

1 - 2 - 5
**Phospholipides et acides gras de la membrane des lutoïdes du latex
 d'*Hevea brasiliensis***

J. Dupont

Laboratoire de Biologie végétale IV, Université Pierre et Marie Curie

Lutoid membrane

Lutoids were separated by centrifuging on a discontinuous saccharose gradient. The phospholipids in their membranes were analysed. They consist essentially of phosphatidic acid, about 80%, and of two other unidentified phospholipids. No traces could be found in this planting material of phosphatidyl ethanolamine or phosphatidyl choline, which, however, are present in the membranes surrounding the particles of rubber in the same samples of latex.

The nature of the fatty acids which esterify the phosphatide acid was investigated. The absence of linolenic acid was noted (C 18:3).

★

L'étude de la nature des complexes lipoprotéiques des membranes cellulaires constitue un préalable nécessaire à la connaissance de leur rôle dans la cellule. Cette remarque s'applique parfaitement bien au cas des lutoïdes, particules monomembranaires du latex, comparables aux lysosomes, dont le rôle dans la cellule laticifère et, plus particulièrement, dans la synthèse isoprénique, est encore loin d'être élucidé (1).

Nous avons utilisé pour cette étude le latex d'*Hevea* provenant du clone PR 107. Les lutoïdes ont été séparés du latex par centrifugation en gradient de densité de saccharose. Celui-ci est constitué de trois couches de saccharose de densité 1,10, 1,15 et 1,23. Après centrifugation à 35.000 g durant 180 minutes, deux fractions de lutoïdes sont obtenues aux interfaces 1,10/1,15 et 1,15/1,23. La fraction arrêtée par la couche de saccharose de densité 1,23, plus riche en lutoïdes que la fraction arrêtée par la couche de saccharose de densité 1,15, est prélevée et analysée. Les membranes des lutoïdes sont obtenues en soumettant ceux-ci à un choc osmotique. Les phospholipides sont extraits des membranes après fixation du matériel par l'éthanol bouillant.

Les membranes des lutoïdes présentent des teneurs en phospholipides comparables à celles rencontrées dans d'autres membranes sub-cellulaires du règne végétal (370 µg/mg protéines) (2). Néanmoins, la teneur en phospholipides des lutoïdes

(1) S. PUJARNISCLE - *Mémoire ORSTOM*, 48, (1971).

(2) F. MOREAU, J. DUPONT et C. LANCE - *Biochim. Biophys. Acta*, 345, 294-304, (1974).

arrêtés par le saccharose de densité 1,15 est plus faible que celle mesurée au niveau des lutoïdes arrêtés par la couche de saccharose de densité 1,23. Ces différentes teneurs illustrent sur le plan biochimique l'hétérogénéité des lutoïdes, hétérogénéité peut-être due à différents stades d'évolution de ces particules. Une telle observation a par ailleurs récemment été rapportée par Hallé (3) lors de ses études cytologiques.

Quantitativement, la membrane lutoïdique se révèle très riche en acide phosphatidique (80% de la masse totale des phospholipides). Les 20% restant sont représentés par deux phospholipides qui n'ont pu être identifiés par suite de leurs trop faibles teneurs (figure 1). En outre, la membrane lutoïdique est totalement dépourvue de phosphatidyl choline et de phosphatidyl éthanolamine, phospholipides azotés généralement bien représentés dans le règne végétal.



Figure 1

Chromatographie sur couche mince de gel de silice (Silica gel 60, Merck)
des phospholipides extraits des membranes de lutoïdes et de particules de caoutchouc du latex
d'*Hevea brasiliensis*

Solvant : chloroforme-méthanol-eau (65:25:4 ; v/v/v)

O : origine ; FS : front du solvant ; L : lutoïdes ; R : membranes des particules de caoutchouc ;

PC : témoin de phosphatidyl choline ; PE : témoin de phosphatidyl éthanolamine ;

PA : témoin d'acide phosphatidique ; DPG : témoin de diphosphatidyl glycérol

La présence d'acide phosphatidique en quantités importantes est souvent l'indice de l'action d'une phospholipase de type D qui hydrolyse les phospholipides membranaires. Pour lever cet obstacle, la plus grande rapidité et le plus grand

(3) F. HALLÉ - Communication personnelle, (1975).

soin ont été apportés à la collection du latex, à l'isolement des lutoïdes, à la fixation des membranes et à l'extraction des phospholipides. Toutes ces opérations ont été réalisées en Afrique, sur les lieux de collection du latex, à l'exception des dosages de lipides.

L'éventualité d'un tel artefact semble être écartée à l'examen de la figure 1 où nous avons comparativement chromatographié les phospholipides extraits de la membrane périphérique des particules de caoutchouc préparées dans les mêmes conditions que les lutoïdes. L'examen de cette figure montre que la phosphatidyl choline et la phosphatidyl éthanolamine sont bien représentées dans ces membranes, alors que l'acide phosphatidique en est absent. Il paraît donc possible d'affirmer que l'acide phosphatidique présent dans la membrane du lutoïde ne peut provenir de la dégradation éventuelle de ces phospholipides azotés par la phospholipase D, car les deux types de particules baignent dans le même sérum cytoplasmique du latex.

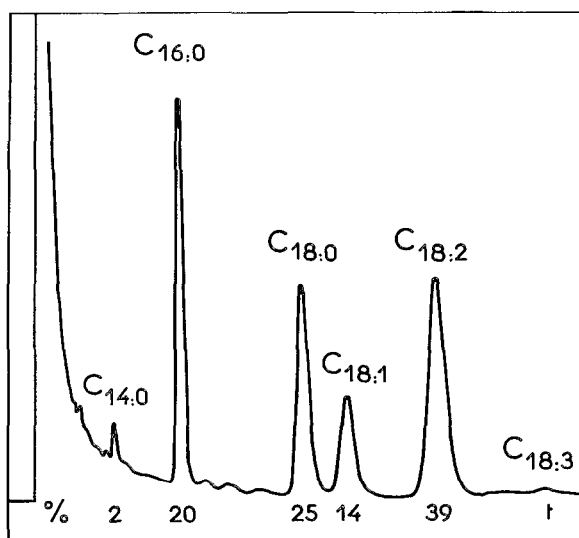


Figure 2

Chromatographie en phase gazeuse

des acides gras de l'acide phosphatidique extrait des membranes de lutoïdes.

Les % de chaque acide gras sont exprimés par rapport aux acides gras totaux. t : traces (< 1%). Les esters méthyliques des acides gras sont obtenus par méthanolyse dans le mélange acide sulfurique-méthanol (2,5:100 ; v/v) durant 90 minutes à 83°C. Les esters méthyliques sont ensuite extraits par l'éther de pétrole et analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Varian Aerograph (série 1700) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. Les caractéristiques de la colonne sont les suivantes : 1,50 m de longueur et 3 mm de diamètre. Le support de la colonne est du Varaport 30 imprégné de 15% de diéthylène glycolsuccinate. La température de la colonne est de 180°C. La vitesse du gaz vecteur (azote) est de 12 ml/mn. Les temps de rétention des différents acides gras sont comparés à ceux obtenus à partir de témoins purs provenant du commerce (Sigma).

La nature des acides gras estérifiant l'acide phosphatidique présent dans la membrane lutoïdique a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse (figure 2). On peut noter que les acides gras saturés (palmitique $C_{16:0}$ et stéarique $C_{18:0}$) et insaturés (oléique $C_{18:1}$ et linoléique $C_{18:2}$) sont présents en proportions analogues. On note l'absence d'acide linoléique ($C_{18:3}$).

Il est possible de replacer les résultats obtenus en fonction du contexte physiologique dans lequel se trouvent les lutoïdes. La richesse des membranes lutoïdiques en acide phosphatidique permet, en effet, de rendre compte d'un certain nombre de propriétés connues.

D'une part, la grande teneur en acide phosphatidique confère aux membranes lutoïdiques une charge électro-négative très élevée qui permet ainsi aux lutoïdes de rester en suspension dans le latex à l'intérieur des vaisseaux laticifères. La neutralisation partielle de cette charge est peut-être à l'origine du processus de coagulation du latex.

D'autre part, l'accumulation de certains cations dans le sérum lutoïdique peut être facilitée par la présence de ce phospholipide acide, comme cela a été suggéré par ailleurs (4).

Enfin, la teneur relativement élevée en acides gras saturés (palmitique et stéarique) de la membrane lutoïdique semble comparable à celle des membranes externes de mitochondries végétales ou des enveloppes de chloroplastes (5). Ce fait peut expliquer la relative rigidité de la membrane des lutoïdes observée par Gomez et Southorn (6) lors de leurs observations en microscopie électronique. D'autre part, la grande fragilité des lutoïdes lorsqu'ils sont placés en milieu hypotonique trouve peut-être aussi son explication dans un manque de fluidité de la membrane, dû à une trop grande richesse en acides gras saturés.

★

-
- (4) L. SHLATZ et G.V. MARINETTI - *Biochim. Biophys. Acta*, 290, 70-83, (1972).
 (5) R. DOUCE, R.B. HOLTZ et A.A. BENSON - *J. Biol. Chem.*, 248, 7215-7222, (1973).
 (6) J.B. GOMEZ et W.A. SOUTHORN - *J. Rubb. Res. Inst. Malaya*, 21, 513-523, (1969).