Action de la lumière sur le pigment de Pseudomonas fluorescens Mig.

Autor(en): **Greppin, H. / Gouda, S.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **18 (1965)**

Heft 3

PDF erstellt am: **30.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-739253

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

à celle constatée lors de l'utilisation de glyoxylate ou lors de la raréfaction de l'oxygène dans le milieu ambiant [4].

En conclusion, l'utilisation de doses différentes de substances hydrocarbonnées ou aminées provoque de nettes variations dans la biosynthèse pigmentaire. Ces modifications de la biosynthèse pigmentaire s'accompagnent de transformations des systèmes de respiration terminale.

Manuscrit reçu le 3 janvier 1966.

RÉFÉRENCES

1. CHODAT, F. et S. GOUDA, Contribution à la connaissance du pigment de *Pseudomonas fluorescens*. *Path. Microbiol.*, *24*, 840-847 (1961).
2. GOUDA, S., Surproduction de cytochromes due à la présence de glyoxylate chez *Pseudomonas fluorescens*. *Arch. Sci. 17*, 103-114 (1964).
3. —— et F. CHODAT, Glyoxylate et succinate, facteurs déterminant respectivement l'hypochromie et l'hyperchromie des cultures de *Pseudomonas fluorescens*. *Path. Microbiol.*, *26*, 655-664 (1963).
4. LENHOFF, H.M., D.J.D. NICHOLAS et N.O. KAPLAN, Effects of oxygen iron and molybdenum on routes of electron transfer in *Ps. fluorescens J. Biol. Chem.*, *220*, 983 (1956).

H. GREPPIN et S. GOUDA. — Action de la lumière sur le pigment de Pseudomonas fluorescens Mig.

INTRODUCTION

Pseudomonas fluorescens synthétise un pigment exogène jaune à fluorescence verte. Ce pigment extracellulaire est très soluble dans l'eau, insoluble dans les solvants organiques; son absorption dans l'ultraviolet et le visible, ainsi que sa fluorescence varient selon le pH et le rH du milieu [1, 2].

Désigné tantôt par le nom de fluorescéine bactérienne ou fluorescine, tantôt par celui de pyoverdine, il a pour origine un précurseur endogène absorbant dans l'ultraviolet et présentant une fluorescence bleue [1, 2, 3].

Chodat et Gouda ont profondément transformé les notions relatives à ce pigment, notamment en démontrant la filiation entre différents états d'un seul pigment, de nature pyrrolique [2, 4].

La lumière peut exercer des actions très variées:

1) Evolution du pigment (oxydoréduction) [1, 5].
2) Accumulation du pigment (stimulation par le rouge, inhibition par le bleu) [5].
3) Production du pigment (très forte stimulation par le bleu, légère par le rouge) [1].
4) Utilisation imposée du pigment à des fins respiratoires accessoires [1].

RÉSULTATS

A. *Etude in-vitro*

Nous avons utilisé un pigment purifié, obtenu après passage d'un filtrat de culture sur une résine Amberlite XE 97, régénérée selon les techniques habituelles. La fraction pigmentaire a été recueillie lors de l'élution avec une solution de NaOH 1 %.

Nous avons mesuré le spectre d'absorption (spectrophotomètre Unicam) et de fluorescence (fluorimètre Photovolt) du pigment, mis en solution dans des erlens placés à l'obscurité, en lumière rouge et en lumière bleue. Nous avons d'autre part, travaillé sous différentes atmosphères: azote, gaz carbonique, air.

ETUDE DU PIGMENT IN-VITRO			
	N_2	CO_2	AIR
OBSCURITE	PIC A 400 mmu (ETAT OXYDE), FLUORESCENCE VERTE		
ROUGE	D.O. ↗ ↗	↗	↗
	PHOTOLYSE ET PHOTOOXYDATION TRES LENTES ------→ 390 mmu	↗ 350 mmu	FL. BLEUE-VERTE
BLEUE	D.O. ↘	↘ ↘ ↘	↘ ↘ ↘ ↘
	PHOTOLYSE → 390 mmu ↗ 350 mmu FL. BLEUE ↗	PHOTOLYSE ET PHOTOOXYDATION → 390 mmu, puis + ↗ ↗ ↗ 350 mmu FL. BLEUE ↗ ↗ puis ↘ ↘ ↘	
ROUGE : 8 000 ergs/s.cm^2 ; BLEUE : 4 000 ergs/s.cm^2			

TABLEAU 1

Nous constatons que le pigment est relativement stable. C'est un mauvais donneur d'électrons dont l'oxydation est accélérée par la lumière [1].

B. *Etude in-vivo*

Le pigment se présente sous forme d'états distincts et successifs (oxydoréduction) au cours de la culture. Chacun de ces états est caractérisé par l'allure spectrale

de son absorption et de sa fluorescence [1, 5]. L'analyse photobiologique permet de distinguer trois états:

1) Pigment dans un équilibre où la forme réduite prédomine (390 mmu); obscurité.
2) Pigment dans un équilibre où prédomine la forme oxydée d'utilisation biologique (430 mmu); lumière rouge.
3) Pigment oxydé irréversiblement (390 mmu et 350 mmu); lumière bleue.

Cette évolution n'est observable qu'en milieu non agité. Dans le cas contraire, l'oxygène déplace trop rapidement l'équilibre vers l'oxydation irréversible.

Nous avons complété l'étude de l'évolution du pigment par un examen électrophorétique d'extraits de filtrats de cultures en lumière et à l'obscurité (électrophorèse sur papier; extraction selon la méthode II de Gouda) [4].

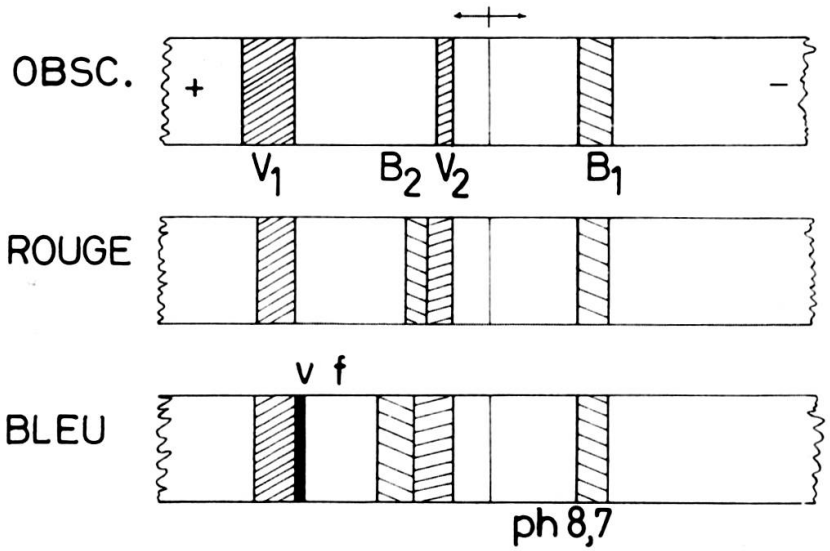


Fig. 1

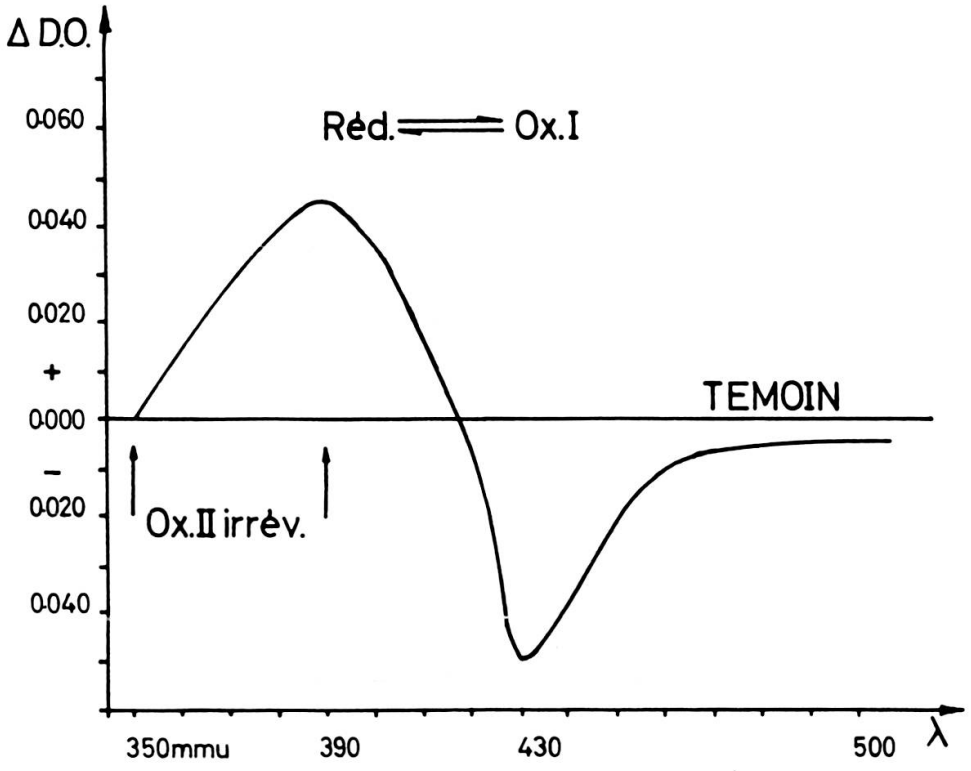
Nous constatons, à l'obscurité, l'absence de la fraction B_2; ce qui indique bien que le pigment est dans un état plutôt réduit. Nous avons trouvé, en lumière bleue, de nouvelles fractions indiquant un état oxydé très avancé.

Nous avons montré par voie physique, chimique et biochimique la possibilité d'une fonction rédox du pigment [1, 2, 5, 6]. La lumière, *in-vitro* et *in-vivo*, favorise cette fonction en rendant la molécule meilleure donneuse d'électrons. Par la méthode de Thunberg, nous avons suivi la réduction du pigment purifié, par un homogénat bactérien (anaérobiose), puis son oxydation ménagée par de l'oxygène. La pyoverdine est capable de fonctionner comme accepteur terminal d'électrons, rôle habituellement dévolu à l'oxygène. Le spectre différentiel nous permet d'isoler mathématiquement

du mélange en équilibre rédox, la forme réduite (390 mmu) et la forme oxydée (430 mmu) d'utilisation biologique (Ox. I).

Quelle est la fonction de la lumière dans l'utilisation du pigment comme voie respiratoire terminale accessoire? Les photons imposent la circulation d'électrons en diminuant la barrière de potentiel du pigment.

Lorsque l'intensité de la lumière est trop forte, il y a photodestruction et arrêt du fonctionnement de la pyoverdine. A l'obscurité, le pigment joue essentiellement le rôle de tampon rédox et de tampon pH (fixation de gaz carbonique). Son bas potentiel associé à son faible pouvoir donneur d'électrons, en font un bon protecteur contre les fortes tensions d'oxygène (20 %). Il ne faut pas oublier que *Pseudomonas fluorescens*



Graphique 1
Spectre différentiel d'oxydoréduction biologique de la pyoverdine

n'a une respiration normale (cytochromique) que sous faibles tensions d'oxygène. Dans les autres conditions, il se met en anaérobiose relative, en adoptant une respiration terminale de type flavinique [7, 8]. Le pigment n'apparaît que dans ces conditions et le fait que sa synthèse soit favorisée par l'oxygène indique bien son rôle protecteur. C'est surtout en présence de lumière qu'il peut exercer sa fonction respiratoire (photorespiration).

Il y a deux sites d'oxydoréduction. Le premier (rouge) a besoin de relativement peu d'énergie d'activation (site bon donneur d'électrons), le deuxième (bleu) est

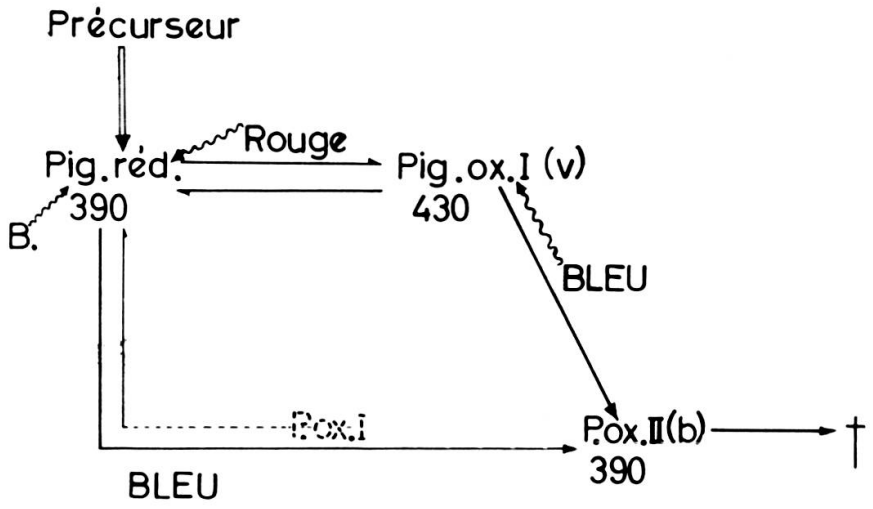


Fig. 2
Action de la lumière sur la pyoverdine

plutôt un site bon accepteur d'électrons. Ceci nous amène à supposer que la pyoverdine, dont la composition chimique est fort mal connue, serait un pigment à deux têtes: pyrrolique d'une part et flavinique (ptérinique, phénazique, quinonique) d'autre part?

Laboratoire de physiologie végétale,
Institut de botanique générale,
Université de Genève.

Manuscrit reçu le 5 janvier 1966.

BIBLIOGRAPHIE

1. GREPPIN, H., Quelques réactions photomorphogènes chez *Pseudomonas fluorescens* (introduction à l'étude des effets primaires de la lumière sur les hétérotrophes: *Pseudomonas*, *Allomyces* et *Neurospora*). *Thèse n° 1397*, Université de Genève, 1965.
2. GOUDA, S., *Thèse*, paraîtra en 1966.
3. ELLIOTT, R.P., Some Properties of Pyoverdine, the water-soluble pigment of the *Pseudomonas*. *Appl. Microbiol.*, *6*, 241, 1958.
4. CHODAT, F. et S. GOUDA, Contribution à l'étude du pigment de *Pseudomonas fluorescens*. *Path. Microbiol.*, *24*, 840, 1961.
5. GREPPIN, H. et S. GOUDA, Influence de la lumière sur la formation du pigment de *Pseudomonas fluorescens Mig.* (filtrat). *Path. Microbiol.*, *25*, 624, 1962.
6. GOUDA, S., Oxydo-réductibilité du pigment de *Pseudomonas fluorescens* in vivo et in vitro. *Path. Microbiol.*, *28*, 107, 1965.
7. LENHOFF, H.M., D.J.D. NICHOLAS et N.O. KAPLAN, Effects of Oxygen, Iron and Molybdenum on routes of electron transfer in *Pseudomonas fluorescens*. *J. Biol. Chem.*, *220*, 983, 1956.
8. GOUDA, S., Surproduction de cytochromes due à la présence de glyoxylate chez *Pseudomonas fluorescens*. *Arch. sciences* (Genève), *17*, 103, 1964.