

CINETIQUE D'ACTION DE L'ACIDE 2-CHLORO ETHYLPHOSPHONIQUE SUR LES POLYRIBOSOMES DU LATEX D'*HEVEA BRASILIENSIS*

MICHEL COUPÉ*, CLAUDE LAMBERT*, LAURENT PRIMOT† et JEAN d'AUZAC‡

* Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences, B.P. 4322, Abidjan, Côte d'Ivoire; † Institut de Recherche sur le Caoutchouc en Afrique, B.P. 1536, Abidjan, Côte d'Ivoire; ‡ Laboratoire de Physiologie Végétale, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 34060 Montpellier, Cédex, France

(Received 26 April 1976)

Key Word Index—*Hevea brasiliensis*; Euphorbiaceae; latex; RNA; polyribosomes; Ethrel.

Abstract—Effects of 2-chloroethylphosphonic acid on the latex of *Hevea brasiliensis* were studied during 7 days after its application on the tapping panel of the tree. Ribosome polymerisation shows a dramatic rise within 12 hr after treatment. This shift is overcome at first without rRNA synthesis. Increase of latex production and latex pH exhibit similar features and start 24 hr after application of the stimulant. After 4 days, rRNA concentration and the stability of the lutoïds (microvacuoles with lysosomal characteristics) change significantly.

INTRODUCTION

L'action de l'éthylène sur les végétaux présente généralement un temps de latence qui est variable selon les phénomènes observés. Il est quasiment nul pour l'inhibition de la croissance des racines [1] et de 6 min pour l'inhibition de la croissance des hypocotyles de pois [2]. Des temps de latence plus longs (1 à 2 hr) sont mesurés avant qu'intervienne l'épinastie des pétioles [3] ou la diminution de la force nécessaire pour détacher les feuilles [4]. Enfin l'augmentation de la respiration des tubercules de pomme de terre par l'éthylène n'est perceptible qu'au bout de 8 hr [5].

Le mécanisme de l'action de l'éthylène est inconnu. Un faisceau d'observations montre un effet net de ce gaz sur le métabolisme des acides nucléiques et des protéines [6]. Certaines expériences [7–10] permettent de penser que l'éthylène augmente la perméabilité des membranes bien que cette hypothèse ait été contestée [11]. D'autres résultats [12] suggèrent que dans le phénomène d'abscission l'éthylène contrôle la biosynthèse de la cellulase et en outre son transfert depuis le cytoplasme jusqu'à la paroi pectocellulosique. Il est probable que ces deux mécanismes ne s'excluent pas car il est logique de penser que des phénomènes très rapides tels que l'inhibition de la croissance des hypocotyles [2] font intervenir des changements de perméabilité.

Nous avons montré antérieurement [13] que l'Ethrel, produit libérant de l'éthylène, augmente la polymérisation des ribosomes du latex. Dans la présente étude nous avons comparé les latex d'arbres stimulés $\frac{1}{2}$, 1, 2, 4 et 7 jours avant la récolte afin d'étudier la cinétique d'action de l'Ethrel sur l'indice de polymérisation des ribosomes

et d'autres paramètres susceptibles d'intervenir dans la surproduction de latex résultant de la stimulation.

L'indice d'éclatement des lutoïdes (IE)

Les lutoïdes du latex sont des microvacuoles à caractère lysosomal [14, 15]. Après un traitement de l'arbre à l'Ethrel on constate dans le latex après récolte, que les lutoïdes sont dans un bien meilleur état d'intégrité qu'avant; ils ont de plus une résistance accrue au choc osmotique [16–18]. La moindre libération d'hydrolases qui en résulte favorise logiquement l'anabolisme de la cellule laticifère et dans notre cas particulier une moindre libération de RNase est favorable à un maintien de l'intégrité des polyribosomes.

Le pH du latex

Il augmente après stimulation. De ce fait l'activité de l'invertase, qui dépend fortement du pH, est exaltée [19]. Il en résulte une disponibilité accrue en énergie et matière première pour la cellule laticifère qui est susceptible de favoriser la biosynthèse du caoutchouc.

RESULTATS

Les résultats des figures 1 et 2 (mis à part ceux concernant le pH) sont exprimés en % des valeurs mesurées sur les mêmes arbres lors de la saignée précédant la stimulation à l'Ethrel (7 jours avant). Les résultats obtenus avec les arbres non stimulés constituant le temps zéro de notre expérience ont été exprimés en % des valeurs obtenues lors de la saignée précédente. Dans ce cas les valeurs diffèrent parfois de 100% et sont attribuables aux variations inévitables existant entre deux saignées consécutives. Les variations de pH du latex rapportées sur la figure 1 sont exprimées en calculant la différence entre le pH des latex récoltés sur les mêmes arbres avant et après stimulation.

Abbreviations: Ethrel: acide 2-chloroéthylphosphonique; IE: indice d'éclatement des lutoïdes; IP: indice de polymérisation des ribosomes; PI et Pt: phosphatases acides libre et totale; S: stimulé; sérum C: sérum cytoplasmique; T: témoin.

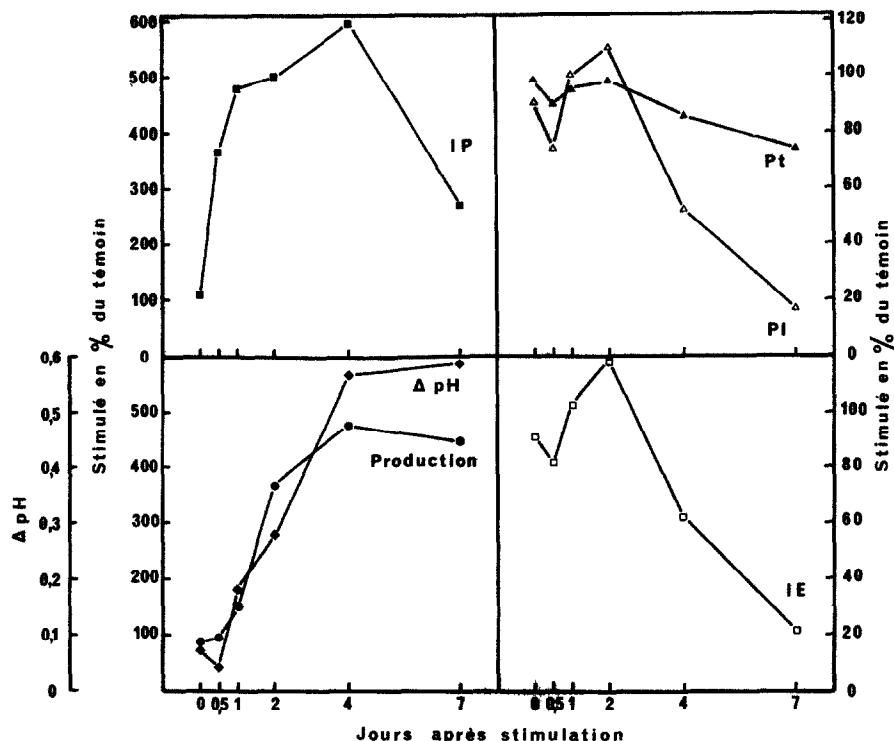


Fig. 1. Variations de quelques paramètres du latex en fonction du temps écoulé entre l'application de l'Ethrel et la saignée de l'arbre: Production en caoutchouc (●), indice de polymérisation des ribosomes (■), phosphatases acides libre (Δ) et totale (Δ), indice d'éclatement des lutoïdes (□), différence entre les pH des latex après et ayant stimulation (●). Mis à part le pH, les résultats sont exprimés en % des valeurs mesurées sur les mêmes arbres avant stimulation.

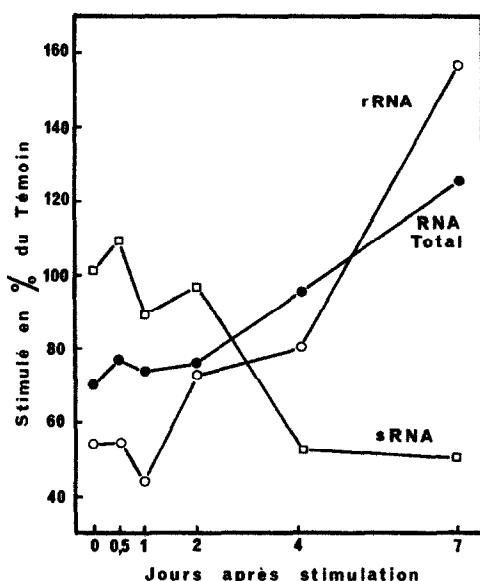


Fig. 2. Variations des RNA du latex en fonction du temps écoulé entre l'application de l'Ethrel et la saignée de l'arbre: RNA total (●), sRNA (□), rRNA (○). L'expression des résultats est la même que celle adoptée pour la Figure 1.

Variations de l'indice de polymérisation, du pH et de la production

L'indice de polymérisation (IP) augmente dès 12 hr après le traitement à l'Ethrel (Fig. 1). Après 4 jours la valeur du motif traité représente 610% de celle du témoin (IP = 2,45 et 0,40 respectivement). Au bout de 7 jours on remarque une chute sensible de cet indice. Sa valeur, 262% de celle du témoin correspond à des IP de 1,31 et 0,50 respectivement. Après stimulation on remarque une augmentation rapide et continue du pH. Dès 24 hr après traitement on mesure une différence de 0,17 unités de pH correspondant à des valeurs égales à 6,67 et 6,84 pour les motifs témoins et stimulés respectivement. Au bout de 7 jours la différence est de 0,63 unités (valeurs mesurées T = 6,46; S = 7,09). La production augmente après stimulation d'une façon très semblable à celle du pH. L'effet de l'Ethrel est décelable au bout de 24 hr. Au bout de 7 jours la production des arbres traités représente 450% de celle des témoins (81 et 18 g) de caoutchouc par arbre et par saignée respectivement).

Variations des propriétés des lutoïdes

Les lutoïdes du latex sont caractérisés par une phosphatase acide (Fig. 1). Cette enzyme étant localisée presque totalement dans ces organites on peut distinguer selon Pujarniscle [18] une activité totale (Pt) mesurée en

présence de Triton X-114 à 0,1% (dans ces conditions les lutoïdes sont déstabilisés et libèrent leur contenu enzymatique) et une activité libre (Pl) mesurée en présence de manitol 0,3 M (dans ces conditions les lutoïdes restent stables). Le rapport en % de ces deux activités est appelé indice d'éclatement des lutoïdes [19]. Il rend compte en première approximation du nombre de lutoïdes ayant libéré leur contenu.

On constate que l'activité Pt décroît lentement après stimulation tandis que l'activité Pl après quelques fluctuations présente une chute brutale au bout de 4 jours et est égale après 7 jours à 17% de la valeur du témoin. L'indice d'éclatement des lutoïdes diminue rapidement au bout de 4 jours et représente au bout de 7 jours 23% de la valeur du témoin.

Variations des RNA du latex

La concentration en RNA total du latex augmente au bout de 4 jours et atteint le 7ème jour 125% de la valeur du témoin (Fig. 2 et Tableau 1) ce qui correspond à 340 et 420 µg/ml de sér. C pour le témoin et le stimulé respectivement. La teneur en rRNA croît régulièrement à partir du 2ème jour après stimulation et atteint 162% de la valeur du témoin le 7ème jour (T: 136; S: 220 µg/ml de sér. C). Le sRNA voit sa concentration diminuer fortement 4 jours après stimulation. Au bout de 2 jours on peut constater une augmentation sensible et régulière du rapport rRNA/sRNA (Tableau 1).

DISCUSSION

Le premier paramètre affecté par l'Ethrel est, dans notre expérience, l'indice de polymérisation des ribosomes (IP). Cette polymérisation se fait, du moins pendant 24 hr sans augmentation de la quantité de rRNA ce qui implique une synthèse accrue de RNA messager ou bien une fixation accrue de mRNA pré-existent sur des ribosomes libres. Il paraît difficile d'expliquer la polymérisation des ribosomes par une moindre dégradation du RNA messager liée à une moindre activité de la RNase d'origine lutoïdique. L'Ethrel agit en stabilisant les lutoïdes, ce que montre clairement la baisse de leur indice d'éclatement, mais cette stabilisation intervient au bout de 4 jours soit longtemps après l'augmentation de l'indice de polymérisation. La moindre libération de RNase qui en résulte ne peut pas intervenir dans l'augmentation rapide de IP que l'on constate 12 hr après le traitement de l'arbre. A contrario le 7ème jour on constate une très forte stabilisation des lutoïdes qui coïncide avec une chute de IP.

Davies et Larkins [20] ont montré que l'application d'AIA ou d'acide gibberellique sur les épicotyles de pois provoque une augmentation de la polymérisation des ribosomes. Un résultat analogue a été obtenu par Klämbt [21] avec des cultures de tissus de moelle de

tabac traitée à l'AIA. Dans les deux cas cet effet a pu être décelé 3 hr après le traitement. Nous avons montré par ailleurs [22] que les auxinomimétiques ont une action analogue à celle de l'Ethrel sur le latex d'*Hévéa* et en particulier sur la polymérisation des ribosomes.

Le délai d'action de l'Ethrel (6 hr) est assez long mais expliquable compte tenu de l'épaisseur de l'écorce de l'*Hévéa*. Celle-ci constitue certainement un frein important à la pénétration de l'Ethrel ou de l'éthylène dans les laticifères. Dans notre expérience l'Ethrel a été appliqué sur le panneau de saignée après un léger grattage de l'assise subérifiée. Or Tupý [23] a montré que du phosphate radioactif déposé dans un trou profond pratiqué dans l'écorce apparaît dans le latex au bout de 2 hr seulement.

L'augmentation du pH et de la production en caoutchouc est postérieure à l'élévation de IP. La corrélation entre ces deux phénomènes est obscure. On sait que la stimulation fait varier les concentrations en Mg^{2+} [24] et PO_4^{3-} [25] du latex ainsi que la répartition du magnésium et du citrate [16] entre le sérum lutoïdique et le sérum cytoplasmique. Il est probable que l'augmentation du pH est une conséquence de ces variations multiples et il est possible que la modification de l'équilibre ionique du latex sous l'influence de l'Ethrel soit attribuable à une action de l'éthylène sur la perméabilité des membranes.

La croissance de la teneur en RNA du latex confirme nos résultats antérieurs [13]. L'élévation du rapport rRNA/sRNA sous l'action de la stimulation déjà observée par Typý [23] est confirmée ici. Elle montre que l'Ethrel induit une synthèse préférentielle de rRNA.

En résumé on peut dire qu'un des premiers processus affectés par l'Ethrel dans le latex de l'*Hévéa* est la polymérisation des ribosomes. De nombreux auteurs dont Key [26] pensent qu'un mécanisme d'action commun aux hormones végétales consiste à la dépression de certains gènes et la production de protéines spécifiques. Notre observation vient à l'appui de cette hypothèse, toutefois l'augmentation rapide du pH du latex qui pourrait être due à une action de l'éthylène sur la perméabilité des membranes, laisse entrevoir là aussi la complexité du phénomène et ne permet pas de préciser le premier site d'action de l'éthylène.

PARTIE EXPERIMENTALE

Nos expériences ont porté sur le clone GT 1 d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. âgés de 8 ans. Nous avons sélectionnés 48 arbres homogènes au point de vue croissance et production en caoutchouc selon une méthode déjà décrite [13]. Ces arbres ont été répartis en 6 lots. Une saignée de contrôle a permis de vérifier l'homogénéité des lots. Ensuite les arbres ont été stimulés par de l'Ethrel à 5% de matière active dans de l'huile de palme 1, 2, 4 et 7 jours avant d'être saignés à nouveau. Le 6ème lot n'a pas été stimulé; il constitue le temps zéro de la cinétique d'action de l'Ethrel. Pour tous les arbres, l'intervalle entre la saignée de contrôle et la saignée après stimulation a été de 7 jours. La technique de stimulation a été exposée par ailleurs [13]. Après la saignée, le latex est recueilli dans un récipient refroidi par de la glace. Les polyribosomes sont isolés et analysés sur un gradient de sucre (10 à 30%) selon une méthode décrite précédemment [13]; la mesure de l'indice de polymérisation des polysomes a également été décrite à cette occasion. Le pH est déterminé à $\pm 0,01$ unité près sur le latex fraîchement récolté, après équilibrage à 20°.

Tableau 1. Variations du rapport rRNA/sRNA en fonction du temps écoulé entre l'application de l'Ethrel et la saignée de l'arbre

| Temps en jours | 0 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 7 |
|------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Arbres avant stimulation (T) | 1,25 | 0,91 | 0,98 | 0,92 | 1,04 | 0,87 |
| Arbres après stimulation (S) | 0,66 | 0,46 | 0,48 | 0,70 | 1,64 | 2,72 |
| S en % de T | 53 | 51 | 49 | 79 | 158 | 312 |

REFERENCES

1. Chadwick, A. V. et Burg, S. P. (1967) *Plant Physiol.* **42**, 415.
2. Warner, H. L. (1970) Ph.D. Thesis, Purdue University, Lafayette, Indiana.
3. Funke, G. L. de Cooyer, F., de Decker, A. et Maton, J. (1938) *Biol. Jaarb.* **5**, 335.
4. de la Fuente, R. K. et Léopold, A. C. (1969) *Plant Physiol.* **44**, 251.
5. Reid, M. S. et Pratt, H. K. (1972) *Plant Physiol.* **49**, 252.
6. Abeles, F. B. (1973) *Ethylene in Plant Biology*, p. 244. Academic Press, New York.
7. Von Guttemberg, H. et Beythien, A. (1951) *Planta* **40**, 36.
8. Lyons, J. M. et Pratt, H. K. (1964) *Arch. Biochem. Biophys.* **104**, 318.
9. Jones, R. L. (1968) *Plant Physiol.* **43**, 442.
10. Hanson, A. D. et Kende, H. (1975) *Plant Physiol.* **55**, 663.
11. Burg, S. P., Burg, E. A. et Marks, R. (1964) *Plant Physiol.* **39**, 185.
12. Abeles, F. B. et Leather, G. R. (1971) *Planta* **97**, 87.
13. Coupé, M. et d'Auzac, J. (1974) *Physiol. Vég.* **12**, 1.
14. Pujarniscle, S. (1965) *C.R. Acad. Sci. Paris* **261**, 2127.
15. Ribaillier, D., Jacob, J. L. et d'Auzac, J. (1971) *Physiol. Vég.* **9**, 423.
16. Ribaillier, D. (1972) Thèse Doct. Etat, Abidjan.
17. Tupý, J. (1973) *J. Exp. Botany* **24**, 516.
18. Pujarniscle, S. (1969) *Physiol. Vég.* **7**, 391.
19. Ribaillier, D. (1968) *Rev. Gén. Caout. Plast.* **45**, 1395.
20. Davies, E. et Larkins, B. A. (1973) *Plant Physiol.* **52**, 339.
21. Klämbt, D. (1974) *Planta* **118**, 7.
22. Coupé, M., Lambert, C. et d'Auzac, J. (1976) *Physiol. Vég.* **14**, 391.
23. Tupý, J. (1974) *Biol. Plant.* **16**, 325.
24. Ribaillier, D. (1970) *Rev. Gén. Caout. Plast.* **47**, 305.
25. d'Auzac, J. et Pujarniscle, S. (1959) *Rev. Gén. Caout.* **36**, 862.
26. Key, J. L. (1969) *Ann. Rev. Plant Physiol.* **20**, 449.