Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]

Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève

Band: 18 (1965)

Heft: 3

Artikel: Inhibition respiratoire due à la colimycine chez Pseudomonas fluorescens en présence de divers substrats hydrocarbonés

Autor: Gouda, Sobhy / Schorer, Elisabeth / Chodat, Fernand

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-739225

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: 08.07.2025

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

Séance du 18 mars 1965

Sobhy GOUDA, Elisabeth SCHORER et Fernand CHODAT. — Inhibition respiratoire due à la colimycine chez Pseudomonas fluorescens en présence de divers substrats hydrocarbonés.

L'effet antidécarboxylasique de la colimycine sur un système enzymatique isolé a été signalé par Mayor [1]. Gouda et coll. ont noté des accumulations d'acides pyruvique et alpha-cétoglutarique dans des filtrats de milieux de culture de *Pseudomonas fluorescens* traité par de la colimycine [2]. L'adjonction de thiamine à des systèmes inhibés nous a permis, dans une certaine mesure, de surmonter *in vivo* l'action inhibitrice de l'antibiotique.

Une brutale diminution des fonctions respiratoires de *Pseudomonas fluorescens* se manifeste lors de l'introduction de colimycine dans une suspension de germes en milieu pyruvate [3]. La rapidité d'action, dans cette condition d'expérience, est attribuée à la rapide pénétration de l'antibiotique et à sa particularité antidécarboxylasique.

L'utilisation de doses croissantes de colimycine dans des suspensions bactériennes nous a permis, dans ce travail, de comparer les effets inhibiteurs aux différentes concentrations. D'autre part, l'emploi de substrats respiratoires divers a mis en évidence la vulnérabilité de la bactérie suivant le substrat utilisé. L'action de la colimycine est particulièrement intense lors de l'utilisation des deux substrats décarboxylables que nous avons testés.

Méthodes et techniques

L'estimation du trouble bactérien a été faite par néphélométrie et l'évaluation du nombre des bactéries a été réalisée par la méthode de dilution suivie d'un spreading sur pétri contenant un milieu Difco agarisé.

Pour l'évaluation de la consommation d'oxygène de *Pseudomonas fluorescens* en présence de différents métabolites à l'aide de la méthode manométrique de Warburg, nous avons procédé comme suit: une subculture bactérienne âgée de 24 heures est recultivée dans un milieu contenant:

Phosphate dipotassique	0,3 g
Sulfate de magnésium	0,3 g
Lactate d'ammonium	2,0 g
Eau distillée	ad 1000 ml

pH ajusté à 7,2 avec NaOH 10%.

Après 24 heures, les cultures sont centrifugées. Le culot bactérien lavé et remis en suspension dans un tampon phosphate de pH 7,2 1/150 M est recentrifugé une

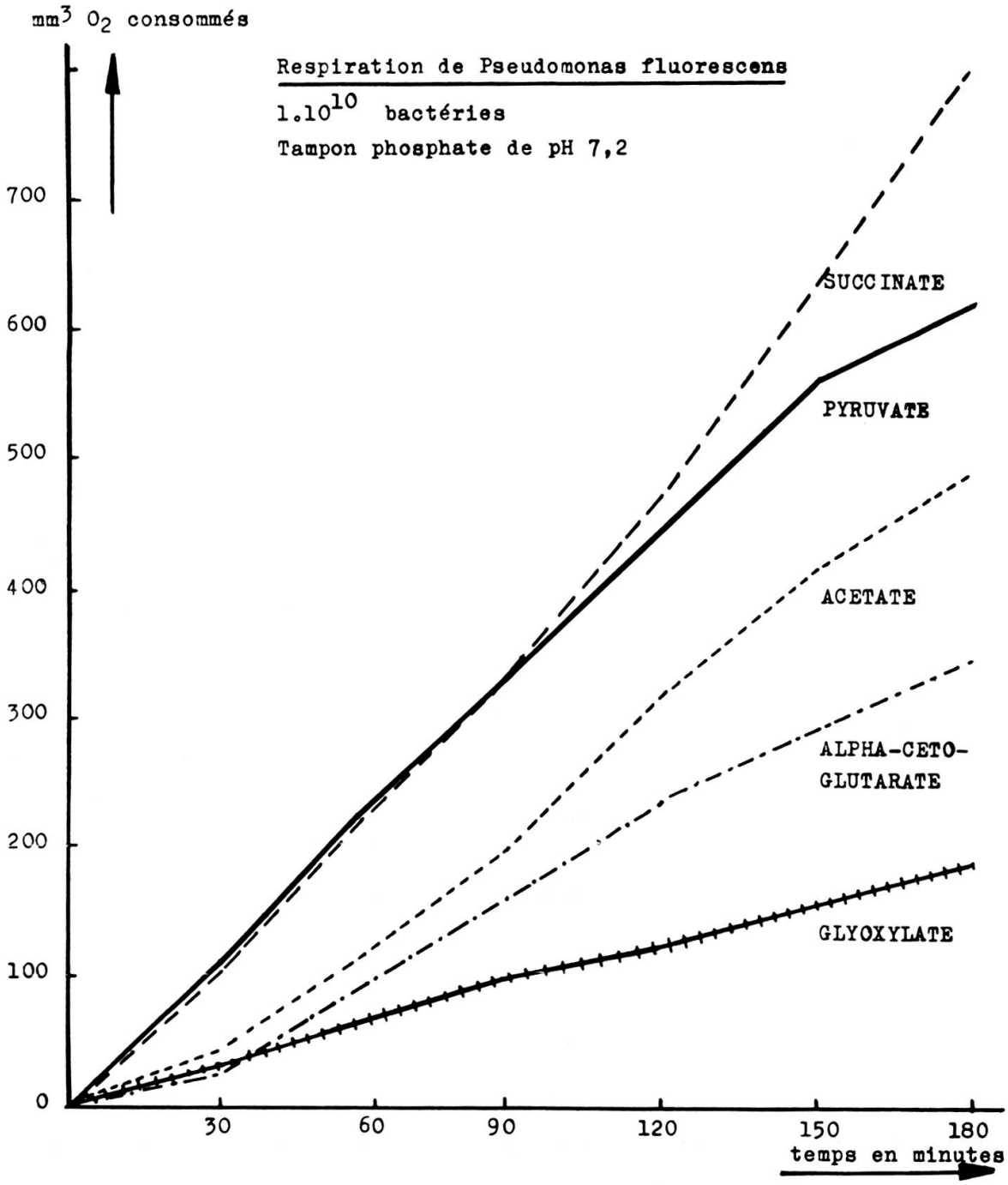


Fig. 1.

seconde fois et remis en suspension dans le même tampon. Pour les expériences de Warburg, chaque auge contient environ 1.10^{10} bactéries.

Pour nos expériences, nous avons disposé d'auges munies d'une ampoule latérale dans laquelle a été introduit l'antibiotique. Le contenu de l'auge latérale, soit

0,3 ml d'une solution de colimycine à des titres divers, soit de l'eau, est versé en cours d'expérience dans l'auge qui contient:

Suspension bactérienne	2,00 ml
Métabolite respirable (2 mg dans 0,4 ml de tampon) . .	0,40 ml
KOH 20% dans le compartiment central	0,30 ml

soit un total de 3 ml dans chaque auge.

La température du bain thermostatique a été réglée à 25° C. La durée de l'expérience fixée à deux heures après l'adjonction de colimycine.

Pour la détection des acides cétoniques, nous avons utilisé la méthode de Cavallini [4, 5], soit la formation de dérivés de la dinitrophénylhydrazine. Les dinitrophénylhydrazones séparés par chromatographie sont dosés spectrophotométriquement par la technique d'Ischerwood [5, 6].

Résultats

L'emploi d'acétate, de succinate, de pyruvate, d'alpha-cétoglutarate et de glyoxylate nous renseigne sur le comportement respiratoire de la bactérie dans la condition témoin, c'est-à-dire sans antibiotique (fig. 1).

Nous observons que ces substrats sont utilisés par la bactérie dès leur adjonction aux suspensions de germes testés par la méthode de Warburg.

La comparaison de la consommation d'oxygène en absence et en présence de colimycine met en évidence le rôle du substrat dans l'inhibition due à la colimycine (fig. 2).

Les systèmes respiratoires contenant du pyruvate sont les plus sensibles à l'action de l'antibiotique. Immédiatement après l'adjonction de colimycine, le taux de consommation de l'oxygène, ainsi que celui de la libération de CO_2 diminuent d'une façon notable; cette diminution s'accentuera progressivement durant les deux heures de l'expérience.

Dans le système alpha-cétoglutarique, l'action inhibitrice due à la colimycine se manifeste rapidement, mais moins brutalement; elle ne tarde pas à s'accentuer lors de la deuxième heure d'incubation.

Les systèmes acétate, glyoxylate et succinate, dans des conditions similaires, quoique immédiatement sensibles à l'adjonction de colimycine, conservent cependant une consommation d'oxygène de loin supérieure à celles observées dans les cas du pyruvate et de l'alpha-cétoglutarate (fig. 3).

L'emploi de doses croissantes de colimycine pour divers substrats montre clairement la vulnérabilité aux fortes doses des systèmes contenant des molécules typiquement décarboxylables (fig. 2).

Tous les systèmes utilisés (tableau 1) accusent une nette stimulation des échanges gazeux au cours de la première heure, lors de l'utilisation de faibles doses d'antibiotique. Cette stimulation n'est que passagère et ses effets se répercutent nettement sur la respiration durant la seconde heure d'incubation.

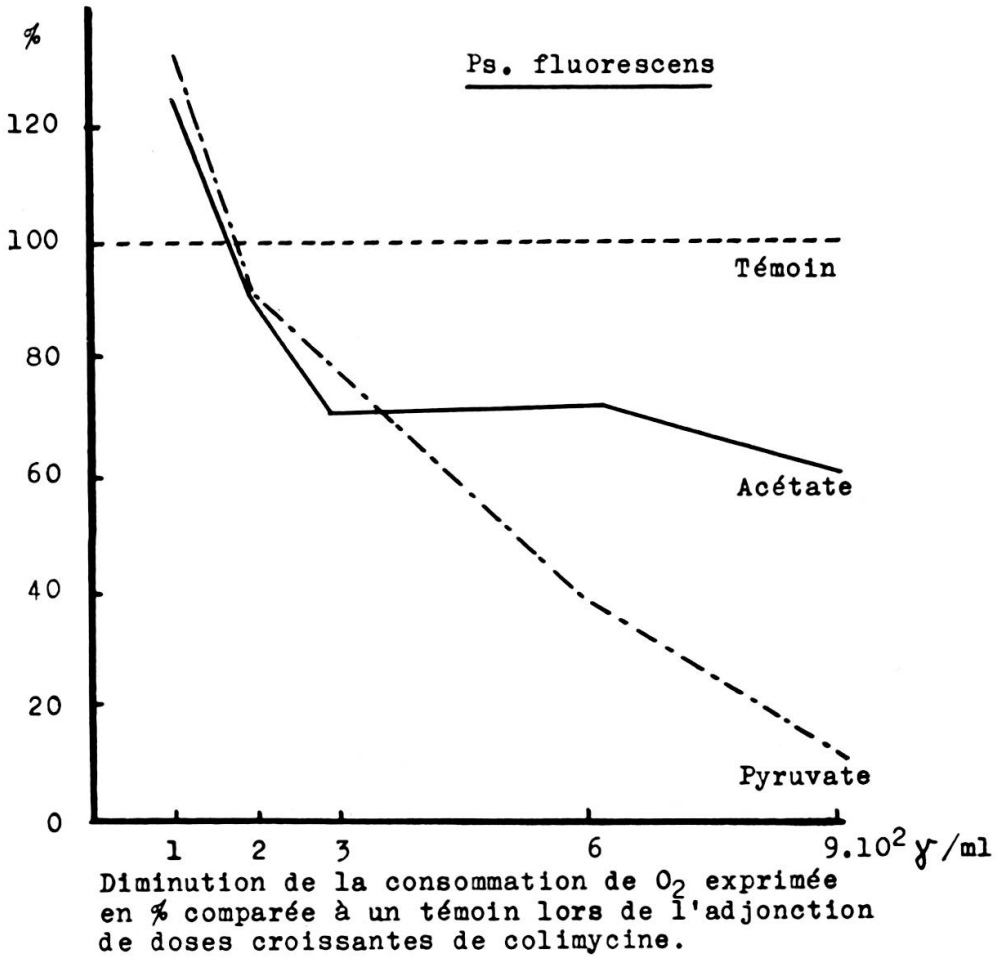


Fig. 2.

TABLEAU 1

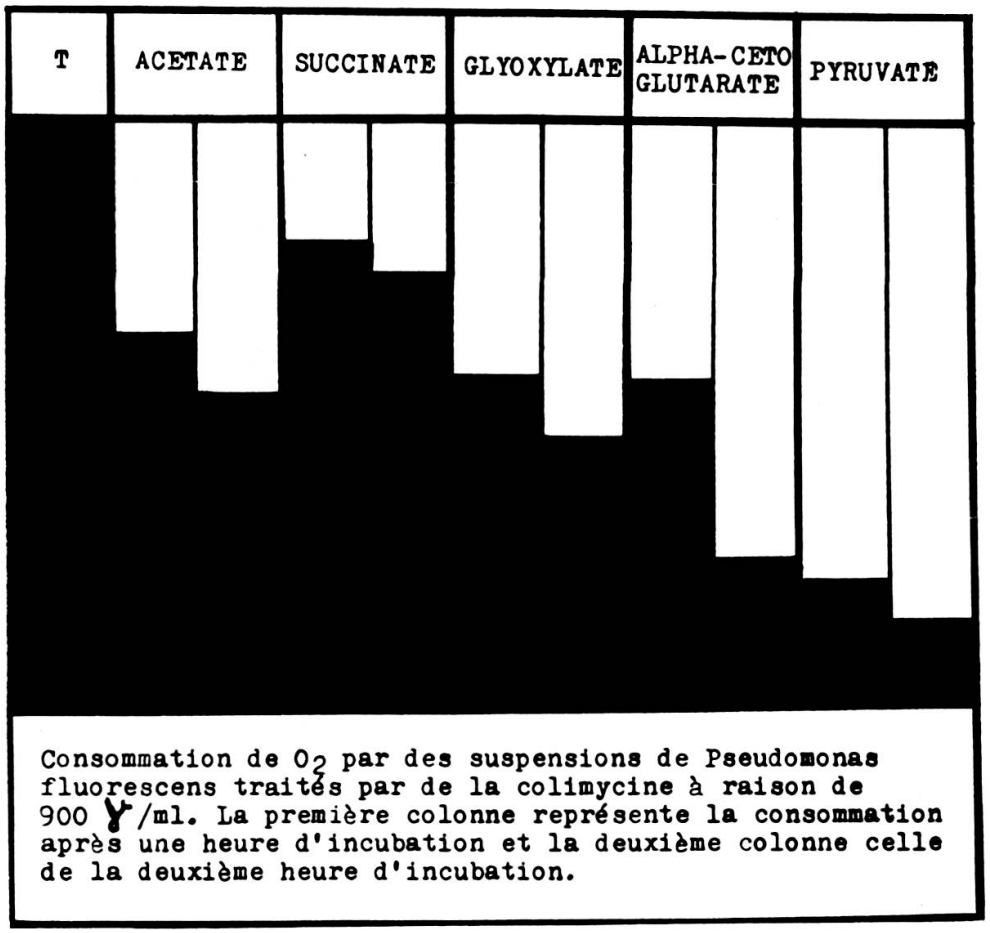
Substrat	Sans colimycine	Avec colimycine			
		100 γ/ml		200 γ/ml	
Acétate	1,00	1,22 *	0,79 **	0,90 *	0,96 **
Pyruvate	1,00	1,10	0,79	0,90	0,53
Alpha-cétoglutarate . . .	1,00	1,14	0,96	—	0,60
Glyoxylate	1,00	1,13	—	0,89	0,88
Succinate	1,00	1,29	0,84	0,93	0,99

Stimulation et inhibition de la respiration durant la première et la deuxième heure d'incubation au Warburg après adjonction de colimycine à des suspensions de germes

* Valeur relative de consommation d'oxygène durant la première heure d'incubation au Warburg comparée à un témoin sans colimycine.

** Valeur observée durant la deuxième heure d'incubation.

L'examen du tableau 1 montre que la colimycine dérègle momentanément le rythme respiratoire lorsqu'elle est introduite à faible dose (100 gammas/ml) en provoquant une stimulation momentanée de la consommation d'oxygène. Cette stimulation éphémère observée durant la première heure s'accompagne durant la deuxi-



Consommation de O_2 par des suspensions de Pseudomonas fluorescens traités par de la colimycine à raison de 900 γ/ml. La première colonne représente la consommation après une heure d'incubation et la deuxième colonne celle de la deuxième heure d'incubation.

Fig. 3.

ème heure d'une diminution marquée de la consommation d'oxygène. Lors de l'étude du mutant achrome [3], nous avions constaté une action similaire sur ce germe résistant à l'antibiotique; ce qui nous permet de supposer une action similaire de la colimycine chez les deux bactéries, mais à des doses beaucoup plus élevées chez la bactérie résistante. L'effet initial stimulateur chez le germe sauvage disparaît aux doses supérieures à 100 gammas/ml.

En présence de colimycine, les suspensions bactériennes, dont le milieu contient du succinate, acétate, glyoxylate, pyruvate et alpha-cétoglutarate, accumulent plus de dix fois plus d'acides cétoniques (pyruvique et alpha-cétoglutarique) que dans les milieux témoins sans colimycine.

TABLEAU 2

Substrat	Sans colimycine		Avec colimycine			
			500 γ/ml		2500 γ/ml	
Pyruvate	— *	0,9 **	— *	11,2 **	— *	2,1 **
Alpha-cétoglutarate . .	4,4	—	18,7	—	5,1	—
Acétate	2,8	0,3	11,0	4,7	8,6	3,4
Glyoxylate	1,3	0,4	3,3	1,6	2,9	2,1
Succinate	3,0	0,6	28,7	15,9	18,5	8,7

Formation d'acides cétoniques en gammas/ml

Accumulation observée après 6 heures d'incubation d'une suspension bactérienne concentrée. Le milieu utilisé est celui de la culture. Nous avons remplacé le lactate d'ammonium par un des substrats susmentionnés, à raison de 500 gammas/ml et la source d'azote par du nitrate d'ammonium à 1000 gammas/ml.

* Quantité de pyruvate.
** Quantité d'alpha-cétoglutarate.

DISCUSSION

Considérons, tout d'abord, parmi les résultats obtenus, ceux qui ont trait aux rapports du germe avec les métabolites que lui offre le milieu expérimental des auges de Warburg.

L'entrée des substances dans la cellule est, pour beaucoup de ces dernières, étroitement liée à la nature et au fonctionnement de la membrane cellulaire. Cette dernière, grâce à un système de transporteurs, règle la vitesse de pénétration et la proportion des métabolites nécessaires au développement. A cet égard, on peut ajouter que la non utilisation d'un substrat par une bactérie n'implique pas nécessairement l'impénétrabilité de la cellule pour une molécule donnée: cette non utilisation peut être due au fait que la molécule ne parvient pas au site endocellulaire où se déroule le processus d'utilisation biologique.

Divers résultats fournis par l'analyse des produits rejetés dans le milieu de culture de *Pseudomonas fluorescens* (expériences personnelles et documents tirés de la littérature), nous autorisent à dire que des produits de réaction, tels que le pyruvate, l'alpha-cétoglutarate, l'acétate et le succinate, sont normalement secrétés par un germe développé sur un milieu de culture à base de lactate de sodium. Ce fait permet de postuler, dans les conditions de l'expérience, la préexistence d'un système de transporteurs pour ces substances. Réciproquement, l'utilisation immédiate de ces mêmes molécules offertes comme substrat respiratoire, confirme l'hypothèse de systèmes transporteurs.

Le présent travail nous permet de conclure que la colimycine exerce un pouvoir nettement inhibiteur au niveau de deux substrats: le pyruvate et l'alpha-cétoglutarate. Ces deux substances, d'autre part, ont tendance à s'accumuler dans les milieux de culture indépendamment du substrat hydrocarboné utilisé. C'est-à-dire que certains enzymes continuent à fonctionner malgré la présence de l'antibiotique.

Les deux substances particulièrement touchées par l'action de l'antibiotique sont le pyruvate et l'alpha-cétoglutarate, substrats essentiellement décarboxylables et dont le coenzyme de décarboxylation est le pyrophosphate de thiamine. Il a d'ailleurs été démontré dans un précédent travail, que l'adjonction de thiamine dans des milieux de culture de *Pseudomonas fluorescens* traités à la colimycine renforçait particulièrement la résistance de ce germe.

La recherche de l'oxalsuccinate, autre acide cétonique de nature décarboxylable, a été négative. La décarboxylation de l'oxalsuccinate, dans la séquence des réactions du cycle de Krebs, se fait à partir d'un enzyme dont le cofacteur n'est pas la cocarboxylase thiaminique. Cet enzyme semble donc être moins atteint par la colimycine que ceux responsables de la décarboxylation pyruvique et alpha-cétoglutarique. Ce qui revient à dire que la colimycine a une fonction antidécarboxylasique qui semble essentiellement liée aux systèmes utilisant comme cofacteur la molécule thiaminique.

D'autre part, l'effet stimulant à faible dose, semble lié à une perte de synchronisation des diverses séquences métaboliques. D'ailleurs, dans ce cas, où la dose d'antibiotique n'est pas particulièrement élevée, la bactérie reprend un rythme normal de consommation d'oxygène au cours de la seconde heure. Cette perturbation du processus d'oxydation se manifeste aussi par une accumulation passagère des acides cétoniques, pyruvique et alpha-cétoglutarique.

En ce qui concerne les différences observées dans la consommation de l'oxygène, lors de l'utilisation de différents substrats, il s'agit essentiellement d'une question de perméabilité cellulaire et de période d'adaptation que des expériences simples permettent de mettre en évidence.

L'obtention d'importante quantité de pyruvate et d'alpha-cétoglutarate à partir de succinate comme substrat oxydable démontre que la colimycine est peu active dans la seconde fraction du cycle de Krebs. Elle n'empêche pas la formation de pyruvate, substance qui se forme à partir du malate par une décarboxylation similaire à celle de l'oxalsuccinate.

Lors de l'adjonction de l'antibiotique, il se produit d'abord un blocage presque immédiat au niveau des systèmes de décarboxylation pyruvique et alpha-cétoglutarique, alors que certaines fractions du cycle de Krebs continuent à fonctionner.

RÉSUMÉ

L'étude de la respiration de *Pseudomonas fluorescens* montre que la colimycine exerce un pouvoir nettement inhibiteur sur l'emploi des substrats décarboxylables dont le coenzyme de décarboxylation est le pyrophosphate de thiamine (pyruvate et alpha-cétoglutarate). Par contre, l'inhibition

due à la colimycine est moins marquée lors de l'utilisation d'autres substrats du cycle de Krebs ou associés à ce dernier.

BIBLIOGRAPHIE

1. MAYOR, F., M. CASCALES, A. DIEZ, F. FERRANDIZ, P. MARCOS et A. SANTOS-RUIZ, Inhibicion por antibioticos de la 1-glutamatodescarboxilasas y de la piruvato carboxilasa. *VIes Journées biochimiques latines*, Genève. Communications scientifiques, 1961, p. 57.
2. GOUDA, S., E. SCHORER et J. F. SCHOPFER, Levée de la bactériostasie due à la colimycine par adjonction de thiamine. *Archives des Sciences*, 1962, vol. *15*, fasc. 1, p. 137.
3. ——, E. SCHORER et F. CHODAT, Effet de la colimycine sur la respiration de *Pseudomonas fluorescens* et de son mutant achrome. *Path. Microbiol.*, 1962, *25*, p. 616.
4. CAVALLINI, D., N. FRONTALI et G. TOSCHI, Determination of keto-acids by partition chromatography on filter. *Nature*, 1949, *163*, p. 568.
5. ——, N. FRONTALI et G. TOSCHI, Keto-acids content on human blood and urine. *Nature*, 1949, *164*, p. 792.
6. ISCHERWOOD, F. A. et D. M. CRUIKSHANK, The estimation of 2-4 dinitrophenylhydrazones on paper chromatography. *Nature*, 1954, *173*, p. 121.
7. —— et C. S. HANES, Separation and estimation of organic acids on paper chromatography. *Biochem. J.*, 1955, *55*, p. 824.

Laboratoire de Microbiologie et Fermentations.
Institut de Botanique générale de l'Université de Genève.

Manuscrit reçu le 22 décembre 1965.

H. GREPPIN. — Action de la lumière sur la sexualisation de l'épinard.

INTRODUCTION

Le mécanisme génétique, réglant le déterminisme du sexe chez les végétaux dioïques, a été l'objet de nombreux travaux permettant une compréhension satisfaisante de ce phénomène [1]. Au contraire, le mécanisme de l'influence du milieu physique et chimique sur l'expression et le conditionnement de la sexualité est loin d'être bien connu, malgré l'abondance des recherches à ce sujet [2, 3, 4].

Si de nombreuses expériences font état de l'action de la température, de la durée et de l'intensité de la lumière sur la sexualisation (masculinisation ou féminisation), à notre connaissance, il n'y a pas de travaux traitant du rôle de la qualité de la lumière sur l'expression phénotypique sexuelle.

Nous avons entrepris d'en faire la démonstration sur une plante très commune: l'épinard. L'épinard est un genre dioïque, fleurissant en journées longues, dans lequel on peut obtenir par croisement, toute une graduation de types monoïques [5, 6, 7]. Dans les lignées purement dioïques, nous avons une paire d'allèles XY. Y est un allèle déterminant le sexe mâle ou supprimant le sexe femelle. Le caractère monoïque provient de gènes autosomiques possédant une force d'induction différente selon les lignées, et ayant comme allèle la paire XY. Les intersexués sont fortement influencés par la température et la durée du jour (photopériodisme). Dans la variété Nobel que nous utilisons,