

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 10 (1979)

Artikel: Agglutination des protoplastes de tabac et d'épinard par différentes lectines
Autor: Bernardini, Nicola / Greppin, Hubert
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099276>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Agglutination des protoplastes de tabac et d'épinard par différentes lectines

NICOLA BERNARDINI
&
HUBERT GREPPIN

RÉSUMÉ

BERNARDINI, N. & H. GREPPIN (1979). Agglutination des protoplastes de tabac et d'épinard par différentes lectines. *Saussurea* 10: 49-59. En français, résumé anglais.

Quatorze lectines, disponibles dans le commerce, ont été essayées à différentes dilutions sur les protoplastes obtenus de feuilles de tabac et d'épinard. Une a provoqué une légère agrégation des protoplastes d'épinard, tandis que cinq autres ont agglutiné plus ou moins fortement les protoplastes des deux espèces. Des glycosides simples ont inhibé l'agglutination des protoplastes d'épinard par ces lectines et ont dissocié dans une large mesure les agrégats déjà formés.

ABSTRACT

BERNARDINI, N. & H. GREPPIN (1979). Agglutination of tobacco and spinach protoplasts by different lectins. *Saussurea* 10: 49-59. In French, English abstract.

Fourteen commercially available lectins were tested at different dilutions on protoplasts from tobacco and spinach leaves. One caused a slight aggregation of spinach protoplasts while five others agglutinated more or less strongly the protoplasts of both plant species. Some simple sugars inhibited the binding action of these lectins on spinach protoplasts and dissociated to a great extent the aggregates already formed.

INTRODUCTION

Les lectines, dont un grand nombre est d'origine végétale, se lient spécifiquement avec certains saccharides et glycoprotéines. Grâce à cette propriété, elles exercent des effets variés sur les cellules, et ont été utilisées avec profit dans différents champs d'investigation de la biologie (SHARON & LIS, 1972; LIS & SHARON, 1973; NICOLSON, 1974; LIENER, 1976; GLIMELIUS & al., 1978 et LARKIN, 1978).

Une propriété intéressante des lectines est d'agglutiner certaines cellules animales, par exemple les érythrocytes humains. Cette réaction peut être spécifique, ou non, pour un ou deux groupes sanguins (NICOLSON, 1974; LIENER, 1976). Certaines d'entre elles sont capables d'agglutiner des cellules somatiques animales normales et, souvent à un plus fort degré, les cellules transformées de la même lignée ou des cellules tumorales (LIS & SHARON, 1973; NICOLSON, 1974; RAPIN & BURGER, 1974). Il est intéressant de remarquer que les lectines qui montrent une spécificité pour les groupes sanguins ne semblent pas causer l'agglutination des cellules somatiques (LIS & SHARON, 1973).

En ce qui concerne les cellules végétales, GLIMELIUS & al. (1974) ont montré que la Concanavaleine A provoque l'agglutination des protoplastes isolés enzymatiquement à partir de cultures en suspension de cellules de carotte, et que cette agglutination a lieu, grosso-modo, selon des modalités semblables à celles observées pour certaines cellules animales. La même phytolectine agglutine aussi les protoplastes de soja (WILLIAMSON & al., 1976), ainsi que ceux de tabac et de vigne (BURGESS & LINSTED, 1976).

Parmi les protoplastes produits spontanément chez *Neurospora crassa*, par deux souches du type "slime", les uns sont agglutinés par la Concanavaleine A, tandis que les autres ne le sont pas, même à des concentrations supérieures à 200 µg/ml de lectine, ou après trypsinisation (TERENZI & al., 1976).

Récemment, 11 phytolectines, plus ou moins purifiées, ont été testées sur les protoplastes obtenus à partir de plusieurs espèces végétales (LARKIN, 1978). A l'exception de l'agglutinine de soja (S.B.A., Pharmacia; Swede), dont le titre d'agglutination a été déterminé sur le tabac, toutes les autres lectines ont été essayées à une seule concentration. Quatre causent l'agglutination pratiquement indiscriminée des protoplastes issus de toutes les différentes espèces de plantes testées. La seule de ces lectines montrant un semblant de spécificité est l'agglutinine de ricin (C.B.A. II Sigma) qui, à la dose utilisée de 500 µg/ml, n'agglutine pas certaines préparations de *Nicotiana tomentosa* composées de protoplastes de taille exceptionnelle.

Dans le but de mettre en évidence d'éventuelles différences dans le pouvoir d'agglutination des phytolectines sur les protoplastes, nous avons déterminé, par la méthode des dilutions sériées, le titre d'agglutination de 14 phytolectines sur les protoplastes de *Nicotiana tabacum* et de *Spinacia oleracea*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Isolation des protoplastes

Les protoplastes de tabac ont été obtenus des feuilles bien développées de plantes âgées de 6 à 8 semaines, et les protoplastes d'épinard de la deuxième et troisième paire de feuilles de plantes âgées de 4 semaines cultivées en serre sur du terreau, en photopériode de 20 heures et à une température ambiante minimale de 16°C.

Des fragments de feuilles d'environ 0.5 cm², débarrassés de l'épiderme inférieur, ont été préplasmolysés pendant 1 heure à la surface d'une solution de Sorbitol 0.75 M et CaCl₂ 0.2 mM pour l'épinard, de Sorbitol 0.7 M et CaCl₂ 0.2 mM pour le tabac.

Les milieux de macération ont été préparés en dissolvant du Macérozyme R-10 1% p/v et de Cellulase 2% p/v (Kinki Yakult MFG. Co., Ltd., Nishinomiya, Japan) dans les mêmes solutions utilisées pour la préplasmolyse. Après dissolution des enzymes, les solutions ont été clarifiées par filtration sur "Millipore" 0.45 μ.

Les tissus préplasmolysés ont été transférés, face pelée toujours contre le liquide, dans des boîtes de Pétri de 9 cm Ø contenant 14 ml des solutions enzymatiques respectives jusqu'à presque entièrement recouvrir la surface.

Les préparations d'épinard ont alors été soumises à une infiltration de 2 à 3 minutes sous le vide de la pompe à eau. Puis les boîtes de Pétri, fermées avec du Nescofilm (Bando Chemical Ind., Ltd., Kobe, Japan) ont été incubées à 30-32°C, pendant 4 heures pour le tabac et 5 heures pour l'épinard. Les préparations ont été agitées par vibration et rotation toutes les 30 min.

Les suspensions de protoplastes obtenues ont été filtrées sur tamis de nylon de 100 μ et des échantillons de 7 ml ont été centrifugés pendant 1 min à 100 × g. Le culot a été resuspendu dans 2 à 3 ml d'une solution de pH 7.2 composée de Tris HCl 0.05 M, MgSO₄ 0.04 M et respectivement NaCl 0.335 M pour l'épinard, NaCl 0.31 M pour le tabac.

Après un temps de sédimentation de 15 min on a aspiré le surnageant et resuspendu les protoplastes dans un même volume de la solution. L'opération de lavage a été répétée trois fois. La concentration finale des protoplastes a été ajustée, après comptage sur cellule Fuchs Rosenthal à environ 10⁶ protoplastes par ml.

Avec cette technique d'isolement, de dans ces milieux, les protoplastes étaient viables à plus de 90% selon la méthode du diacétate de fluorescéine (WIDHOLM, 1972) proposée comme test de viabilité pour les protoplastes par EVANS & COCKING (1975) et utilisée aussi par LARKIN (1976).

Lectines

Toutes les lectines utilisées proviennent de Sigma Chemical Co.: Bandeiraea simplicifolia lectin (B.S.) L2380, lot 28C-9540; Castor bean lectin Type I (C.B.A. I)

Lectines		Protoplastes				
Type	Concentration finale max. utilisée ($\mu\text{g/ml}$)	Nombre de dilution v/v pour une agglutination nulle	Titre agglutinat. TABAC ($\mu\text{g/ml}$)	Titre agglutinat. EPINARD ($\mu\text{g/ml}$)	Degré agglutinat. TABAC Formule**	Degré agglutinat. EPINARD Formule**
B.S.	500	*t6 e7	15.63	7.81	5, 5, 5, 4, 3, 1, 0	5, 5, 5, 5, 4, 3, 2, 0
C.B.A. I	500	t6 e5	15.63	31.25	5, 5, 5, 5, 5, 2, 0	5, 5, 5, 4, 1, 0
C.B.A. II	500	t9 e8	1.95	3.91	5, 5, 5, 5, 5, 5, 4, 1, 0	5, 5, 5, 5, 5, 4, 4, 2, 0
Con. A	500	t6 e6	15.63	15.63	4, 4, 3, 3, 2, 1, 0	4, 3, 3, 3, 2, 1, 0
D.B.	500	t0 e0	—	±	0	0
G.P. III	500	t0 e0	—	—	0	0
PHAE	500	t0 e0	—	—	0	0

PHAL	500	t0 e0	-	-	0	0
PHA	500	t0 e0	-	-	0	0
L.L.	500	t0 e0	-	-	0	0
P.A.	500	t0 e0	-	-	0	0
S.B.A.	500	t8 e8	3.91	3.91	5, 5, 5, 5, 4, 2, 0	5, 5, 5, 4, 4, 3, 1, 0
T.P.	500	t0 e0	-	-	0	0
W.G.A.	500	t0 e1	-	500	0	1, 0

* t = tabac; e = épinard.

** Les numéros donnent les différents degrés d'agglutination déterminés selon l'échelle subjective d'estimation décrite dans "Matériels et méthodes". Le premier numéro correspond au degré d'agglutination pour la concentration finale maximale de lectine utilisée. Les autres numéros représentent dans l'ordre les valeurs obtenues pour les dilutions sériées successives.

Tabl. 1. — Agglutination des protoplastes de tabac et d'épinard par 14 lectines différentes.

L8879, lot 107C-9520; Castor bean lectin Type II (C.B.A. II) L9004, lot 107C-9560; Concanavalin A lectin (Con. A) C-2010, lot 58C-7330; Dolichos biflorus lectin (D.B.) L5630, lot 97C-3926; Gardean pea lectin Type III (G.P. III) L5380, lot 27C-3931; Kidney bean lectin Type III (PHAE) L8629, lot 75C-3929; Kidney bean lectin Type IV (PHAL) L8504, lot 75C-3928; Kidney bean lectin Type V (PHA) L8754, lot 17C-9500-1; Lens culinaris lectin (L.C.) L5880, lot 56C-3929; Phytollaca americana lectin (P.A.) L9379, lot 26C-3926; Soybean lectin Type VI (S.B.A.) L8004, lot 65C-3925; Tetragonolobus purpureas lectin (T.P.) L9254, lot 107C-9680; Wheat germ agglutinin (W.G.A.) L1005, lot 77C-9500-1.

Ces lectines ont été dissoutes à la concentration de départ de 1000 $\mu\text{g/ml}$ dans les mêmes solutions salines utilisées pour les protoplastes de tabac et d'épinard, et diluées ensuite en série, volume par volume. Les solutions n'ont pas été enrichies en ions calcium et manganèse qui étaient en fait déjà présents dans les produits de départ. Dans les essais d'inhibition, pour lesquels une seule concentration de lectine a été utilisée, les concentrations de départ étaient de 500 $\mu\text{g/ml}$ pour la B.S., C.B.A. I, C.B.A. II et S.B.A., et de 2000 $\mu\text{g/ml}$ pour la Con. A.

Test d'agglutination

La réaction d'agglutination, en chambre humide, a été réalisée comme suit: 60 ml des solutions salines pour les protoplastes contenant 2% d'agar, ont été versés à chaud dans des boîtes de Pétri de 14 cm Φ . On a ensuite découpé dans l'agar, à l'emporte-pièce, des puits de 1.4 cm Φ disposés en cercles concentriques. Le couvercle des boîtes de Pétri a été garni d'un disque de papier filtre humide.

Les essais avec la Con. A ont été effectués dans les creux de lames porte-objets à cavités circulaires fixées sur le fond d'une boîte de Pétri. En effet, lors des premiers tests avec cette lectine, nous avons constaté qu'elle causait l'adhésion des protoplastes et des agrégats sur le fond et les côtés des puits découpés dans l'agar, ce qui rendait difficile l'estimation du degré d'agglutination.

Pour les tests d'agglutination, nous avons introduit avec une pipette Pasteur et immédiatement mélangé dans chaque puit, trois gouttes de la suspension de protoplastes et trois gouttes de la dilution de lectine à tester. Les boîtes de Pétri ont été légèrement secouées toutes les 15 minutes et, après 60 minutes à température ambiante, chaque puit a été observé à l'œil nu et sous le microscope à un grossissement de 40 fois.

Le degré d'agglutination a été déterminé selon le double critère du pourcentage de cellules liées en agrégats et du volume de ceux-ci. Une échelle subjective de 1 à 5 a été établie. Le numéro 1 correspond à un début d'agglutination facilement observable, pouvant comprendre jusqu'à environ un tiers des cellules prises en agrégats de faible taille (deux à trente cellules). Le numéro 4 se réfère à une agglutination d'au moins 90% des cellules et à un grand nombre d'agrégats de 100 cellules et plus. Les numéros 2 et 3 sont des intermédiaires entre ces deux estimations.

La presque totalité des cellules étant déjà prise dans des amas dès le numéro 4 de l'échelle, on a inclus dans le numéro 5 les cas où une très forte réaction provoque la formation d'agrégats de grande taille, rassemblant la majorité des cellules, et réduit en conséquence le nombre de ceux-ci à 20 ou moins par puits.

Lectine		Inhibiteur		Agglutination des protoplastes	
Type	Concentration finale utilisée ($\mu\text{g/ml}$)	Type	Concentration finale utilisée mM pour inhibition pour inversion	Degré*	Inhibition Réversibilité
B.S.	250	D-galactose	10 20	5	totale partielle (1**)
C.B.A. I	250	D-galactose	10 20	5	totale partielle (2)
C.B.A. II	250	lactose	45 90	5	totale totale (0)
S.B.A.	250	lactose	45 90	5	partielle partielle (1)
Con. A	1000	α -méthyl-D-mannose	10 20	4	totale partielle (1)

* Valeurs déterminées selon l'échelle subjective d'estimation de l'agglutination décrite dans "Matériel et méthodes".

** Les numéros () donnent le degré d'agglutination résiduelle une heure après l'adjonction de l'inhibiteur.

Tabl. 2. — Inhibition et réversibilité des réactions d'agglutination des protoplastes d'épinard.

Un examen photographique de cette évaluation d'agglutination, pris lors du premier essai, a été utilisé comme référence lors des expériences successives. Pour chaque essai, les différentes dilutions des 14 lectines ont été testées, en même temps, sur des aliquotes d'un même lot de protoplastes.

Chaque expérience a été répétée trois fois, et le degré d'agglutination présenté pour chaque dilution de lectine correspond, soit à la valeur intermédiaire, soit à la plus fréquente des trois estimations.

Titre d'agglutination

Le titre d'agglutination des protoplastes est défini comme la concentration de lectine (exprimée en $\mu\text{g/ml}$ du mélange final de réaction) qui correspond à la plus grande dilution encore capable de causer une agglutination facilement détectable (numéro 1 de l'échelle), après une heure à température ambiante et agitation périodique.

Inhibition de l'agglutination

Les inhibiteurs (cf. tabl. 2) ont été dissous dans la solution saline propre aux protoplastes d'épinard, sans tenir compte de la faible augmentation d'osmolarité, sauf pour le lactose 90 mM pour lequel la molarité du NaCl de la solution saline a été réduite en conséquence.

Les échantillons de protoplastes destinés aux tests d'inhibition ont subi un lavage supplémentaire dans la solution de l'inhibiteur et ont été resuspendus dans celle-ci, à une concentration d'environ 10^6 cellules par ml. Ces suspensions ont été utilisées selon la même procédure que celle appliquée aux tests d'agglutination.

Réversion de l'agglutination

Des essais de réversion de la réaction d'agglutination par l'inhibiteur spécifique d'une lectine ont été pratiqués sur les protoplastes d'épinard. Pour chaque lectine la réaction d'agglutination a été effectuée dans trois puits découpés dans l'agar et, pour la Con. A, dans les creux de lames porte-objets, à cavités circulaires. Les agrégats d'une préparation ont été lavés rapidement à deux reprises en ajoutant quelques gouttes de la solution saline contenant l'inhibiteur et en aspirant, après sédimentation des protoplastes, l'excédent du liquide. Le puit, ou la cavité, a alors été rempli avec cette même solution.

Des deux autres préparations, une a été traitée de la même façon mais en utilisant la solution saline sans l'inhibiteur, tandis que l'autre n'a subi aucun lavage.

Après une heure à température ambiante et faible agitation périodique, les trois préparations ont été observées au microscope et comparées entre elles.

La solution d'inhibiteur n'étant presque pas diluée, sa concentration finale en présence des protoplastes est environ le double de celle qu'on retrouve après l'adjonction de la lectine lors des essais d'inhibition.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 1 présente les résultats des expériences d'agglutination des protoplastes de tabac et d'épinard par diverses lectines.

A la concentration maximale finale de 500 $\mu\text{g/ml}$, sur les 14 lectines testées, cinq (B.S.; C.B.A. I; C.B.A. II; Con. A; S.B.A.) causent une forte agglutination des protoplastes tant du tabac que de l'épinard; au contraire la W.G.A. agglutine seulement à un faible degré l'épinard. De ces lectines, la B.S. montre une spécificité pour les groupes sanguins lors des réactions d'agglutination des érythrocytes humains (HAYES & GOLDSTEIN, 1974). Les protoplastes, au moins dans ce cas, se différencient du comportement des cellules somatiques animales qui, elles, ne sont pas agglutinées par les lectines spécifiques pour les groupes sanguins (LIS & SHARON, 1973).

Une comparaison des titres d'agglutination et, à dilution égale, des degrés d'agglutination, montre que dans nos conditions d'expérience la S.B.A. et la C.B.A. II possèdent, par unité de poids du produit, un pouvoir d'agglutination nettement supérieur à celui des six autres lectines. Même si le poids moléculaire de ces lectines a été estimé (LIENER, 1976), il n'est pas possible de pousser la comparaison jusqu'au niveau moléculaire. D'une part, les préparations d'agglutinines utilisées ne présentent pas toujours le même degré de pureté, d'autre part, certains facteurs, tels que le temps et les modalités de stockage, peuvent modifier le pouvoir d'agglutination d'un même produit (SHARON, 1975).

Pour les concentrations maximales finales utilisées, seule la W.G.A. montre une spécificité, en agglutinant faiblement les protoplastes d'épinard, mais pas ceux du tabac. Néanmoins, en comparant les titres et les degrés d'agglutination des lectines qui réagissent positivement avec les protoplastes des deux espèces, on peut faire ressortir des différences dans l'intensité de la réaction. La C.B.A. I et la C.B.A. II agglutinent plus fortement et jusqu'à un titre plus faible les protoplastes du tabac. La S.B.A. donne le même titre pour les protoplastes des deux espèces mais, dans l'ensemble, montre un plus fort degré d'agglutination pour le tabac. La Con. A ne semble pas différencier le tabac de l'épinard, tandis que la B.S. est pourvue d'un pouvoir d'agglutination plus important pour les protoplastes d'épinard. Utilisant la C.B.A. II (Sigma), la Con. A (Calbiochem) et la S.B.A. (Pharmacia) à des concentrations finales de 500 $\mu\text{g/ml}$ sur les protoplastes de tabac, ainsi que d'autres espèces, LARKIN (1978) a aussi obtenu de fortes réactions d'agglutination. Pour la B.S. (Sigma), à une concentration finale de 50 $\mu\text{g/ml}$, ce même auteur rapporte des résultats négatifs sur toutes les cinq espèces de protoplastes testés, y compris le tabac. Dans nos conditions d'expérience, cette même lectine (Sigma) a causé une forte agglutination des protoplastes de tabac et d'épinard jusqu'à une concentration finale de 62.5 et 31.25 $\mu\text{g/ml}$ respectivement, et une agglutination facilement observable jusqu'à 15.63 et 7.8 $\mu\text{g/ml}$. D'autre part, CHIN & SCOTT (1979) observent une assez forte agrégation des protoplastes de tabac sous l'effet de la W.G.A. (Pharmacia) et la PHA (Calbiochem), lectines qui, lors des essais effectués par LARKIN (1978) et par nous, sont incapables d'agglutiner le tabac. Ces divers résultats sont peut être imputables aux méthodologies utilisées ou encore à d'éventuelles altérations des produits (SHARON, 1975).

Les différences remarquées dans l'action d'une même lectine sur les protoplastes de tabac et d'épinard reflètent certainement des inégalités existantes au niveau du plasmalemmes dans la disponibilité pour l'agglutination des sites récepteurs (nombre, genre, distribution et mobilité) (NICOLSON, 1974). Toutefois, certains facteurs comme la taille des protoplastes et la distension du plasmalemmes pourraient agir en changeant, par exemple, la mobilité de sites ou leur nombre par unité de surface. Dans nos conditions d'expérience, les protoplastes de tabac étaient en moyenne légèrement plus petits que ceux d'épinard. Cependant, certaines lectines ont agglutiné préférentiellement le tabac et d'autres l'épinard. Donc, si ce facteur a eu une influence, elle n'a pas toujours été prépondérante.

Pour tester l'influence de l'hypertonie sur le plasmalemmes, nous avons fait des essais d'agglutination avec les protoplastes de tabac et la Con. A, en utilisant trois concentrations différentes de NaCl (0.235 M; 0.31 M; 0.36 M) dans le milieu. Nous n'avons observé aucune différence d'agglutination des protoplastes dans les milieux 0.235 M et 0.31 M NaCl. Les protoplastes apparaissaient bien ronds avec un contour net et tendu. Par contre, pour le milieu 0.36 M, nous avons constaté une augmentation du pouvoir d'agglutination de la Con. A. Les protoplastes présentaient un contour légèrement plissé, indice d'une forte plasmolyse.

Apparemment, dans certaines limites, l'osmolarité du milieu peut varier sans que le changement qui en résulte au niveau du plasmalemmes se répercute, d'une manière mesurable par la méthode utilisée, sur le pouvoir d'agglutination de la lectine.

Le tableau 2 présente les résultats des essais visant à inhiber ou inverser la réaction d'agglutination des protoplastes provoquée par les lectines.

L' α -methyl-D-mannose, déjà utilisé comme inhibiteur de l'agglutination des protoplastes naturels d'une souche "slime" de *Neurospora* (TERENZI, 1976), empêche aussi l'agglutination des protoplastes d'épinard. Pour chacune des autres lectines, le glycoside testé correspond à un des inhibiteurs connus de sa réaction d'agglutination des érythrocytes humains. Aux concentrations utilisées, trois de ces glycosides se sont révélés efficaces pour empêcher l'agglutination des protoplastes d'épinard par la lectine correspondante, tandis que le lactose n'a inhibé que partiellement l'action de la S.B.A., ce qui n'exclut pas une inhibition complète à une concentration plus élevée que celle employée.

Lors des tests de réversibilité les glycosides, utilisés à une concentration finale double de celle pour l'inhibition, ont tous provoqué une dissociation observable des agrégats de protoplastes déjà formés, tandis que le lavage avec la solution saline n'a causé que la fragmentation accidentelle de quelques amas.

Une heure après l'adjonction de l'inhibiteur, l'agglutination due à la C.B.A. II était complètement inversée et celle résultant des autres lectines très fortement réduite. D'autres auteurs (GLIMELIUS & al., 1974), ont observé que les agrégats de protoplastes de carotte, formés par l'action de la Con. A, n'étaient pas dissociés par l' α -methyl glucose qui pourtant agissait comme inhibiteur efficace de l'agglutination. Nos résultats montrent que ce cas de non-réversibilité est plutôt exceptionnel. Récemment, CHIN & SCOTT (1979) ont obtenu des résultats analogues aux nôtres et ont pu partiellement réverser l'agglutination des protoplastes d'orge par la Con. A. en utilisant l'inhibiteur α -methyl-D-mannose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BURGESS, J. & P. J. LINSTED (1976). Ultrastructural studies of the binding of Concanavalin A to the plasmalemma of higher plant protoplasts. *Planta* 130: 73-79.
- CHIN, J. C. & K. J. SCOTT (1979). Effect of phytolectins on isolated protoplasts from plants. *Ann. Bot. (London)* 43: 33-44.
- EVANS, P. K. & E. C. COCKING (1975). The techniques of plant cell culture and somatic cell hybridisation. In: O. PAIN & O. SMITH (éds.), *New Techniques in Biophysics and Cell Biology*, vol. 2: 127-157. Wiley, New York.
- GLIMELIUS, K., A. WALLIN & T. ERIKSSON (1974). Agglutinating effects of Concanavalin A on isolated protoplasts of *Daucus carota*. *Physiol. Pl. (Copenhagen)* 31: 225-230.
- A. WALLIN & T. ERIKSSON (1978). Concanavalin A improves the polyethylene glycol method for fusing plant protoplasts. *Physiol. Pl. (Copenhagen)* 44: 92-96.
- HAYES, C. E. & I. J. GOLDSTEIN (1974). An α -D-galactosyl-binding lectin from *Bandeiraea simplicifolia* seeds. *J. Biol. Chem.* 249: 1904-1914.
- LARKIN, P. J. (1976). Purification and viability determinations of plant protoplasts. *Planta* 128: 213-216.
- (1978). Plant protoplast agglutination by lectins. *Pl. Physiol.* 61: 626-629.
- LIENER, I. E. (1976). Phytohemagglutinins (phytolectins). *Annual Rev. Pl. Physiol.* 27: 291-319.
- LIS, H. & N. SHARON (1973). The biochemistry of plant lectins (phytohemagglutinins). *Annual Rev. Biochem.* 42: 541-574.
- NICOLSON, G. L. (1974). The interaction of lectins with animal cell surfaces. *Int. Rev. Cytol.* 39: 89-190.
- RAPIN, A. M. C. & M. M. BURGER (1974). Tumor cell surfaces: general alterations detected by agglutinins. In: G. KLEIN & S. WEINHOUSE (éds.), *Advances in Cancer Research* 20: 1-91. Academic Press, New York.
- SHARON, N. (1975). Lectins: probes for cell surface structure and architecture. In: H. C. SLAVKIN & R. C. GRUELICH (éds.), *Matrix influences on Gene Expression*: 479-512. Academic Press, New York.
- & H. LIS (1972). Lectins: cell agglutinating and sugar-specific proteins. *Science* 127: 949-959.
- TERENZI, H. F., M. M. FLAWIA & H. N. TORRES (1976). A distinctive response to Concanavalin A-mediated agglutination shown by cells from two different "slime" strains. *Neurospora Newslett.* 23: 19-21.
- WIDHOLM, J. M. (1972). The use of fluorescein diacetate and phenosafranine for determining viability of cultured plant cells. *Stain Technol.* 47: 189-194.
- WILLIAMSON, F. A., C. F. FOWKE, F. C. CONSTABEL & O. L. GAMBORG (1976). Labelling of Concanavalin A sites on the plasma membrane of soybean protoplasts. *Protoplasma* 86: 305-316.

