne peut-on se demander si l'arrêt en fin de saignée ne serait pas dû davantage à l'obturation des laticifères par des agglomérats de lutoïdes plutôt que par des microcoagulats résultant de l'éclatement des lutoïdes ?

Si l'on examine maintenant la question d'un point de vue plus métabolique, on remarquera que l'activité biosyn- thétique du latex en fonction de l'écoulement est en complète contradiction avec les résultats obtenus précé- demment par d'Auzac au Viet-Nam (5-6). Il apparaissait en l'occurrence une chute marquée de l'activité biosynthé- tique, comme de la disponibilité en phosphore énergétique, au cours de l'écoulement. Néanmoins, les résultats pré- sentés ici sont cohérents et parfaitement logiques, en ce sens que, par exemple, l'activité biosynthétique du latex est meilleure lorsque les lutoïdes sont plus stables. En outre, l'augmentation des activités hydrolytiques des

lutoïdes, lorsque ces derniers sont stables et que leurs enzymes sont bien séparées du reste du latex doit entraîner un meilleur renouvellement des métabolites de la cellule et, par suite, un accroissement de l'activité de synthèse.

Il est probable que l'âge des arbres utilisés, beaucoup plus jeunes en Côte d'Ivoire qu'au Viet-Nam, est, avec cer- tains facteurs écologiques, responsable des divergences constatées dans la variation de l'activité biosynthétique au cours de l'écoulement.

On rappellera cependant que, selon Resing (14), de nombreuses mesures effectuées sur des latex d'arbres du Cambodge ont montré que l'importance de la fraction lutoïdique exprimée en pour cent du latex, ou plus exac- tement de culot, diminue au cours de l'écoulement. Cette observation va dans le sens de celle de d'Auzac (5-6) et ces divergences mériteraient sans doute d'être approfondies.

✱

En conclusion de cette expérimentation, il apparaît clai- rement que, tout au long de la saignée, la composition organo-minérale et les propriétés colloïdales et biochi- miques du latex varient continuellement. Outre les arte- facts causés par la saignée, la dilution et une certaine déstabilisation étant les plus importants, il faut voir la cause de cette variabilité dans l'origine même des latex. Les premiers millilitres récoltés correspondent au latex synthétisé dans l'aire activée définie par Lustinec, tandis que les suivants proviennent de l'aire d'écoulement net- tement plus éloignée de l'encoche (8). Si l'on admet avec cet auteur qu'environ 1/3 du latex recueilli provient de la partie du panneau supérieure à l'encoche contre 2/3 pour la partie inférieure et si l'on se rappelle les différences existant entre les compositions et entre les propriétés des latex issus des panneaux haut et bas (10, 11, 15, 16), on conçoit le caractère relatif des valeurs obtenues par ana- lyse globale du latex recueilli sur l'encoche ainsi que le caractère aléatoire de la notion d'homogénéité d'un lot de latex.

D'un point de vue pratique, afin d'étudier les propriétés enzymatiques du latex, il est nécessaire que les lutoïdes soient stables. Pour ce faire, il est indispensable d'éli- miner les premières et les dernières fractions de latex recueillies au cours de la saignée : après élimination des 20 à 30 premiers millilitres, on récolte les 30 millilitres suivants.

CONCLUSIONS

Les observations qui ont pu être faites au cours de cette expérience et de celle décrite précédemment (1) permet- tent de dégager quelques précisions concernant les pro- priétés des lutoïdes.

On peut tout d'abord remarquer que ces organites ne forment pas un groupe de particules homogènes, en ce sens que leurs propriétés physiques (stabilité, tendance à l'agglutination, etc.) et biochimiques (activités enzyma- tiques) varient non seulement d'un arbre à l'autre, ou d'une saignée à l'autre, mais encore au cours d'une même saignée du fait des origines différentes du latex récolté durant l'écoulement. Etant donné que l'on sait peu de choses concernant les fonctions de ces particules, ces variations sont assez difficilement interprétables. Cepen- dant, en faisant appel aux connaissances acquises dans le domaine des lysosomes de la cellule animale (17) et en raisonnant par analogie, on peut supposer que les varia- tions dans les propriétés des lutoïdes reflètent les chan- gements du métabolisme de la cellule laticifère, cette dernière synthétisant des lutoïdes dont l'activité serait adaptée à ses besoins du moment.

— L'action de ces organites sur la stabilité colloïdale et l'écoulement du latex dans la deuxième expérience a été discutée plus haut. Dans la première expérience (1), la courbe de production de caoutchouc au cours des diffé- rentes saignées et celle de l'indice d'éclatement des

lutoïdes varient en sens inverses. En outre, l'indice d'obstruction qui rend compte de la régularité et de la durée d'écoulement du latex varie dans le même sens que l'indice d'éclatement des lutoïdes. Cela confirmerait la relation de cause à effet entre la stabilité des lutoïdes et la productivité de l'hévéa entrevue précédemment (18).

— Dans ces deux expériences, il existe une assez bonne corrélation entre l'inverse de l'indice d'éclatement des lutoïdes et l'activité biosynthétique du latex, confirmant ce qui avait été trouvé antérieurement (18). Ce résultat paraît d'ailleurs logique. On conçoit parfaitement que la libération des hydrolases lutoïdiques dans le latex soit susceptible d'entraîner l'arrêt ou le ralentissement de toutes les réactions anaboliques. Quand on sait, par exemple, l'importance des composés intermédiaires phosphorylés dans la suite des réactions conduisant à la synthèse du polyisoprène, on comprend que la libération de la phosphatase, particulièrement active dans les lutoïdes, puisse amener de fortes perturbations dans la formation du caoutchouc. En outre, comme il a été montré par ailleurs qu'il existe une corrélation directe entre l'activité biosynthétique du latex et la productivité de l'hévéa (19), il est logique de conclure que les lutoïdes peuvent intervenir par le second mécanisme sur cette productivité.

— Les productions et les activités biosynthétiques élevées ne se rencontrent donc que pour les latex à lutoïdes stables, mais faut-il encore que ces lutoïdes présentent de fortes activités hydrolytiques. Cela se conçoit d'ailleurs si l'on veut bien admettre que l'activité de ces organites reflète, en quelque sorte, le métabolisme de la cellule. Des lutoïdes très actifs entraîneraient un meilleur renouvellement des composés cellulaires, d'où un métabolisme plus intense conduisant ainsi à une synthèse de caoutchouc plus active.

**

En résumé, les caractères nouveaux des lutoïdes qui ressortent de ces deux expériences sont donc :

— hétérogénéité de ces organites quant à certaines de leurs propriétés physiques et biochimiques, liées à la variation continue de l'origine du latex récolté durant la saignée ;

— corrélation positive entre l'intensité de leur activité hydrolytique (admise comme correspondant à leur

concentration dans les latex) et la capacité de biosynthèse du caoutchouc ;

— corrélation négative entre la dégradation des lutoïdes et la biosynthèse du caoutchouc d'une part, et l'écoulement du latex d'autre part, la libération du contenu lutoïdique entraînant la déstabilisation et la coagulation des particules de caoutchouc, ainsi que l'inhibition des séquences réactionnelles conduisant à la synthèse du polyisoprène.

Ainsi les lutoïdes seraient susceptibles de jouer un rôle essentiel dans les mécanismes de régulation de la production en caoutchouc de l'hévéa.

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 qui a mis à notre disposition le matériel de comptage de son antenne de Côte d'Ivoire installé au centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé.

Références.

- (1) S. PUJARNISCLE et D. RIBAILLIER, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 47, 1001 (1970).
- (2) S.W. PAKIANATHAN, S.C. BOATMAN et D.H. TAYSUM, *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 19, 259 (1966).
- (3) W.A. SOUTHORN, *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 21, 274 (1969).
- (4) D. RIBAILLIER, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 45, 1395 (1968).
- (5) J. D'AUZAC, deuxième thèse, Paris (1965).
- (6) J. D'AUZAC, *C.R. Acad. Sci.* 258, 2925 (1964).
- (7) S. PUJARNISCLE, Thèse doctorat, Orsay n° AO-3379 (1969).
- (8) J. LUSTINEC, CHAI KIM CHUM et W.L. RESING, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 43, 1343 (1966).
- (9) B.R. BUTTERY et S.G. BOATMAN, *J. Exptl. Botany* 17, 283 (1966).
- (10) D. RIBAILLIER, Diplôme Etudes supérieures, Faculté des Sciences Abidjan (1970).
- (11) D. RIBAILLIER, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 47, 305 (1970).
- (12) C.M. LIM, W.A. SOUTHORN, J.B. GOMEZ et E. YIP, *J. Rubb. Res. Inst. Malaya* 21, 524 (1969).
- (13) G.F.J. MILFORD, E.C. PAARDEKOOPER et H.O. CHAI YEE, *Nat. Rubb. Res. Conf. Kuala Lumpur*, Preprint (1968).
- (14) W.L. RESING, Communication privée I.R.C.C. (1966).
- (15) E.R. BEAUFILS, Thèse d'ingénieur-docteur Paris (1961).
- (16) J. LUSTINEC et W.L. RESING, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 44, 345 (1967).
- (17) C. DE DUVE et R. WATTIAUX, *Ann. Rev. Physiol.* 28, 435 (1966).
- (18) S. PUJARNISCLE et D. RIBAILLIER, *Rev. Gén. Caout. Plast.* 43, 226 (1966).
- (19) J. D'AUZAC et S. PUJARNISCLE, *C.R. Acad. Sci.* 257, 299 (1963).