

**Variations de pH entre compartiments vacuolaire
et cytoplasmique au sein du latex d'*Hevea brasiliensis*
Influence saisonnière et action du traitement par l'éthrel
générateur d'éthylène
Répercussion sur la production et l'apparition
d'encoches sèches**

JANINA BRZOWSKA-HANOWER *, HERVÉ CRETIN *,
PAUL HANOWER * et PIERRE MICHEL **

* Office de la Recherche scientifique et technique Outre-Mer,
centre d'Adiopodoumé, Laboratoire de Physiologie végétale,
B.P. V 51 Abidjan (Côte-d'Ivoire)

** Institut de Recherches sur le Caoutchouc en Afrique,
Service de Technologie, B.P. 1536, Abidjan (Côte-d'Ivoire)

(Manuscrit reçu le 13 juin, accepté le 11 août 1979)

RÉSUMÉ

Mots clés : Hevea, éthylène, pH, cytoplasme, lutoïdes.

Les pH respectifs du cytoplasme et des lutoïdes (microvacuoles à caractère lysosomal) du latex d'*Hevea brasiliensis* sont mesurés à chaque saignée au cours d'un cycle annuel d'exploitation et en fonction des traitements, à dose et fréquence variables, à l'éthrel.

Les écarts entre pH cytoplasmique et pH lutoïdique (plus acide) sont maximaux à la saison des pluies et minimaux à la saison sèche.

Le traitement à l'éthrel élève le pH cytoplasmique et également, mais de façon temporaire, le pH lutoïdique.

Des corrélations significatives sont mises en évidence entre production et pH cytoplasmique, entre pH cytoplasmique et pH lutoïdique.

Les stimulations excessives à l'éthrel augmentent la fréquence de zones non productives sur l'encoche (encoche sèche).

Le mécanisme régissant les modifications de pH transmembranaire est discuté.

SUMMARY

Key words: *Hevea*, ethylene, pH, cytoplasm, lutoïds.

The pH of cytoplasm and lutoïds (microvacuoles with lysosomal properties) respectively, from latex of *Hevea brasiliensis* were measured at each tap during an annual cycle of production in relation to various doses of hormonal treatments (ethylene) applied at certain frequencies.

Differences between cytoplasmic and lutoïdic pH (more acidic) were maxima during the wet season and minima during the dry season.

Treatments with ethrel increased cytoplasmic pH and, temporarily, lutoïdic pH.

Significative correlations were established between latex yield and cytoplasmic pH, and between cytoplasmic pH and lutoïdic pH.

Excessive stimulations with ethrel increased the frequency of non productive zones on the tapping cuts.

The mechanism of the modifications of the transmembranous pH gradient is discussed.

INTRODUCTION

L'emploi de l'éthrel, générateur d'éthylène, pour stimuler la production du latex d'*Hevea brasiliensis* est actuellement une pratique courante. Les traitements se font généralement plusieurs fois par an. Devant la fugacité relative de l'effet du traitement, il existe une tendance à augmenter la fréquence des stimulations. Or, les répercussions à terme des stimulations répétées sur l'état physiologique de l'arbre ainsi que sur les paramètres biochimiques et structuraux au niveau subcellulaire du latex et la qualité du caoutchouc sont, à ce jour, mal ou pas connus.

D'autre part, depuis quelques années, il a été constaté sur les plantations d'*Hevea* une extension importante du syndrome appelé « encoche sèche ». Il débute par l'apparition sur l'encoche des zones improductives, d'abord limitées, qui finissent par s'étendre sur toute la longueur de l'encoche.

Il est actuellement admis que des systèmes d'exploitation surintensive (fréquentes saignées des arbres) sont susceptibles d'entraîner à terme l'apparition d'encoches sèches. Nous avons émis l'hypothèse suivant laquelle la stimulation pourrait être responsable du phénomène. En effet, lors de nos études antérieures nous avons constaté que le pourcentage d'arbres non productifs chez les motifs stimulés est toujours supérieur à celui du motif témoin. Signalons, par ailleurs, que dans un autre type d'expérimentation portant sur du latex issu d'arbres manifestant les symptômes avancés de dessèchement, nous avons pu observer la diminution des éléments figurés. Le culot particulaire constitué essentiellement des lutoïdes (structures vacuolaires à caractères lysosomal) et de particules de Frey-Wyssling (de nature plastidiale), important après centrifugation d'un latex normal, va en s'amenuisant et finit même par disparaître complètement avant l'apparition de l'encoche sèche totale (résultats non publiés).

On pouvait supposer que la destruction des organites, mettant en contact leur contenu avec celui du cytoplasme, provoque une coagulation du latex en profondeur et empêche ainsi l'écoulement (HANOWER *et al.*, 1976).

On sait, en effet, que la polyphénol oxydase active est localisée dans les particules de Frey-Wyssling (COUPÉ *et al.*, 1972; BRZOWSKA-HANOWER *et al.*, 1978); que les lutoïdes sont riches en cations bivalents (RIBAILLIER, 1972); qu'il existe un gradient de pH entre le sérum lutoïdique acide et le sérum cytoplasmique relativement alcalin (RIBAILLIER, 1972; D'AUZAC *et al.*, 1977; COUPÉ et LAMBERT, 1977; HANOWER *et al.*, 1977). La décompartmentation libère donc des facteurs entraînant la coagulation (HANOWER *et al.*, 1976).

On note, par ailleurs, l'existence des corrélations entre productivité des arbres et pH du latex, plus particulièrement pH du cytoplasme, siège des voies métaboliques conduisant à la synthèse du caoutchouc (JACOB et D'AUZAC, 1969 et 1972; TUPY, 1973; COUPÉ et LAMBERT, 1977; COUPÉ, 1977; JACOB *et al.*, 1977).

Toutes ces considérations nous ont conduit à entreprendre la présente étude sur les effets à terme des stimulations hormonales.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Matériel végétal

Le latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. provient de la plantation de l'Institut de Recherches sur le Caoutchouc en Afrique (I.R.C.A.) d'Anguédédou en Côte-d'Ivoire. 200 arbres sains des clones PR 107 et GT 1 (à raison de 100 arbres par clone), aussi homogènes que possible, ont été sélectionnés en prenant en considération l'âge des arbres, l'aspect de la couronne, la circonférence, la hauteur de l'encoche et la productivité. Cette dernière a été suivie semaine par semaine pendant 2 mois et demi.

Schéma de l'expérience

Les arbres sélectionnés dans chaque clone ont été divisés en quatre lots de 25 arbres : 1° lot témoin non stimulé; 2° lot stimulé toutes les 12 semaines à raison de 100 mg de matière active par arbre et par stimulation (traitement généralement appliqué actuellement sur les plantations d'*Hevea* en Côte-d'Ivoire); 3° lot stimulé toutes les 12 semaines à raison de 200 mg de matière active par arbre et par stimulation (surstimulation en dose); 4° lot stimulé toutes les 6 semaines à raison de 100 mg de matière active par arbre et par traitement (surstimulation en fréquence).

Stimulation

Pour stimuler la productivité des arbres on a employé l'acide 2-chloroéthylphosphonique (ethrel), générateur d'éthylène (ABRAHAM *et al.*, 1968; D'AUZAC et RIBAILLIER, 1969) suivant la technique décrite précédemment (HANOWER *et al.*, 1977)..

Exploitation des arbres et prélèvement du latex

Les arbres sont saignés en demi spirale deux fois par semaine (S/2 J3/J4) à 6 heures du matin. Après avoir écarté les premiers millilitres contenant des impuretés et des organites dégradés, le latex des 10 arbres de chaque lot s'écoule pendant 2 h dans des récipients plongés dans de la glace. A 8 heures l'écoulement est quasiment terminé. On réunit les latex de chaque lot afin de constituer des échantillons moyens.

Les caractéristiques biochimiques du latex n'ont été étudiées systématiquement que sur le clone PR 107 et les résultats rapportés ci-dessous ne concernent que ce clone.

Productivité

La productivité des arbres est suivie systématiquement, saignée après saignée, sur les lots de 10 arbres pour chaque motif. La mesure du volume de chaque échantillon, la détermination de la matière sèche par étuvage à 70°C jusqu'à poids constant ainsi que du poids sec des « fonds de tasse » (dernière fraction écoulée) permettent de calculer la production de chaque lot de 10 arbres.

Mesure des pH compartimentaux

Le latex est centrifugé à 35 000 $\times g$ pendant 1 h à 4°C. On obtient trois couches : le caoutchouc surnageant, le sérum cytoplasmique sous-jacent et le culot particulaire.

(a) pH du sérum cytoplasmique

5 ml du sérum cytoplasmique sont aspirés au moyen d'une pompe péristaltique munie d'un cathénaire. Le pH est mesuré immédiatement au moyen d'un pH-mètre muni d'une semi-micro électrode combinée.

(b) pH du sérum du sédiment

La surface du culot est lavée avec du mannitol 0,3 M (solution isotonique) puis égouttée. Le culot est ensuite traité 40 sec aux ultrasons afin de rompre les membranes des particules qui le constituent. La suspension est immédiatement centrifugée 15 min à 30 000 $\times g$ à 4°C et le pH est mesuré.

Estimation des encoches sèches

La longueur de l'encoche sèche non productive est mesurée périodiquement lors de la saignée des arbres. Elle est exprimée en longueur totale par lot de 25 arbres (cm) et en nombre d'arbres atteints.

RÉSULTATS

pH compartimentaux et gradient transmembranaire

pH cytoplasmique (fig. 1).

Chez le motif témoin, les pH cytoplasmiques les plus acides, autour de 6,5, se rencontrent durant la saison sèche avancée (selon l'année, fin février-mars ou fin mars-début avril), et les moins acides, évoluant vers la neutralité (6,9-7,0), dès les premières grosses pluies. Au cours des mois suivant la grande saison humide et jusqu'en janvier, la valeur du pH cytoplasmique oscille entre 6,8 et 6,9, la chute ne s'amorçant qu'avec la saison sèche et la défoliation des arbres.

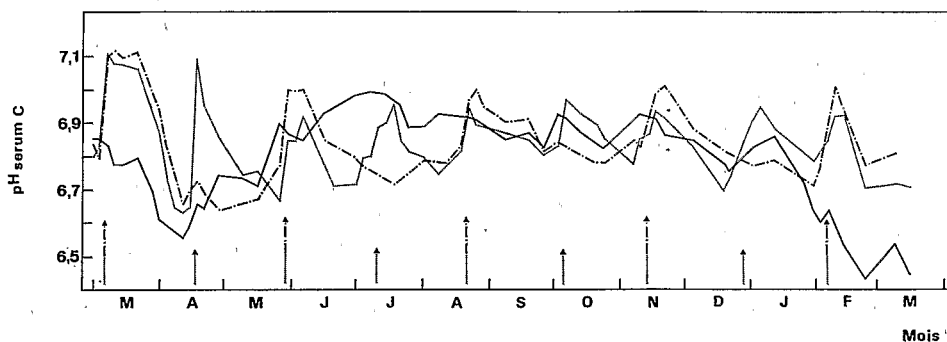


FIG. 1. — Variations au cours de l'année du pH cytoplasmique (pH sérum C). Clone PR 107. Les mois sont désignés par majuscules (première lettre du mois). Témoin —; motif surstimulé en dose —.—; motif surstimulé en fréquence ... Les flèches indiquent les dates de stimulations du motif correspondant. Les mêmes symboles sont utilisés pour les figures 2, 3, 4 et 5.

— Seasonal variations of cytoplasmic pH (serum C pH). Clone PR 107. Months are given in capital letters (first letter of month). Control —; over-dose stimulation —.—; over-frequency stimulation ... The same symbols are used for figures 2, 3, 4 and 5.

Parmi les motifs traités seuls figurent sur le graphique les deux motifs surstimulés, les valeurs du pH cytoplasmique du latex des arbres stimulés normalement se confondant, la plupart du temps, avec celles du motif surstimulé en fréquence.

La stimulation conduit à une augmentation du pH cytoplasmique lors des 3-4 premières saignées après le traitement, fait qui a déjà été signalé par d'autres auteurs (RIBAILLIER, 1972; COUPÉ, 1977). Ensuite, les différences s'estompent et les valeurs des motifs stimulés rejoignent ou même, parfois, se situent au-dessous des valeurs des motifs témoins. L'effet de la stimulation est plus ou moins marqué selon la saison. Ainsi, l'éthrel n'agit que peu lorsque le pH cytoplasmique est naturellement élevé, alors que la réponse au traitement est très nette à l'époque où le pH est relativement bas.

La dose double a systématiquement plus d'effet sur l'alcalinisation du pH cytoplasmique que la dose simple. D'autre part, avec les stimulations répétées on observe un certain tassement des réponses.

pH lutoïdique (fig. 2.)

L'évolution saisonnière du motif témoin présente les pH lutoïdiques les moins acides (6,0-6,2) en fin de la période sèche et les plus acides (au-dessous de 5,6)

après l'époque de fortes pluies. Les valeurs augmentent ensuite progressivement et oscillent entre 5,7 et 5,8 jusqu'à la défoliation (fin janvier) qui marque une nouvelle brusque montée.

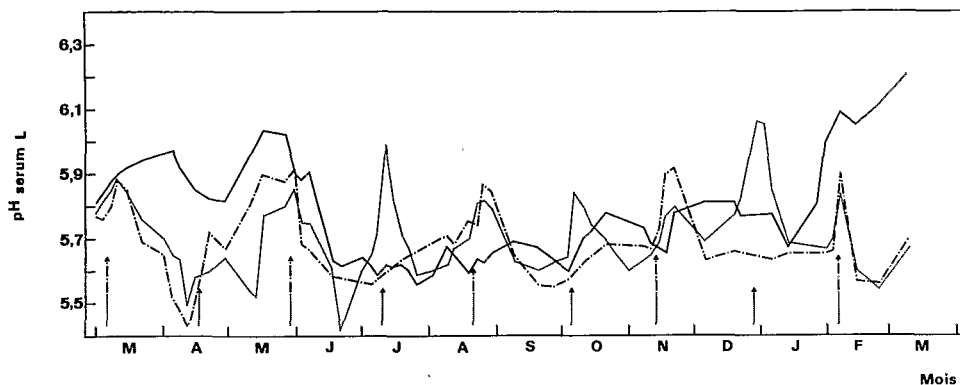


FIG. 2. — Variations au cours de l'année du pH lutoïdique (pH sérum L)
Mêmes motifs que sur la figure 1

— *Seasonal variations of lutoïdic pH (serum L pH)*

La stimulation se traduit, dans le premier temps, (1^{re} à 3^e saignée après l'application de l'éthrel) par une élévation du pH lutoïdique. Cette augmentation passagère mais non négligeable, de 0,1 à 0,2 et parfois 0,3 unités de pH, est suivie d'une acidification de plus en plus prononcée du compartiment lutoïdique avec les valeurs les plus basses autour de la 8^e-9^e saignée après le traitement stimulant. Puis le pH tend à remonter. Après une nouvelle stimulation le cycle recommence. Notons que l'alcalisation du compartiment lutoïdique à la suite du traitement stimulant n'a jamais été signalée. Par contre, son acidification sous effet de l'éthrel a été rapportée par COUPÉ (1977).

L'écart entre les motifs stimulés et le témoin est d'autant plus grand que le pH lutoïdique naturel du témoin est plus élevé, c'est-à-dire en saison sèche. A cette période le traitement stimulant peut abaisser la valeur du pH lutoïdique de plus de 0,5 unités.

D'autre part, la montée du pH suivant le traitement semble s'accroître avec les stimulations répétées, alors que sa chute ultérieure devient moins importante et n'atteint plus les valeurs aussi basses qu'après les premières stimulations (5,6 contre 5,4).

La double dose de stimulant a une action plus prononcée que la dose simple : le compartiment lutoïdique s'alcalinise davantage dans le premier temps et s'acidifie plus (à une exception près) dans le deuxième temps.

Différence de pH entre les compartiments sérique et lutoïdiques (ΔpH) (fig. 3).

La saison sèche qui coïncide avec les phénomènes physiologiques tels que la chute des feuilles, la refoliation et la floraison de l'*Hevea*, se caractérise par les valeurs de ΔpH compartimentaux les plus faibles (entre 0,3 et 0,6 selon l'année) et l'époque humide suivant les fortes pluies — par les valeurs les plus élevées (1,3-1,4).

Notons que les très faibles valeurs de ΔpH , dues essentiellement à des pH lutoïdiques relativement alcalins, peuvent refléter la « porosité » et l'instabilité de ces particules en saison sèche.

La stimulation entraîne une élévation du ΔpH durant plusieurs saignées après le traitement. L'augmentation par rapport au témoin est d'autant plus importante que la valeur du ΔpH de ce dernier est faible. A l'époque où le ΔpH est naturellement très élevé, l'action de l'éthylène est faible ou nulle, les valeurs du témoin se situant au-dessus des valeurs des motifs stimulés.

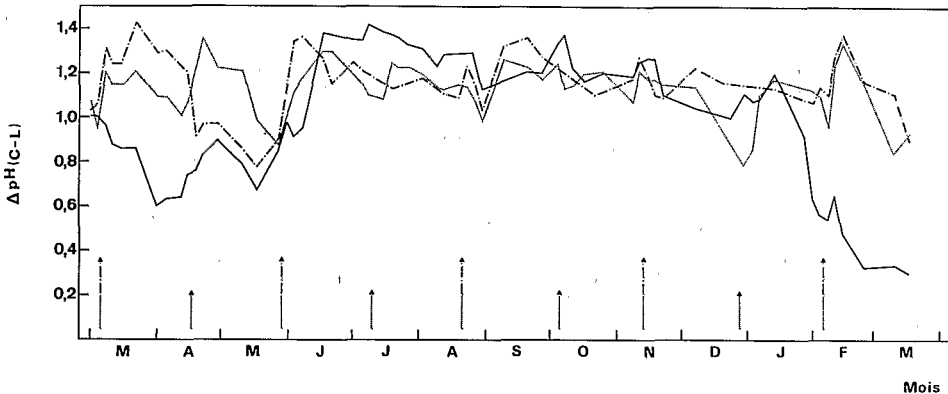


FIG. 3. — Variations au cours de l'année du ΔpH (pH cytoplasmique-pH lutoïdique)
Mêmes motifs que sur la figure 1

— Seasonal variations of ΔpH (cytoplasmic pH-lutoïdic pH)

Les stimulations répétées conduisent ainsi à une atténuation des variations saisonnières du ΔpH en maintenant sa valeur à un niveau élevé tout au cours de l'année. Ceci est particulièrement net chez les motifs surstimulés aussi bien en fréquence qu'en dose. L'effet d'une stimulation normale est moindre.

Production de latex

La figure 4 représente les variations de la production du clone PR 107 au cours d'une année d'expérimentation pour trois motifs : témoin, surstimulé en dose et surstimulé en fréquence. Pour plus de clarté nous ne présentons pas la courbe du motif stimulé à dose et fréquences habituelles dont les pics de surproduction suivant les traitements stimulants ne diffèrent pas notablement de ceux du motif surstimulé en fréquence (sauf vers la fin de l'expérience).

L'évolution saisonnière de la production du témoin montre des minima en fin de saison sèche, en mars-avril, et deux maxima, l'un en juin-juillet et fin août avec dépression dans les 3 premières semaines d'août (ensoleillement minimaux), et l'autre, fin décembre-début janvier, correspondant à la période de l'harmattan.

Les stimulations se traduisent par des pics de surproduction classique (COUPÉ, 1977) lors des 3 à 4 premières saignées suivant le traitement stimulant.

Les productions cumulées des deux clones pour la période de l'expérimentation (tableau I) augmentent sous l'effet de la stimulation de 62 à 79 % chez PR 107 et de 22 à 44 % chez GT 1 comparativement aux témoins. C'est donc le meilleur producteur naturel des deux clones qui fournit la moins bonne réponse à la stimulation.

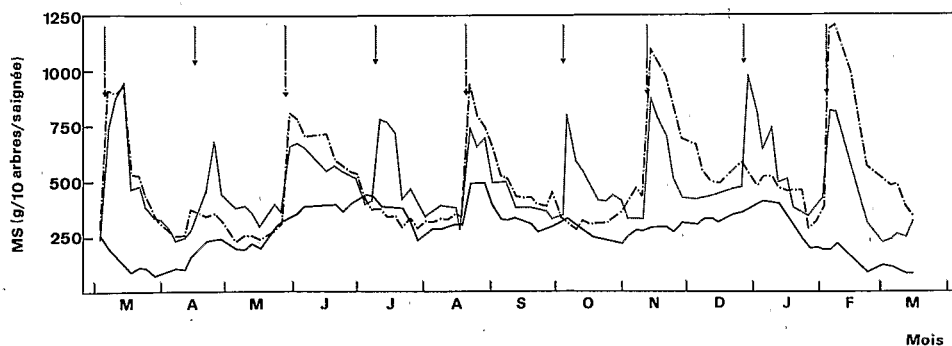


FIG. 4. — Variations, au cours de l'année, de la production du latex (grammes de matière sèche par 10 arbres et par saignée). Mêmes motifs que sur la figure 1

— Seasonal variations of latex yield (grams dry weight/10 trees and tapping)

De plus, et contrairement aux prévisions, ce n'est pas la surstimulation en fréquence qui donne les meilleurs rendements, au moins en l'occurrence.

Pour PR 107 le meilleur résultat est obtenu avec la dose double du stimulant. Les gains totaux des deux motifs surstimulés par rapport à la stimulation normale ne sont pas très importants.

De plus, la comparaison des productions cumulées partielles, correspondant aux intervalles de 6 semaines suivant les traitements stimulants, montre que, si pour le motif surstimulé en dose les valeurs sont systématiquement supérieures

TABLEAU I

Productions cumulées en g/10 arbres et par intervalles en 6 semaines. Valeurs en italique correspondant à celles consécutives à la stimulation. Stimulations en milligrammes de matière active (m. a.) par arbre.

Cumulated latex yields in g/10 trees and 6 week periods. Yields following hormonal treatment are in italics.

Intervalles	Témoins		100 mg m. a. par 12 semaines		200 mg m. a. par 12 semaines		100 mg m. a. par 6 semaines	
	PR 107	GT 1	PR 107	GT 1	PR 107	GT 1	PR 107	GT 1
3/3/1977-14/4/1977.....	1 596	1 995	<i>5 494</i>	<i>4 633</i>	<i>6 071</i>	<i>4 088</i>	5 477	4 520
14/4/1977-26/5/1977....	2 282	2 031	2 656	3 408	3 134	3 336	<i>4 585</i>	<i>4 531</i>
26/5/1977-7/7/1977....	4 005	3 102	<i>5 940</i>	<i>7 176</i>	<i>6 591</i>	<i>7 410</i>	5 384	6 141
7/7/1977-18/8/1977....	3 973	5 924	3 683	5 226	4 054	5 138	<i>5 228</i>	<i>5 613</i>
18/8/1977-29/9/1977....	3 917	4 696	<i>5 971</i>	<i>6 219</i>	<i>6 759</i>	<i>6 056</i>	5 361	4 807
3/10/1977-10/11/1977...	3 295	4 317	3 957	4 454	4 145	4 265	<i>5 490</i>	<i>4 469</i>
10/11/1977-22/12/1977..	3 772	4 976	<i>7 402</i>	<i>6 607</i>	<i>7 521</i>	<i>6 325</i>	6 265	4 865
22/12/1977-2/2/1978....	4 040	4 600	5 351	5 712	5 631	4 973	<i>6 732</i>	<i>5 422</i>
2/2/1978-16/3/1978.....	1 777	3 767	<i>5 851</i>	<i>7 691</i>	<i>7 396</i>	<i>6 816</i>	4 643	5 476
TOTAUX.....	28 657	35 408	46 305	51 126	51 302	48 407	49 165	45 844

aux valeurs du motif stimulé normalement, les productions du motif surstimulé en fréquence sont toujours inférieures. Ce dernier phénomène s'aggrave vers la fin de l'expérience avec le nombre répété des stimulations.

Pour GT 1 la stimulation normale, la moins drastique, s'avère la meilleure et la surstimulation en fréquence — la moins rentable, surtout vers la fin de l'expérience.

Un amortissement de réponse à la surstimulation en fréquence est observé chez les deux clones. On verra plus loin que cet amortissement coïncide avec l'apparition des zones non productrices sur l'encoche.

Teneur en matière sèche du latex (% MS)

La teneur en matière sèche du latex des arbres témoins présente des variations saisonnières non négligeables allant, pour le clone PR 107, de 45 % en fin de saison sèche à moins de 36 % après la grande saison de pluies (*fig. 5*). Les variations analogues, entre 42 et 32 %, sont observées pour le GT 1.

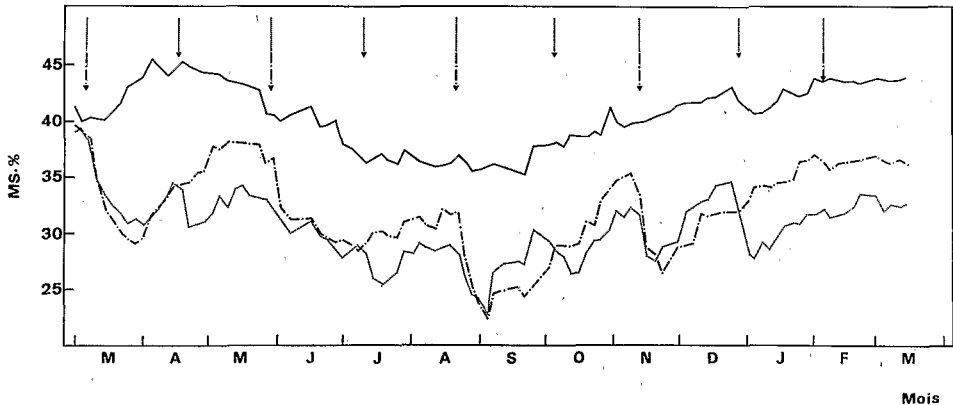


FIG. 5. — Variations saisonnières de la teneur en matière sèche du latex (%)
Mêmes motifs que sur la figure 1

— *Seasonal variations of dry matter content of latex (%)*

Chaque stimulation se traduit par une chute considérable des teneurs en matière sèche, fait déjà signalé par COUPÉ (1977). Plus le traitement stimulant est drastique plus la baisse est importante. Les valeurs minimales pour les motifs surstimulés se situent, chez les deux clones, aux environs de 23 % contre 27 % pour le motif stimulé normalement (ne figurant pas sur le graphique). Les teneurs en matière sèche des latex issus des arbres traités, même ceux stimulés à fréquence normale, ne parviennent jamais à rejoindre celles du latex des arbres témoin.

L'éthylène semble augmenter le flux d'eau, au moins dans les tissus laticifères, et cet effet est l'un de ceux qui se prolongent le plus dans le temps, au cours des saignées successives.

Le fait que les minima de teneur en matière sèche apparaissent longtemps après le traitement stimulant, peut traduire une diminution importante de la vitesse de régénération du contenu des laticifères lorsque l'on s'éloigne de la stimulation.

Apparition des zones non productives sur les encoches

L'apparition des zones non productives sur les arbres non traités (tableau II) est négligeable, surtout chez le clone PR 107. Au bout de 1 an, 1 seul arbre sur les 25 est atteint sur 1/3 de l'encoche (longueur moyenne d'une demi-spirale = 40 cm). Le clone GT 1 présente une sensibilité plus grande qui se traduit tant par le nombre d'arbres que par la longueur de la zone sèche.

TABLEAU II

Apparition des zones non productrices sur l'encoche (cm par 25 arbres).

Chiffres en italiques indiquent le nombre d'arbres atteints

Formation of dry zones on tapping cuts (cm/25 trees)

In italics: number of affected trees

Date de relevés	Motif témoin		Motifs stimulés matière active/arbre/laps de temps (mg)					
	PR 107	GT 1	100/12 semaines		200/12 semaines		100/6 semaines	
			PR 107	GT 1	PR 107	GT 1	PR 107	GT 1
28/11/1977.....	0	0	0	0	0	0	0	0
14/4/1977.....	8	7	7	10	0	15	15	19
	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	—	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>2</i>
20/6/1977.....	12	10	15	16	0	34	18	50
	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	—	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>4</i>
3/10/1977.....	15	19	20	45	0	85	26	149
	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>3</i>	—	<i>4</i>	<i>2</i>	<i>10</i>
28/11/1977.....	12	31	22	41	0	79	52	194
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	—	<i>4</i>	<i>3</i>	<i>10</i>
30/1/1978.....	13	54	22	71	+ ^(a)	132	106	244
	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>6</i>	<i>6</i>	<i>13</i>
9/3/1978.....	15	54	22	65	+ ^(a)	124	120	317
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>5</i>	<i>5</i>	<i>15</i>

^(a) Premiers « points secs » sur encoche.

Notons à ce propos que dans les expériences portant sur la fréquence de saignées (quatre saignées par semaine) on n'a pas relevé, après 1 an, de zone sèche sur le PR 107, au contraire de GT 1 (résultats non publiés).

L'influence de la stimulation hormonale sur l'apparition des encoches sèches est très nette. Son action dépend de l'intensité du traitement stimulant et varie avec le clone. Chez le PR 107, moins bon producteur naturel que GT 1, les stimulations à fréquence normale sont pratiquement sans effet, même avec la dose double de matière active. La surstimulation en fréquence provoque, par contre, incontestablement, une augmentation des zones sèches. En fin d'expérimentation 20 %

d'arbres de ce motif sont atteints et les zones non productrices représentent un pourcentage non négligeable de l'ensemble des zones saignées (12 %). C'est à partir de la 6^e stimulation (6.X) que l'on constate l'évolution nette du taux des encoches sèches.

Chez le GT 1, l'incidence de la stimulation sur le développement des encoches sèches est encore plus marquée. Pour ce clone la stimulation à fréquence normale est déjà préjudiciable, surtout avec la dose double du produit stimulant. La surstimulation en fréquence provoque une apparition massive des zones improductives. Le processus s'installe tôt et se développe rapidement. Déjà après la 5^e stimulation 10 arbres sur 25 présentent le syndrome. A la fin de l'expérimentation 15 arbres sont atteints, soit 60 %. Les zones sèches représentent près de 32 % de la longueur totale des encoches. C'est comme si 8 arbres sur 25 ne produisaient plus.

Si l'on se rapporte au tableau I on peut constater que la surstimulation en fréquence devient rapidement peu rentable comparativement aux autres traitements stimulants. Toutefois, le gain réalisé par rapport au témoin demeure encore intéressant. Mais à plus long terme une évolution des zones sèches risque de compromettre ce type de traitement.

DISCUSSION

Corrélation production des arbres/teneur en matière sèche du latex

La comparaison des courbes des figures 4 et 5 indique que, d'une manière générale, tant pour les témoins que pour les motifs stimulés, les fortes productions correspondent aux faibles teneurs en matière sèche du latex. La corrélation entre la production en matière sèche et la teneur en matière sèche du latex n'est pas linéaire. Elle est beaucoup plus significative lorsque l'on prend en considération la production en matière fraîche. La corrélation est du type :

$$\text{Production (MF)} = e^{b-(c \times \% \text{MS})}$$

Pour les arbres témoins $b = 12,95$ et $c = 0,16$ (fig. 6), pour $n = 68$, $r = 0,68$ (THS).

Pour les motifs stimulés on obtient le même type d'équation.

Ceci montre que les pourcentages élevés en MS sont un des facteurs limitant la production des arbres et qu'il existe une valeur seuil au-delà de laquelle la fluidité du latex, liée au pourcentage de MS par une relation inverse, n'est plus le facteur limitant, seuil à partir duquel les pourcentages de MS peuvent diminuer sans se répercuter sur la production.

Corrélation entre pH cytoplasmique, pH lutoïdique et Δ pH. Mécanisme agissant sur le gradient de pH transmembranaire

pH cytoplasmique/pH lutoïdique

La comparaison des courbes de pH des deux compartiments (fig. 1 et 2) montre que chez le motif témoin elles évoluent, en général, en sens inverse. Les résultats de calculs statistiques consignés dans le tableau III confirment cette constatation en mettant en évidence une corrélation inverse THS entre pH cytoplasmique et le pH lutoïdique. Ceci corrobore l'hypothèse émise lors des études antérieures concernant le mécanisme de la formation du gradient de pH transmembranaire (LAMBERT, 1975; HANOWER *et al.*, 1977; D'AUZAC *et al.*, 1977) selon laquelle les particules lutoïdiques pomperaient les ions hydroxynium du sérum environnant

le rendant ainsi plus alcalin, alors que le compartiment lutoïdique s'acidifierait et inversement. Les lutoïdes pourraient donc fonctionner comme un système régulateur du pH du cytoplasme, siège des voies métaboliques très pH dépendantes, importantes dans la synthèse du caoutchouc (TUPY, 1969, 1973; JACOB et D'AUZAC, 1969, 1972; JACOB, 1970; JACOB *et al.*, 1977).

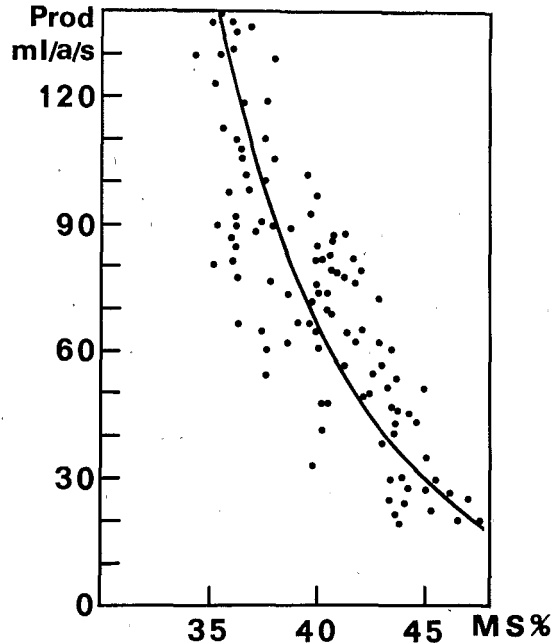


FIG. 6. — Corrélation entre production (matière fraîche-millilitre latex par arbre et par saignée) et teneur en matière sèche du latex (%). Motif témoin.

— Correlation between latex yield (wet weight-milliliter latex/tree and tapping) and dry matter content of latex (%).

L'équation régissant la relation pH cytoplasmique/pH lutoïdique du motif témoin est linéaire (*fig. 7 a*), de la forme suivante (calculée par la méthode des moindres rectangle qui ne privilégie aucune variable) :

$$\text{pH cytoplasmique} = 10,904 - 0,706 \times (\text{pH lutoïdique})$$

ou

$$\text{pH lutoïdique} = 15,434 - 1,416 \times (\text{pH cytoplasmique}),$$

$$r = 0,797.$$

Ajoutons que le sens de l'évolution des pentes au cours de l'année demeure le même (négatif).

Comme l'indique la comparaison des courbes des figures 1 et 2, chez les motifs stimulés, l'alcalinisation du compartiment lutoïdique lors des premières saignées consécutives au traitement stimulant coïncide avec l'alcalinisation du compartiment cytoplasmique. De même, l'acidification ultérieure des lutoïdes va de pair avec la baisse progressive du pH cytoplasmique qui tend vers les valeurs antérieures à la stimulation. Celle-ci entraîne donc une inversion des tendances : la relation entre le pH cytoplasmique et le pH lutoïdique devient positive, NS ou S chez les deux motifs stimulés à dose simple et HS chez le motif stimulé à dose double (tableau III et *fig. 7 b*). La concentration en matière active se répercute davantage sur l'évolution des pH

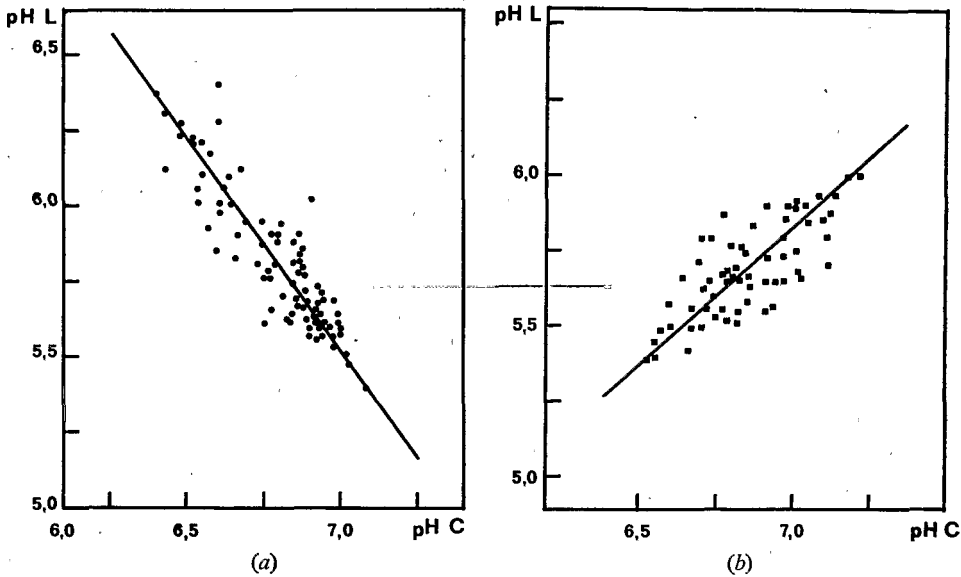


FIG. 7. — Corrélation entre pH cytoplasmique (pH C) et pH lutoïdique (pH L). (a) motif témoin ● : $pH C = 10,904 - 0,706 \times (pH L)$; $r = 0,797$ et $m = 0,911$; (b) motif surstimulé en dose ■ : $pH C = 0,592 + 1,098 \times (pH L)$; $r = 0,397$ et $m = 0,910$.

— Correlation between cytoplasmic pH (pH C) and lutoïdic pH (pH L). (a) control ●; (b) over-dose stimulation ■.

compartimentaux que la fréquence du traitement stimulant. Les pentes augmentent toutefois avec le cumul des stimulations témoignant de l'impact des traitements répétés.

Les stimulations perturbent donc profondément les rapports de pH existant entre les deux compartiments et le mécanisme agissant sur le gradient de pH évoqué pour le motif témoin ne peut plus rendre compte des phénomènes observés.

pH cytoplasmique/ ΔpH

Pour tous les motifs la corrélation est positive et THS, le niveau de signification étant cependant plus bas chez les arbres stimulés que chez les témoins (tableau III).

pH lutoïdique/ ΔpH

Pour tous les motifs, la corrélation est inverse THS, mais de niveau plus bas chez les arbres stimulés que chez les témoins. La corrélation la moins forte est observée pour le motif surstimulé en dose (tableau III).

Impact du pH cytoplasmique et du pH lutoïdique sur ΔpH

Chez le témoin, le pH cytoplasmique et le pH lutoïdique ont le même impact sur ΔpH ($r_{\text{cyt.}} = 0,932$ et $r_{\text{lut.}} = 0,959$) ce qui milite en faveur de la théorie assimilant les lutoïdes à une pompe à protons.

Chez les motifs stimulés on distingue deux cas différents. Dans le cas d'arbres stimulés à dose normale, l'ensemble des données montrent que les forts ΔpH transmembranaires sont associés essentiellement à des pH lutoïdiques très acides. C'est le contraire que l'on observe chez les arbres surstimulés en dose où les valeurs

élevées de ΔpH sont associées à des pH cytoplasmiques alcalins plutôt qu'à des pH lutoïdiques très acides. Ceci traduit le fait que la double dose de stimulant exerce un effet plus marqué sur l'alcalinisation de cytoplasme que la dose simple.

TABLEAU III

Corrélation par couple entre pH et production
Correlation between pH and latex yield

	Motif	Production MS (g/arbre/saignée)	pH cyto- plasmique	pH lutoïdique	ΔpH
Production MS (g/arbre/saignée)...	T	1	+ 0,675	- 0,636	+ 0,672
	S_n	1	+ 0,715	+ 0,055	+ 0,450
	S_d	1	+ 0,675	+ 0,272	+ 0,404
	S_f	1	+ 0,588	+ 0,367	+ 0,070
pH cytoplasmique...	T	-	1	- 0,808	+ 0,932
	S_n	-	1	+ 0,175	+ 0,554
	S_d	-	1	+ 0,374	+ 0,622
	S_f	-	1	+ 0,140	+ 0,530
pH lutoïdique.....	T	-	-	1	- 0,959
	S_n	-	-	1	- 0,720
	S_d	-	-	1	- 0,493
	S_f	-	-	1	- 0,756
ΔpH	T	-	-	-	1
	S_n	-	-	-	1
	S_d	-	-	-	1
	S_f	-	-	-	1

T, témoin; S_n , stimulation normale; S_d , surstimulation en dose; S_f , surstimulation en fréquence.

On peut supposer que l'alcalinisation du pH cytoplasmique sous l'effet de l'éthylène soit due à une réorientation du métabolisme de ce compartiment vers l'élaboration des substances alcalinisantes (NH_3 , acides aminés basiques) (résultats non publiés) ou(et) à la disparition des substances acidifiantes (citrate, malate) (TUPY et PRIMOT, 1976). Ceci modifierait l'équilibre amenant les particules lutoïdiques à pomper alors des molécules alcalinisantes ou à libérer une partie de leur contenu acide afin de maintenir l'équilibre dissymétrique transmembranaire.

Corrélation entre pH et production

Les résultats de l'analyse statistique (tableau III) montrent les corrélations suivantes :

pH cytoplasmique/production

Corrélation positive THS aussi bien pour le témoin que pour les trois motifs stimulés.

L'équation est du type exponentiel (fig. 8 a et b) :

$$\text{Production}_{(MS)} = be^{c \times \text{pHc}}$$

Le pH cytoplasmique apparaît ainsi comme un facteur important de la production des arbres, fait déjà signalé par COUPÉ (1977).

pH lutoïdique/production.

Corrélation inverse THS uniquement pour le témoin. Chez les arbres stimulés la relation devient positive. Le degré de signification croît avec l'intensité du traitement stimulant : NS pour la stimulation normale, S pour la surstimulation en dose et HS pour la surstimulation en fréquence.

ΔpH /production

Corrélation positive THS pour le témoin. Elle demeure positive HS pour les motifs stimulés à fréquence normale indépendamment de la dose. Il n'y a plus aucune corrélation (variation anarchique) chez le motif surstimulé en fréquence ce qui met en évidence la nature profonde des perturbations provoquées par ce type de traitement.

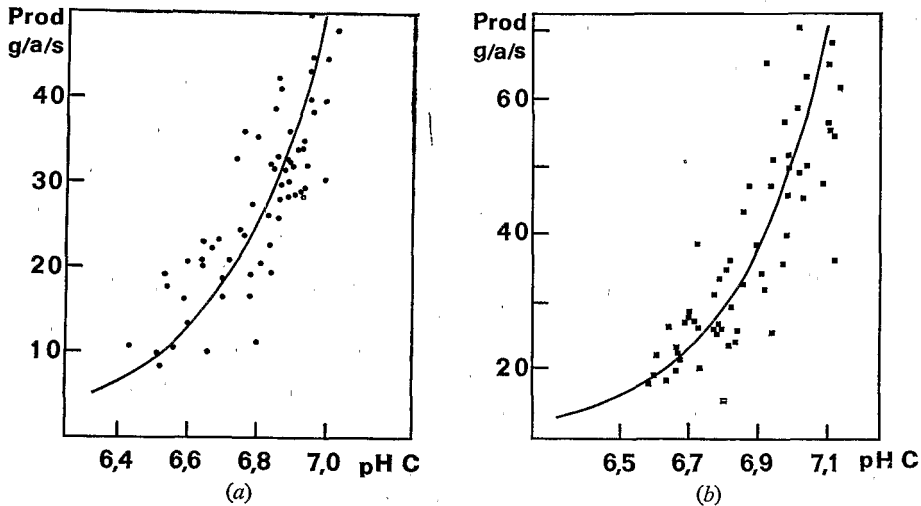


FIG. 8. — Corrélation entre production (grammes de matière sèche par arbre et par saignée) et pH cytoplasmique (pHC). (a) motif témoin ●; $r = 0,639$ et (b) motif surstimulé en dose ■; $r = 0,679$.

— Correlation between latex yield (grams dry weight/tree and tapping) and cytoplasmic pH (pHC) (a) control ●; (b) over-dose stimulation ■.

CONCLUSIONS

La présente étude a permis de confirmer et de préciser certains faits connus et de mettre en évidence des faits nouveaux. Nous les résumons ci-dessous.

La production du latex est favorisée par les facteurs suivants :

1° une teneur relativement faible en matière sèche du latex, sa fluidité accrue facilite son écoulement et est susceptible d'augmenter le rendement. Cette propriété est liée aux conditions climatiques coïncidant avec la saison humide;

2° un pH élevé du cytoplasme, siège des processus métaboliques très pH dépendants conduisant à la synthèse des chaînes isopréniques. Le pH optimal de la plupart des enzymes catalysant ces réactions se situe dans la région neutre ou légèrement alcaline;

3° la préservation de la compartimentation au niveau subcellulaire, de l'intégrité particulière, dont une des caractéristiques est la valeur élevée du ΔpH . La libération du contenu des éléments figurés dans le cytoplasme entraîne son acidification préjudiciable, à la fois, à la synthèse isoprénique et à l'écoulement du latex (coagulation). Les facteurs climatiques et les stades physiologiques ont une incidence sensible sur l'intégrité des organites.

Les faits expérimentaux plaident en faveur de l'hypothèse suivant laquelle le gradient transmembranaire de pH serait régité par le pompage par les lutoïdes des ions hydroxynium du cytoplasme.

La stimulation hormonale augmente la production du latex en agissant sur les paramètres suivants :

1° elle diminue la teneur en matière sèche;

2° elle protège l'intégrité des structures particulières (ΔpH élevé) à condition que la stimulation soit modérée;

3° elle augmente le pH cytoplasmique.

Les variations de pH compartimentaux observées après stimulation ne sont pas en accord avec l'hypothèse de COUPÉ (1977) suivant laquelle elles seraient dues au transport des protons du sérum cytoplasmique vers le sérum lutoïdique. En effet, une élévation du pH cytoplasmique est systématiquement accompagnée d'une augmentation du pH lutoïdique et non d'une baisse équivalente de ce pH. L'alcalinisation simultanée des deux compartiments pourrait être expliquée par une réorientation, sous l'effet de l'éthylène, des voies métaboliques dans le cytoplasme vers une élaboration des produits alcalinisants ou(ét) une consommation des substances acides. Ceci amènerait les lutoïdes à pomper les substances alcalinisantes ou à larguer une partie de leur contenu acide afin de maintenir l'équilibre dissymétrique transmembranaire.

L'effet bénéfique d'une stimulation hormonale sur la production du latex s'estompe avec les traitements répétés surtout lorsqu'ils sont trop fréquents. A la longue, ils peuvent entraîner des perturbations profondes du système laticifère conduisant à l'apparition des encoches sèches. La sensibilité aux traitements du clone GT 1 est plus grande que celle du clone PR 107. Cela pourrait être une caractéristique clonale. Mais cela pourrait également être dû au fait que le GT 1, étant naturellement plus haut producteur que PR 107, ne pouvait pas, sans préjudices, augmenter ses potentialités productrices.

Le mécanisme de l'apparition des zones improductives sur l'encoche peut être expliqué par une coagulation du latex en profondeur. La stimulation modérée provoque un gonflement des particules qui deviennent plus perméables. Une stimulation trop intensive, surtout en fréquence, peut entraîner un gonflement tel, avec le cumul des traitements rapprochés, qu'elle peut aboutir à la destruction des structures *in situ*. On voit alors diminuer le culot lutoïdique. Ceci favorise la coagulation du latex. Le phénomène peut être réversible lorsque le traitement n'est pas drastique et la coagulation pas trop profonde.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement M. C. Lioret du Centre d'Orsay de l'Université de Paris-Sud d'avoir bien voulu nous apporter ses critiques relatives à cet article.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAHAM P. D., WYCHERLEY P. R. et PAKIANATHAN S. W., 1968. — Stimulation latex flow in *Hevea brasiliensis* by 4-amino-3, 5, 6-trichloropicolinic acid. *J. Rubb. Res. Inst.*, Malaya, **20**, 291-305.
- BRZOWSKA-HANOWER J., HANOWER P. et LIORET C., 1978. — Étude du mécanisme de la coagulation du latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. II. Systèmes enzymatiques impliqués dans le processus. I. Phénol oxydases. *Physiol. vég.*, **16**, 231-254.
- COUPÉ M., 1977. — Études physiologiques sur le renouvellement du latex d'*Hevea brasiliensis*. Action de l'éthylène. Importance des polyribosomes. *Thèse Doc. d'État Sc. Nat.*, Montpellier.
- COUPÉ M. et LAMBERT C., 1977. — Absorption of citrate by the lutoïdes of latex and rubber production by *Hevea*. *Phytochem.*, **16**, 455-458.
- COUPÉ M., PUJARNISCLE S. et D'AUZAC J., 1972. — Compartimentation de diverses oxydo-reductases (peroxydase, o-diphénol oxydases et malate déshydrogénase) dans le latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. *Physiol. vég.*, **10**, 459-480.
- D'AUZAC J., BRZOWSKA J., HANOWER P., LAMBERT C., LIORET C. et NIAMIEN N'GORAN M., 1977. — Un modèle de structure vacuolaire isolée intacte. Les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis*. I. Accumulation et pénétration du citrate et de la L-lysine dans les lutoïdes. *Colloque international du C.N.R.S. n° 258. Échanges ioniques transmembranaires chez les végétaux*, Rouen et Paris-VII, 5-11 juillet 1976, C.N.R.S., 391-398.
- D'AUZAC J. et RIBAILLIER D., 1969. — L'éthylène, nouvel agent stimulant la production de latex chez l'*Hevea brasiliensis*. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, **268**, série D, 3046-3049.
- HANOWER P., BRZOWSKA J. et LIORET C., 1976. — Études du mécanisme de la coagulation du latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. I. Facteurs agissant sur la coagulation. *Physiol. vég.*, **14**, 677-693.
- HANOWER P., BRZOWSKA J. et NIAMIEN N'GORAN, 1977. — Absorption des acides aminés par les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis*. *Physiol. Plant.*, **39**, 299-304.
- JACOB J. L., 1970. — Particularité de la glycolyse et de sa régulation au sein du latex d'*Hevea brasiliensis*. *Physiol. vég.*, **8**, 395-411.
- JACOB J. L. et D'AUZAC J., 1969. — Sur quelques caractéristiques originales de la pyruvate-kinase du latex d'*Hevea brasiliensis*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **51**, 511-525.
- JACOB J. L. et D'AUZAC J., 1972. — La glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase du latex d'*Hevea brasiliensis*. Comparaison avec son homologue phosphorylante. *Eur. J. Biochem.*, **31**, 255-265.
- JACOB J. L., PREVOST J. C. et PRIMOT L., 1977. — Métabolisme du latex. Le carrefour phosphoénolpyruvique. *Rapport IRCA*.
- LAMBERT C., 1975. — Influence de l'ATP sur le pH intralutoïdique et sur la pénétration du citrate dans les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis*. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, **281**, série D, 1705-1708.
- RIBAILLIER D., 1972. — Quelques aspects du rôle des lutoïdes dans la physiologie et l'écoulement du latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. Action de produits libérant de l'éthylène. *Thèse Doc. d'État Sc. Nat.*, Abidjan.

- TUPY J., 1969. — Stimulatory effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 1-naphtylacetic acid on sucrose level, invertase activity and sucrose utilization in the latex of *Hevea brasiliensis*. *Planta*, **88**, 144-153.
- TUPY J., 1973. — The activity of latex invertase and latex production in *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. *Physiol. vég.*, **11**, 633-641.
- TUPY J. et PRIMOT L., 1976. — Control of carbohydrate metabolism by ethylene in latex vessels of *Hevea brasiliensis* Müll. Arg., in relation to rubber production. *Biol. Plant.*, Prague, **18**, 373-384.