

**RAPPORT DE MISSION EN COTE D'IVOIRE**

**4 septembre - 12 octobre 1989**

**J.C. PREVOT**



*Institut de Recherches sur le Caoutchouc*

*Département du Centre de Coopération Internationale  
en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)  
42, rue Scheffer 75116 Paris (France) - Tél. : (1) 47.04.32.15*

*Télex : 620871 INFRANCA PARIS*

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier très vivement Monsieur Yves BANCHI, Directeur du Centre de Bimbresso, Monsieur Z. KONE, Directeur Administratif pour nous avoir permis d'effectuer cette mission dans les meilleures conditions.

Mes remerciements vont également à MM. Jacques COMMERE, Régis LACROTTE et Eric SERRES pour l'aide qu'ils m'ont apportée pour la réalisation de mon travail et pour les différents échanges de vue que nous avons pu avoir.

Je voudrais que Jean-Marie ESCHBACH et tous les chercheurs trouvent ici ma reconnaissance pour l'accueil et le temps qu'ils m'ont consacré tout au long de mon séjour.

Tout le personnel du laboratoire de physiologie et plus particulièrement Marcelin KOFFI et Gaston DJANTO sont à remercier pour le travail accompli dans des conditions parfois difficiles.

\* \*

\*

**CALENDRIER DES ACTIVITES**

04 septembre	Départ de Montpellier.
05 septembre	Visite M. Banchi. Discussion programme mission avec J. Commère et E. Serres.
06 septembre	Visite en plantation M. Serres pour étude $\mu$ DL en CES. Repérage des arbres au champ.
07 septembre	Prélèvement de latex GT 1. Préparation des solutions pour expérimentation.
08 septembre	Essais de dosage PPase lutoïdique après congélation et décongélation du clone GT 1 du 7 septembre.
09 septembre	Essais de dosage du pyrophosphate sur sérum cytoplasmique.
11 septembre	Prélèvement de latex clone PB 217. Essais activité PPase lutoïdique en partant du latex contenant ou non du molybdate d'ammonium.
12 septembre	Prélèvement de latex clone PB 235. Essais avec ou sans molybdate pour dosage du pyrophosphate.
13 septembre	Prélèvement de latex clone GT 1. Derniers essais de dosage du pyrophosphate et d'activité PPase lutoïdique.
14 septembre	Prélèvement latex clone PB 217.
15 septembre	" " " PB 235.
16 septembre	" " " GT 1.
18 septembre	" " " PB 217.
19 septembre	" " " PB 235.
20 septembre	" " " GT 1.
21 septembre	" " " PB 217.
22 septembre	" " " PB 235. Visite à H. Chrestin IRRSDA.
23 septembre	" " " GT 1. Stimulation 10 arbres clone PB 217.
24 septembre	Stimulation 10 arbres clone PB 235.

- 25 septembre Prélèvement latex clone PB 217.  
1e saignée après stimulation.  
Stimulation 6 arbres clone GT 1.  
Arrivée J.L. Jacob.
- 26 septembre Prélèvement latex clone PB 235.  
1e saignée après stimulation.
- 27 septembre Prélèvement latex clone GT 1.  
1e saignée après stimulation.  
Visite H. Chrestin, problème biologie moléculaire.
- 28 septembre Prélèvement latex clone PB 217.  
2e saignée après stimulation.  
Discussion  $\mu$ DL E. Serres, J.L. Jacob, J. Commère,  
R. Lacrotte.
- 29 septembre Prélèvement latex PB 235.  
2e saignée après stimulation.  
Visite en plantation des systèmes d'exploitation avec  
J. Commère.
- 30 septembre Prélèvement latex clone GT 1.  
2e saignée après stimulation.
- 02 octobre Prélèvement latex clone PB 217.  
3e saignée après stimulation.  
Visite plantation et usine Ousrou et Toupah avec  
M. Hamel et A. Lemoine.
- 03 octobre Prélèvement latex clone PB 235.  
3e saignée après stimulation.
- 04 octobre Prélèvement latex clone GT 1.  
3e saignée après stimulation.  
Discussions avec J.L. Jacob et H. Chrestin programme  
biologie moléculaire, thème de thèse V. Pujade-  
Renaud.
- 05 octobre Prélèvement latex clone PB 217.  
4e saignée après stimulation.
- 06 octobre Prélèvement latex clone PB 235.  
4e saignée après stimulation.
- 07 octobre Prélèvement latex clone GT 1.  
4e saignée après stimulation.  
Réunion biologie moléculaire avec MM. J.L. Jacob,  
J.M. Eschbach, H. Chrestin, A. Kush, X. Gidrol,  
V. Pujade-Renaud, E. Serres, R. Lacrotte, Y. Banchi,  
S. Obouayeba.
- 09 octobre Préparation des résultats.  
Mise en place de nouveaux protocoles.  
Réunion encoche sèche.
- 10 octobre Discussion E. Serres et R. Lacrotte sur avancement  
thèses.

**11 octobre**      Visite au champ des microboutures.  
Discussions    expérimentations    A.    Leconte    et  
C. Drenoux.

**12 octobre**      Visite à la plantation SAPH de Bongo pour suivi de  
μDL industriel avec R. Lacrotte.  
Fin de la mission.

\*    \*  
\*    \*

Au cours de cette mission, outre les échanges que j'ai pu avoir avec les différents chercheurs et plus particulièrement avec ceux du service Exploitation-Physiologie, j'ai pu, non seulement rencontrer les cadres de la SAPH pour discuter des problèmes exploitation et encoche sèche, mais également visiter les usines de Toupah (latex centrifugé) et d'Ousrrou (technologie "classique")

J'ai pu également participer à une opération de prélèvement de latex à Bongo dans le cadre du diagnostic latex industriel.

Le but de cette mission était orienté principalement autour du métabolisme du pyrophosphate.

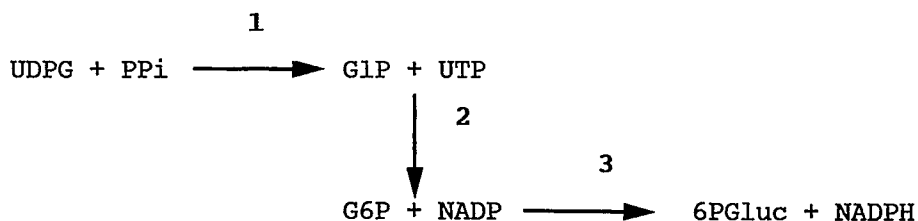
Trois expérimentations étaient prévues :

1. Essais du dosage du pyrophosphate dans le sérum cytoplasmique selon la technique spectrophotométrique utilisant l'UDPG pyrophosphorylase,
2. Dosage des activités pyrophosphatases liées aux membranes des lutoïdes,
3. Activités pyrophosphatases de sérum cytosolique provenant d'arbres témoins et stimulés.

En outre la préparation de matériel végétal pour les recherches complémentaires au laboratoire de Montpellier a été réalisée. Toutefois, un problème lié au fonctionnement de la pompe à vide du lyophilisateur, nous a fait perdre une partie de ce matériel, ceci indépendamment de la bonne volonté de chacun.

## **I. ESSAIS DE DOSAGE DU PYROPHOSPHATE DANS LE SERUM CYTOPLASMIQUE**

**Principe** L'uridine diphosphoglucose pyrophosphorylase, à cause de sa spécificité, n'est pas seulement utilisée pour la détermination de l'UTP ou de l'UDPG, mais également pour la détermination spécifique du pyrophosphate inorganique en utilisant la phosphoglucomutase et la glucose 6 phosphate déshydrogénase comme enzymes auxiliaires selon le schéma suivant :



1 Uridine Diphospho Glucose pyrophosphorylase

2 Phosphoglucomutase

3 Glucose 6 Phosphate déshydrogénase

**Méthodologie** L'UDPG pyrophosphorylase de foie de boeuf utilisée est inhibée par les ions sulfate aussi toutes les enzymes utilisées doivent être traitées au préalable.

La phosphoglucomutase en sulfate d'ammonium est centrifugée et le précipité est repris avec du tampon acétate 0,05 M pH 5,3 pour obtenir une solution à 2 mg de protéine par ml.

La glucose 6 phosphate déshydrogénase est dialysée en tampon phosphate de sodium 0,05 M pH 7,6 et ajustée avec ce même tampon à 2 mg de protéine par ml.

Il est nécessaire d'utiliser du glucose 1,6-diP, activateur de la phosphoglucomutase.

<b>Dosage</b>	Tampon TRIS-HCl 50 mM + 5 mM MgCl <sub>2</sub> pH 8,2	2,0 ml
	Essai déprotéinisé et neutralisé	0,5 ml
	NADP à 40 mM	25 µl (2 mM)
	Glucose 1,6-diphosphate à 1 mM	30 µl (17 µM)
	G6PdH	10 µl (1 u)
	→ Glucose 6 Phosphate	
	Phosphoglucomutase	10 µl (3 u)
	→ Glucose 1 Phosphate	
	Uridine Diphosphoglucose à 120 mM	30 µl (2 mM)
	UDPG pyrophosphorylase	25 µl (3,30 u)
	→ PPi	

**Résultats** Compte tenu des problèmes inhérents au spectrophotomètre Beckman, nous n'avons pu réaliser de dosages de façon correcte. Cependant, nous avons préparé à chaque essai, 2 ml de sérum C

déprotéinisé à l'acide perchlorique, puis neutralisé afin d'être lyophilisé et dosé à Montpellier.

Un problème survenu lors de la lyophilisation nous a fait perdre tous ces échantillons déprotéinisés.

Nous pensons cependant pouvoir doser le PPI en partant de sérum cytoplasmique préparé par ailleurs lors de cette mission (cf schéma).

## II. DOSAGE DES ACTIVITES PYROPHOSPHATASES LIEES AUX LUTOIDES DE LATEX FRAIS

Compte tenu des résultats déjà acquis au laboratoire de Montpellier (C.R Coll. Expl. Physiol. Hevea 1988, 195-215 et Plant Physiol. Biochem. 1988, 27, 355-364) sur cette enzyme, il paraissait intéressant de pouvoir effectuer des dosages d'activités potentielle et spécifique à partir des lutoïdes provenant d'arbres des différentes origines (différents clones, stimulés ou non).

Le principe de la préparation était le suivant :

Après centrifugation du latex 30' à 35 000 g afin d'obtenir, d'une part le sérum cytoplasmique, et d'autre part les lutoïdes, ces derniers étaient lavés 3 fois en tampon TRIS-HCl 50 mM + 0.33 M de Mannitol + 100 µM molybdate d'ammonium pH 7,5.

Les lutoïdes étaient alors congelés une nuit.

Une centrifugation le lendemain permettait de récupérer le sérum lutoïdique, et le culot était repris en tampon hypotonique (TRIS HCl 50 mM pH 7,5 + 5 mM MgSO<sub>4</sub> + 1 mM DTT ou MSH) et lavé 3 fois dans les mêmes conditions.

Le dosage était effectué sur une aliquote de ces membranes lavées.

Une seule ultracentrifugeuse étant fonctionnelle, seule la première partie de l'expérimentation (préparation des lutoïdes avec lavage avec Mannitol 0,33 M) a pu être effectuée. En effet, l'ultracentrifugeuse n'est fonctionnelle qu'avec un froid et un vide parfait ce qui demande, pour une centrifugation de 15', 1 heure de manipulation. Il nous a semblé préférable de préparer le matériel sur



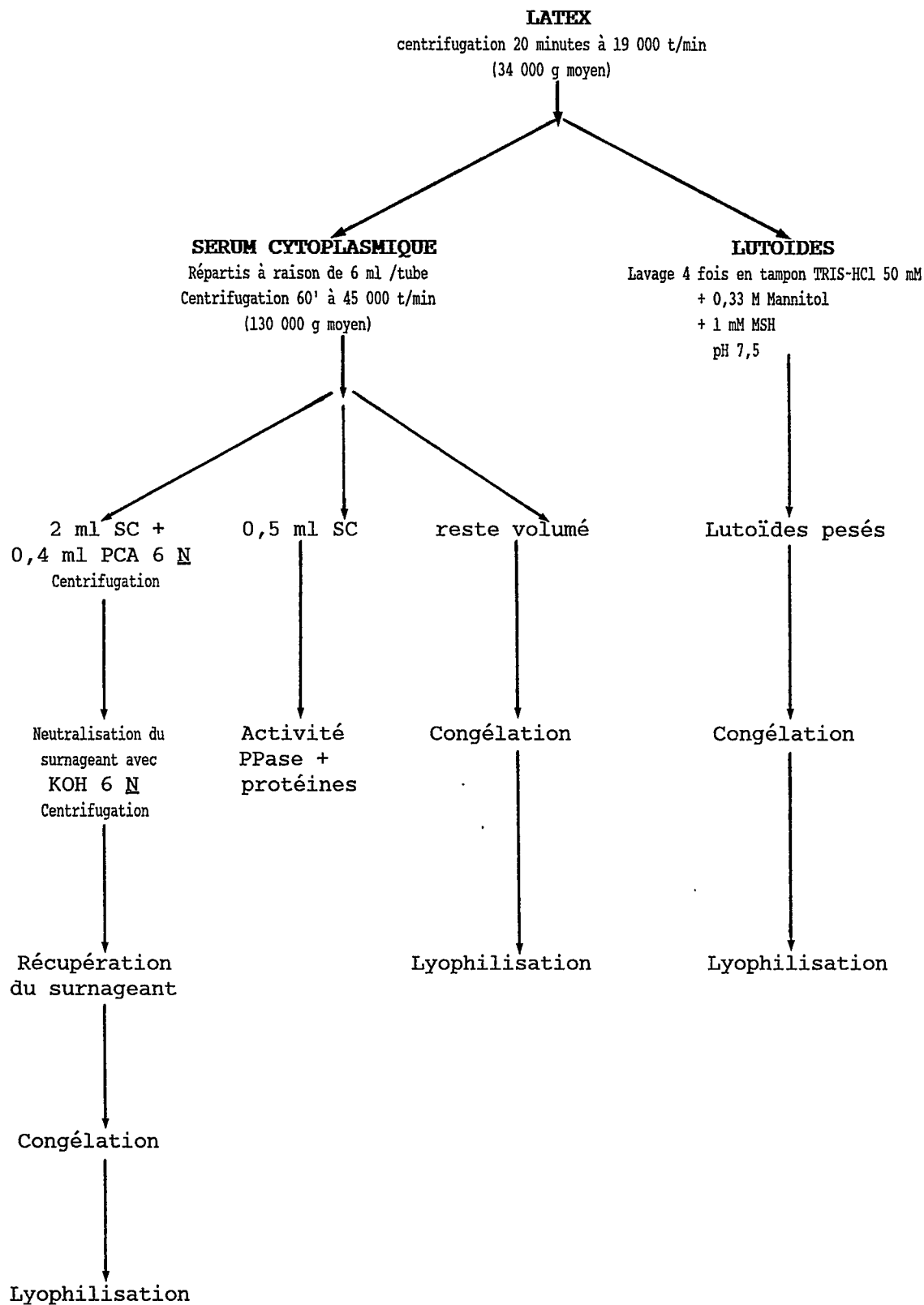
place et d'effectuer la deuxième partie de l'expérimentation au laboratoire de Montpellier.

### **III. DOSAGE DES ACTIVITES PYROPHOSPHATASE CYTOSOLIQUE ET PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL**

Compte tenu des différents problèmes rencontrés, nous avons établis un protocole de remplacement.

Le latex est récolté au champ, arbre par arbre, dans des tubes d'environ 40 ml, entouré de glace. Lorsque les tubes sont pratiquement pleins, le latex des 10 arbres "témoins" est mélangé, de même que celui des 10 arbres "stimulés". Après homogénéisation, les prélèvements sont effectués pour les diverses mesures du diagnostic latex.

De retour au laboratoire, le schéma suivant est alors suivi :



**P.S.** Lors de la centrifugation du sérum cytoplasmique durant 1 heure à 45 000 t/min nous avons obtenu un léger culot sur lequel nous avons effectué également des activités PPase.

Trois clones ont été choisis saignés en d/3 6d/7 :

- PB 217 10 arbres témoins, 10 arbres stimulés, saignés le lundi et jeudi,
- PB 235 10 arbres témoins, 10 arbres stimulés, saignés le mardi et vendredi,
- GT 1 6 arbres témoins, 6 arbres stimulés, saignés le mercredi et samedi,

Après 3 saignées de contrôle, la stimulation est effectuée à 2,5 % sur panneau, sernamby enlevé, lors de l'intervalle d/4, 48 heures avant la saignée.

Afin de contrôler les variations dues à la saignée, et celles obtenues par la stimulation, un diagnostic latex a été effectué à chaque saignée en mesurant l'extrait sec, le phosphore, les RSH, les sucres.

Deux contrôles de production ont été fait, l'un sur 3 saignées avant la stimulation, l'autre sur 4 saignées après la stimulation.

Les activités pyrophosphatases du sérum cytoplasmique et des culots obtenus après centrifugation à 45 000 t/min durant 1 heure ont été mesurés de la façon suivante :

**Tampon** TRIS HCl 50 mM + 1 mM MSH + 5 mM MgSO<sub>4</sub> + 100 µM Mo pH 8,2  
**Incubation** sérum cytoplasmique 25 et 50 µl/5 ml tampon,  
1 culot et 2 culots repris dans 5 ml de tampon.

Les incubations sont démarrées par l'adjonction de 1 mM de pyrophosphate. Quatre prélèvements sont effectués en fonction du temps (0, 15', 30', 45') à raison de 1 ml du milieu d'incubation et mis dans des tubes Eppendorf contenant 0,5 ml de TCA à 10 %.

Une centrifugation permet d'éliminer le culot de protéines. Les dosages de Pi formés sont effectués sur le surnageant :

- 750 µl surnageant déprotéinisé
- 500 µl de réactif de Pi\*

**\*Réactif de Pi**

- 2,5 ml de molybdate d'ammonium à 10 % dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 N
- 22,5 ml H<sub>2</sub>O
- 1,25 g FeSO<sub>4</sub>

Les mesures de DO sont effectuées à 750 nm

Une courbe d'étalonnage est effectuée dans les mêmes conditions entre 0 et 1 mM de Pi

Pi 5 mM (μl)	0	25	50	75	100	150	200
H <sub>2</sub> O (μl)	1000	975	950	925	900	850	800
TCA à 10 %				500 μl			

750 μl de ces motifs sont additionnés de 500 μl de réactif de Pi

### RESULTATS

Il apparaît au vu des résultats exposés en annexe et résumés dans les tableaux et la figure suivants, que les différences clonales se retrouvent nettement au niveau du diagnostic latex, de même que dans la réponse à la stimulation.

**Les activités pyrophosphatases cytosoliques** (Figure 1). Si peu de différence apparaît entre arbres témoins et stimulés, il semble cependant qu'il y ait des variations au niveau clonal. En effet, si chez le clone PB 217 l'activité des témoins, est de 0,70 mM ± 0,13 de Pi hydrolysé par minute, par ml de sérum, celle-ci est de 0,58 mM ± 0,07 pour le clone PB 235 et de plus de 0,98 mM ± 0,08 pour le clone GT 1.

Tous motifs confondus les valeurs respectives sont de 0,76 ± 0,18 ; 0,60 ± 0,07 et 0,96 ± 0,07. Ces valeurs sont significativement différentes entre le clone GT 1 et les deux autres clones qui sont eux-mêmes très différents.

Au vu des chiffres, si certaines variations intraclonales apparaissent, les variations interclonales sont nettement plus importantes et demanderont à être précisées.

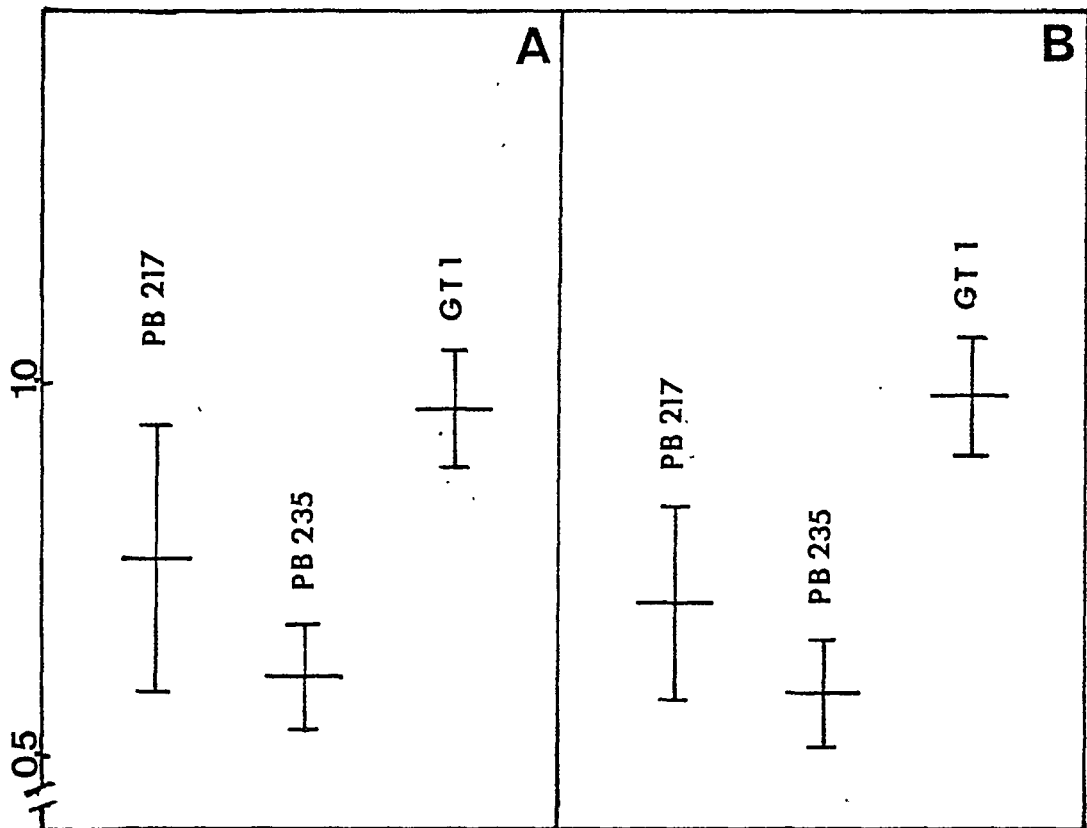


Figure 1 Activités potentielles de la pyrophosphatase du sérum cytoplasmique, chez les trois clones étudiés.  
A- Tous motifs confondus (témoins et stimulés)  
B- Arbres témoins

**Des activités pyrophosphatases effectuées à partir des "culots"** obtenus par centrifugation à 120 000 g du sérum cytoplasmique sont très faibles et ne dépassent que rarement 5 % de l'activité cytosolique totale. Cela peut être dû à une certaine "pollution" de ce culot par la PPase du cytosol et ce, malgré les précautions prises (lavages des culots avant incubation).

Il faut remarquer que les lutoïdes récupérés correspondent à 13 % en poids du latex pour le clone PB 217, la moitié seulement est récupérée chez le clone PB 235 (6 %) et 7,5 % chez le GT 1.

Le clone PB 235 ne présente pas la plupart du temps, un culot de centrifugation compact, mais des lutoïdes "floconneux". Ce phénomène s'étant souvent répété, il serait utile qu'une étude plus approfondie puisse être entreprise sur l'état des lutoïdes de certains clones et surtout sur leur pouvoir de fonctionnement. Il paraît logique de penser que des lutoïdes intacts et homogènes sont plus actifs que des lutoïdes "dégradés". Une expérimentation dans ce sens pourrait être effectuée en prenant le clone PB 235 et le clone IR 22 (contenant beaucoup de lutoïdes).

Le diagnostic latex nous ayant aidé au suivi de la réponse à la stimulation, nous confirme un certain nombre de résultats déjà acquis.

**L'extrait sec** (Figure 2) diminue dès la saignée après la stimulation chez tous les clones avec une rémanence très importante pour le PB 217, au contraire du PB 235 dont la chute est moindre et où la valeur initiale est retrouvée très rapidement. Le GT 1 se situant entre les deux.

**Le saccharose** (Figure 2) s'il diminue transitoirement chez le clone PB 217, un effet sink s'observe ensuite alors que celui-ci apparaît immédiatement chez le GT 1. Pour le PB 235 une légère augmentation est observée (de l'ordre de 1 mM), mais celle-ci était déjà initiée à la saignée avant stimulation et ne correspond sûrement pas à un effet sink.

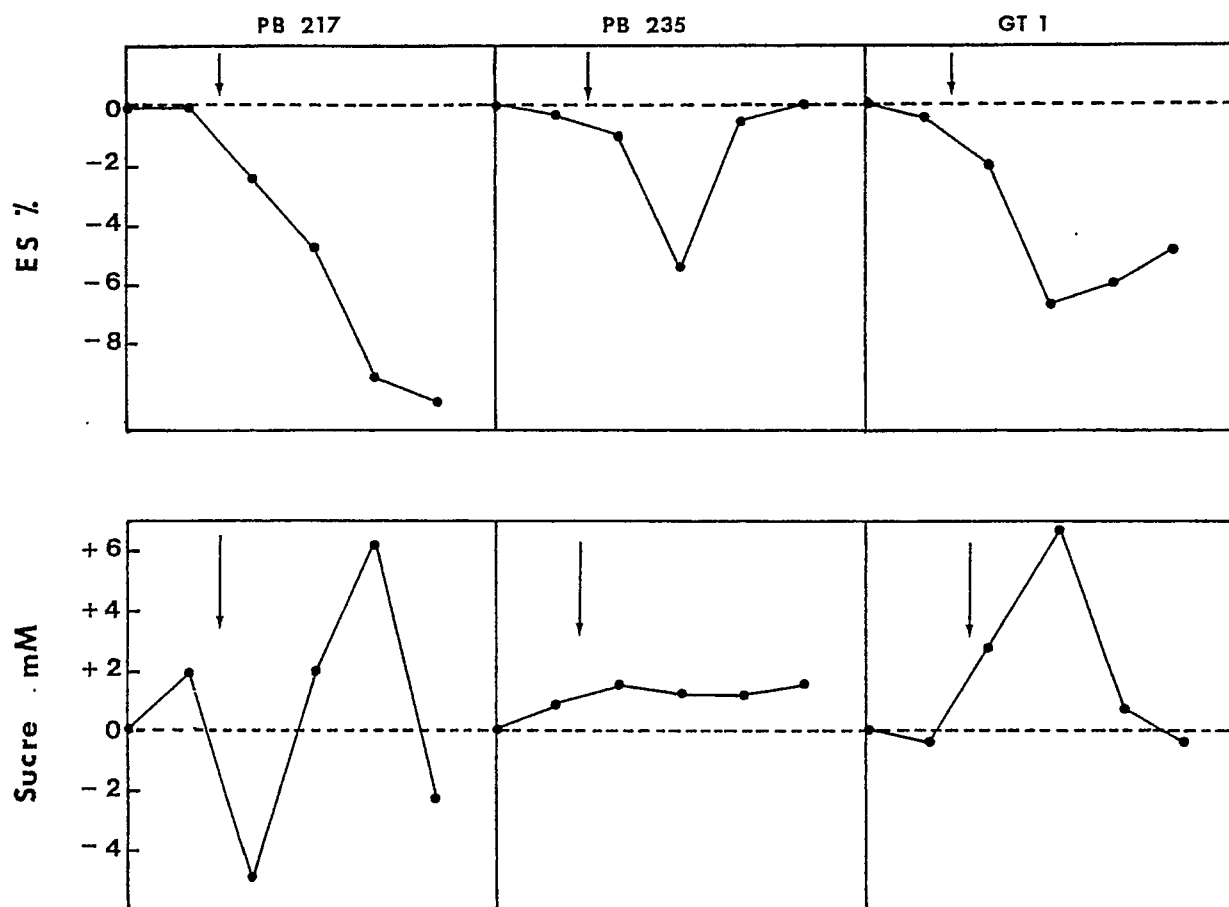


Figure 2 Variations de l'extrait sec et du saccharose, chez les trois clones étudiés avant et après stimulation à l'Ethrel.

$$\Delta = (S_n - T_n) - (S_o - T_o)$$

Les thiols (Figure 3) chutent dans tous les cas, mais contrairement à l'extrait sec, chez le clone PB 217 la valeur de ces composés revient rapidement à la normale et la dépasse, alors que la diminution, même si elle est plus faible chez le clone PB 235 se maintient durant les 4 saignées. Il est à souligner que si les thiols étaient relativement faibles chez le PB 235 avant la stimulation (0,46 mM) ils chutent à 0,37 mM après l'action de l'Ethrel, probablement au-dessous d'un seuil critique en deçà duquel leur action de protection contre les phénomènes de sénescence sont insuffisants.

Le phosphore (Figure 3) quant à lui s'il augmente après la stimulation chez le PB 217 et dans une moindre mesure chez le PB 235, il diminue de façon importante pour le clone GT 1 avant d'augmenter très nettement par la suite.

Ces résultats confirment, s'il en était besoin, les différences de réactivité de ces clones à la stimulation. Ceci se retrouve également pour les productions (Figure 4) avant et après stimulation où le PB 217 et le GT 1 voient leur production plus que doubler alors que celle du PB 235 n'est que de 66 %. Ces différences avant/après stimulation sont significativement différentes chez le clone PB 217 et GT 1 et ne le sont pas pour le clone PB 235.

Production en g/a/s

	PB 217		PB 235		GT 1	
	T	S	T	S	T	S
Avant stimulation	48,9	36,5	33,8	47,1	33,0	30,8
Après stimulation	42,1	78,0	25,9	67,0	31,4	63,7
% AV/AP	-4 %	+113 %	-24 %	+42 %	-4,8 %	+106,8 %
	+ 117 %		+ 66 %		+ 112 %	

Des études complémentaires sur les activités pyrophosphatases lutoïdiques, ainsi que l'analyse de certains composés du sérum cytoplasmique seront entrepris à Montpellier et feront l'objet d'un rapport de recherche intégrant tous les résultats.



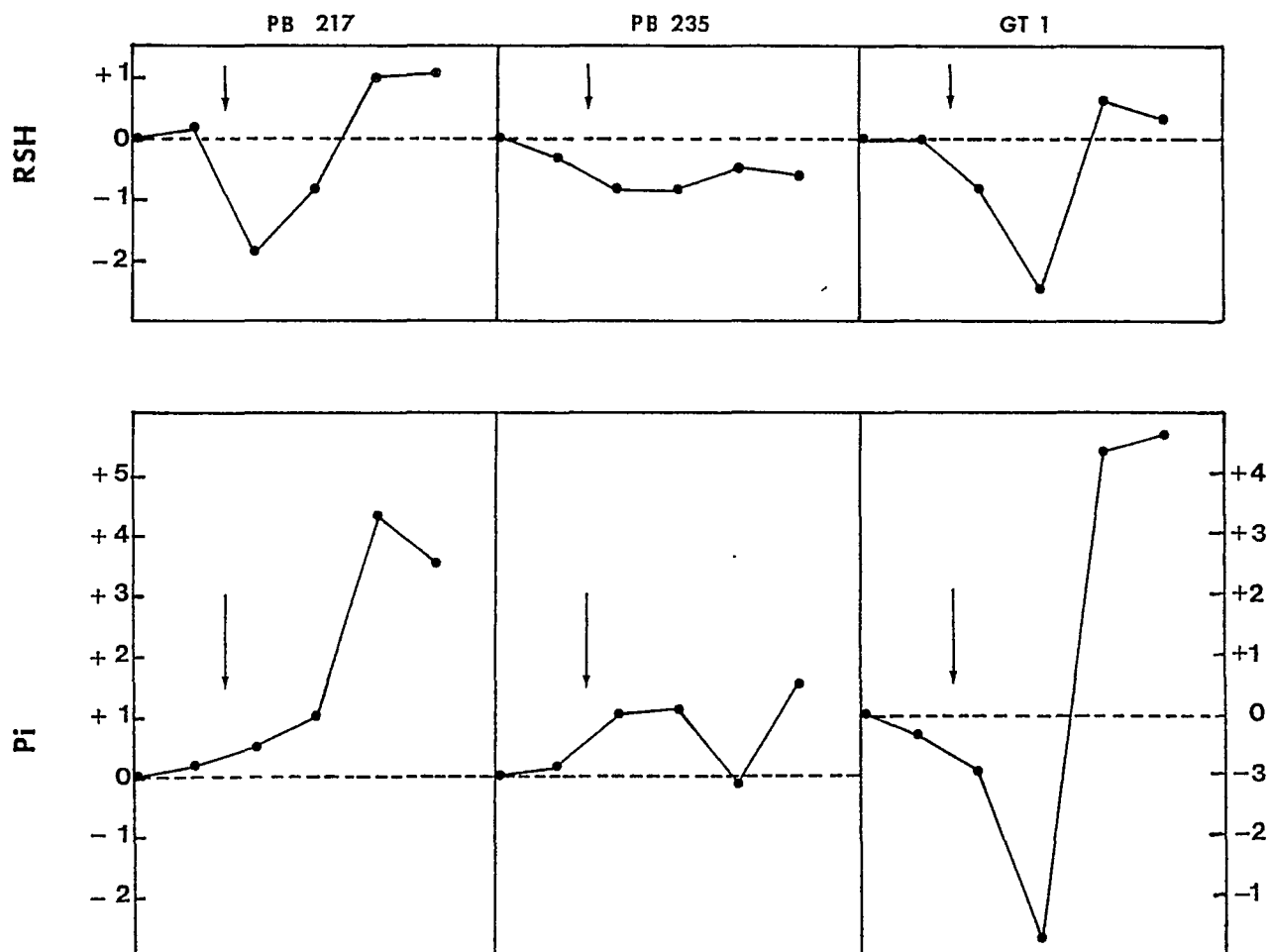


Figure 3 Variations du phosphore inorganique et des thiols, chez les trois clones étudiés avant et après stimulation à l'Ethrel.  
 $\Delta = (S_n - T_n) - (S_0 - T_0)$

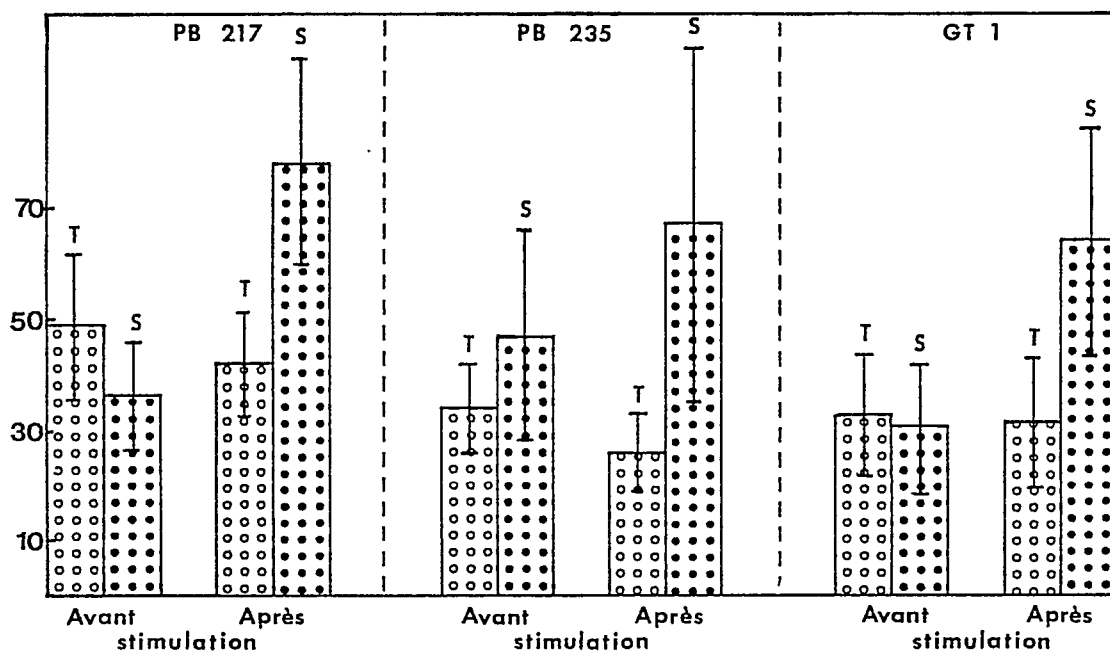


Figure 4 Production en g/a/s des arbres témoins et stimulés, avant et après stimulation sur les trois clones étudiés. (Moyennes de trois saignées avant et quatre saignées après la stimulation).

**RECAPITULATION DES RESULTATS**

PB 217

Date		Volume latex	Volume sérum C	% SC/latex	Poids lutoïdes	% culot/latex	PPase sérum C	PPase culots	% activité culot/SC	ES	Sucre	RSH	Pi	Prod
14.09.89	T	210	44	21	5,4	2,6								
	S	215	54	25	2,6	1,2								
18.09.89	T	330	49	15	34,5	10,0				37,1	16,5	0,69	18,7	
	S	355	35	10						33,2	18,5	0,66	17,5	
21.09.89	T	315	76	24	31,5	10,6	0,50			36,0	15,5	0,69	19,1	
	S	345	68	20			0,61			36,5	19,7	0,68	18,1	
Moyennes	T	285	56	20						36,6	16,0	0,69	18,9	48,9
	S	305	52	17						34,9	19,1	0,67	17,8	36,5
25.09.89	T	325	79	24	39,5	12	0,63	0,038	6,0	35,9	15,7	0,72	18,2	
	S	340	76	22	37,3	11	0,67	0,030	4,5	34,0	13,2	0,51	17,5	
28.09.89	T	335	76	23	32,2	10	0,81	0,011	1,4	37,8	16,3	0,58	16,4	
	S	350	73	21	19,2	5	1,17	0,014	1,2	33,6	20,6	0,47	16,2	
02.10.89	T	330	80	24	59,7	18	0,90	0,008	0,9	39,9	16,9	0,63	17,1	
	S	325	70	21	68,5	21	0,97	0,007	0,7	31,3	25,5	0,70	20,2	
05.10.89	T	325	71	22	38,5	12	0,63	0,015	2,4	38,3	24,1	0,63	17,1	
	S	350	90	26	19,2	5	0,65	0,009	1,3	28,8	24,3	0,72	19,5	
Moyennes	T	329	77	23	41,7	13	0,74	0,010	1,4	38,0	18,3	0,64	17,2	42,1
	S	341	77	23	36,1	11	0,87	0,015	1,7	31,9	20,9	0,60	18,4	78,0

PB 235

Date		Volume latex	Volume sérum C	% SC/latex	Poids lutoïdes	% culot/latex	PPase sérum C	PPase culots	% activité culot/SC	ES	Sucre	RSH	Pi	Prod
15.09.89	T	290	32	11										
	S	340	36	11										
19.09.89	T	300	58	19	16,9	5,6				41,7	5,6	0,50	19,7	
	S	300	54	18	17,5	5,8				40,3	3,8	0,50	19,2	
22.09.89	T	275	52	19	19,3	7,0	0,55	0,009	1,6	39,4	3,3	0,43	21,8	
	S	300	52	17	20,7	6,9	0,60	0,010	1,7	37,8	2,4	0,40	21,5	
Moyennes	T	288	47	16	18,1	6,3				40,6	4,5	0,47	20,8	33,8
	S	313	47	15	19,1	7,0				39,1	3,1	0,45	20,4	47,1
26.09.89	T	280	47	17	6,0	2,1	0,51	0,028	5,5	39,7	2,5	0,39	15,7	
	S	295	73	25	12,4	4,2	0,54	0,036	6,7	37,4	2,3	0,31	16,4	
29.09.89	T	275	42	15			0,73	0,006	0,8	41,7	2,9	0,38	16,4	
	S	235	67	28	12,4	5,3	0,68	0,014	2,1	34,9	2,4	0,30	17,0	
03.10.89	T	235	45	19	13,7	5,8	0,58	0,008	1,4	43,0	3,1	0,41	16,7	
	S	220	33	15	11,6	5,3	0,67	0,008	1,2	41,1	2,5	0,36	16,1	
06.10.89	T	265	51	19	8,1	3,1	0,51			40,7	2,8	0,38	17,5	
	S	265	53	20	15,0	5,7	0,63			38,3	2,6	0,44	18,5	
Moyennes	T	264	46	17	9,3	3,5	0,58	0,014	2,4	41,3	2,8	0,39	16,6	25,9
	S	254	56	22	12,9	5,0	0,63	0,019	3,0	37,9	2,5	0,35	17,0	67,0

GT 1

Date		Volume latex	Volume sérum C	% SC/latex	Poids lutoïdes	% culot/latex	PPase sérum C	PPase culots	% activité culot/SC	ES	Sucre	RSH	Pi	Prod
16.09.89	T	200	26	13										
	S	190	25	13										
20.09.89	T	200	33	17	8,6	4,3				36,8	7,0	0,75	11,4	
	S	206	33	16	13,0	6,3				35,7	8,0	0,72	10,9	
23.09.89	T	166	36	22	14,5	8,7	0,96	0,017	1,8	35,1	5,7	0,76	13,5	
	S	166	36	22	15,2	9,2	0,92	0,015	1,6	33,7	6,4	0,73	12,7	
Moyennes	T	189	32	17	8,6	6,5				36,0	6,4	0,76	12,5	33,0
	S	187	31	17	13,0	7,8				34,7	7,2	0,73	11,8	30,8
27.09.89	T	185	32	17	12,4	6,7	1,08	0,031	2,9	37,0	6,5	0,65	12,3	
	S	180	31	17	19,3	10,7	0,98	0,029	3,0	33,9	10,2	0,44	10,9	
30.09.89	T	190	35	18	12,0	6,3	1,06	0,026	2,4	36,4	6,9	0,76	12,8	
	S	170	40	23	11,8	6,9	0,96	0,020	2,1	28,7	14,6	0,49	8,6	
04.10.89	T	190	42	22	14,3	7,5	0,83	0,007	0,8	33,7	9,8	0,58	10,2	
	S	180	53	29	13,3	7,4	0,78	0,008	1,0	26,5	11,4	0,61	14,1	
07.10.89	T	135	24	18			0,98			36,3	5,8	0,61	12,5	
	S	135	24	18			1,05			30,4	6,4	0,61	16,8	
Moyennes	T	175	33	19	12,9	6,8	0,99	0,021	2,0	35,9	7,3	0,65	12,0	31,4
	S	166	37	22	14,8	8,3	0,94	0,019	2,0	29,9	10,7	0,54	12,6	63,7

**ANNEXES**

---

Date <b>14.09.89</b>	Clone <b>PB 217</b>	le Saignée avant stimulation	
Volume de latex		T : <b>210 ml</b>	S : <b>215 ml</b>
Volume de sérum cytoplasmique		T : <b>44 ml</b>	S : <b>54 ml</b>
Poids des lutoïdes		T : <b>5,4 g</b>	S : <b>2,0 g</b>
Activité pyrophosphatase			
	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min 1 culot	2 culots
Témoin			
Stimulé			
Diagnostic latex			
	ES	Sucre	RSH Pi
Témoin			
Stimulé			

---

Date <b>15.09.89</b>	Clone <b>PB 235</b>	le Saignée avant stimulation	
Volume de latex		T : <b>290 ml</b>	S : <b>340 ml</b>
Volume de sérum cytoplasmique		T : <b>31,5 ml</b>	S : <b>36,0 ml</b>
Poids des lutoïdes		T : <b>-</b>	S : <b>-</b>
Activité pyrophosphatase			
	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min 1 culot	2 culots
Témoin			
Stimulé			
Diagnostic latex			
	ES	Sucre	RSH Pi
Témoin			
Stimulé			

---

Date <b>16.09.89</b>	Clone <b>GT 1</b>	le Saignée avant stimulation	
Volume de latex		T : <b>200 ml</b>	S : <b>190 ml</b>
Volume de sérum cytoplasmique		T : <b>26 ml</b>	S : <b>25 ml</b>
Poids des lutoïdes		T : <b>-</b>	S : <b>-</b>
Activité pyrophosphatase			
	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min 1 culot	2 culots
Témoin			
Stimulé			
Diagnostic latex			
	ES	Sucre	RSH Pi
Témoin			
Stimulé			

---



---

Date **18.09.89**                      Clone **PB 217**                      2e Saignée avant stimulation

Volume de latex    T : **330 ml**    S : **355 ml**  
 Volume de sérum cytoplasmique    T : **49 ml**    S : **35 ml**  
 Poids des lutoïdes    T : **34,5 g**    S : **-**

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min 1 culot	2 culots
Témoin			
Stimulé			

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	<b>37,1</b>	<b>16,1</b>	<b>0,69</b>	<b>18,7</b>
Stimulé	<b>33,2</b>	<b>18,5</b>	<b>0,66</b>	<b>17,5</b>

---

Date **19.09.89**                      Clone **PB 235**                      2e Saignée avant stimulation

Volume de latex    T : **300 ml**    S : **300 ml**  
 Volume de sérum cytoplasmique    T : **58 ml**    S : **54 ml**  
 Poids des lutoïdes    T : **16,9 g**    S : **17,5 g**

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min 1 culot	2 culots
Témoin			
Stimulé			

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	<b>41,7</b>	<b>5,6</b>	<b>0,50</b>	<b>19,7</b>
Stimulé	<b>40,3</b>	<b>3,8</b>	<b>0,50</b>	<b>19,2</b>

---

Date **20.09.89**                      Clone **GT 1**                      2e Saignée avant stimulation

Volume de latex    T : **200 ml**    S : **206 ml**  
 Volume de sérum cytoplasmique    T : **33 ml**    S : **33 ml**  
 Poids des lutoïdes    T : **8,6 g**    S : **13,0 g**

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min 1 culot	2 culots
Témoin			
Stimulé			

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	<b>36,8</b>	<b>7,0</b>	<b>0,75</b>	<b>11,4</b>
Stimulé	<b>35,7</b>	<b>8,0</b>	<b>0,72</b>	<b>10,9</b>

---

---

Date 21.09.89                      Clone PB 217                      3e Saignée avant stimulation

Volume de latex    T : 315 ml                      S : 345 ml  
Volume de sérum cytoplasmique                      T : 76 ml                      S : 68 ml  
Poids des lutoïdes    T : 31,5 g                      S : 2,9 g

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min	
		1 culot	2 culots
Témoin	0,50	-	-
Stimulé	0,61	-	-

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	36,0	15,5	0,69	19,1
Stimulé	36,5	19,7	0,68	18,1

---

Date 22.09.89                      Clone PB 235                      3e Saignée avant stimulation

Volume de latex    T : 275 ml                      S : 300 ml  
Volume de sérum cytoplasmique                      T : 52 ml                      S : 52 ml  
Poids des lutoïdes    T : 19,3 g                      S : 20,7 g

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min	
		1 culot	2 culots
Témoin	0,55	0,008	0,017
Stimulé	0,60	0,009	0,019

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	39,4	3,3	0,43	21,8
Stimulé	37,8	2,4	0,40	21,5

---

Date 23.09.89                      Clone GT 1                      3e Saignée avant stimulation

Volume de latex    T : 166 ml                      S : 166 ml  
Volume de sérum cytoplasmique                      T : 36 ml                      S : 36 ml  
Poids des lutoïdes    T : 14,5 g                      S : 15,2 g

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min	
		1 culot	2 culots
Témoin	0,96	0,017	0,031
Stimulé	0,92	0,015	0,029

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	35,1	5,7	0,76	13,5
Stimulé	33,7	6,4	0,73	12,7

---



Date	Clone	2e Saignée après stimulation			
28.09.89	PB 217				
Volume de latex		T : 335 ml	S : 350 ml		
Volume de sérum cytoplasmique		T : 76 ml	S : 73 ml		
Poids des lutoïdes		T : 32,2 g	S : 19,2 g		
Activité pyrophosphatase					
	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min			
		1 culot	2 culots		
Témoin	0,81	0,011	0,022		
Stimulé	1,17	0,014	0,026		
Diagnostic latex					
	ES	Sucre	RSH	Pi	
Témoin	37,8	16,3	0,58	16,4	
Stimulé	33,6	20,6	0,47	16,2	
<hr/>					
29.09.89	PB 235	2e Saignée après stimulation			
Volume de latex		T : 275 ml	S : 235 ml		
Volume de sérum cytoplasmique		T : 42 ml	S : 67 ml		
Poids des lutoïdes		T : -	S : 12,4 g		
Activité pyrophosphatase					
	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min			
		1 culot	2 culots		
Témoin	0,73	0,006	0,012		
Stimulé	0,68	0,014	0,027		
Diagnostic latex					
	ES	Sucre	RSH	Pi	
Témoin	41,7	2,9	0,38	16,4	
Stimulé	34,9	2,4	0,30	17,0	
<hr/>					
30.09.89	GT 1	2e Saignée après stimulation			
Volume de latex		T : 190 ml	S : 170 ml		
Volume de sérum cytoplasmique		T : 35 ml	S : 40 ml		
Poids des lutoïdes		T : 12,0 g	S : 11,8 g		
Activité pyrophosphatase					
	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min			
		1 culot	2 culots		
Témoin	1,06	0,029	0,047		
Stimulé	0,96	0,021	0,036		
Diagnostic latex					
	ES	Sucre	RSH	Pi	
Témoin	36,4	6,9	0,76	12,8	
Stimulé	28,7	14,6	0,49	8,6	



---

Date **05.10.89**                      Clone **PB 217**                      **4e Saignée après stimulation**

Volume de latex	T : 325 ml	S : 350 ml
Volume de sérum cytoplasmique	T : 71 ml	S : 90 ml
Poids des lutoïdes	T : 38,5 g	S : 19,2 g

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min	
		1 culot	2 culots
Témoin	0,63	0,015	0,029
Stimulé	0,69	0,010	0,016

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	38,3	24,1	0,63	17,1
Stimulé	28,8	24,3	0,72	19,5

---

Date **06.10.89**                      Clone **PB 235**                      **4e Saignée après stimulation**

Volume de latex	T : 265 ml	S : 265 ml
Volume de sérum cytoplasmique	T : 51 ml	S : 53 ml
Poids des lutoïdes	T : 8,1 g	S : 15,0 g

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min	
		1 culot	2 culots
Témoin	0,51	-	-
Stimulé	0,63	-	-

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	40,7	2,8	0,38	17,5
Stimulé	38,3	2,6	0,44	18,5

---

Date **07.10.89**                      Clone **GT 1**                      **4e Saignée après stimulation**

Volume de latex	T : 135 ml	S : 135 ml
Volume de sérum cytoplasmique	T : 24 ml	S : 24 ml
Poids des lutoïdes	T : -	S : -

Activité pyrophosphatase

	Sérum cytoplasmique (mM Pi/min/ml de SC)	Culot 45 000 t/min	
		1 culot	2 culots
Témoin	0,98	-	-
Stimulé	1,05	-	-

Diagnostic latex

	ES	Sucre	RSH	Pi
Témoin	36,3	5,8	0,61	12,5
Stimulé	30,4	6,4	0,61	16,8

---