

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 3 (1972)

Artikel: L'alternative respiratoire chez *Pseudomonas fluorescens* en fonction de l'offre du milieu
Autor: Greppin, H. / Gouda, S.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099338>

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>

L'alternative respiratoire chez *Pseudomonas fluorescens* en fonction de l'offre du milieu

H. GREPPIN & S. GOUDA

RÉSUMÉ

L'activité catalasique de *Pseudomonas fluorescens* est particulièrement intense dans les cultures achromes ou faiblement chromogènes; cette enzyme est liée à un type de respiration terminale à prédominance cytochromique et peroxydasique. L'alternative respiratoire (flavinique-cyanorésistante et cytochromique-cyanosensible) dépend de l'offre du milieu (concentration en substrat nutritif et en oxygène).

SUMMARY

The catalasic activity of *Pseudomonas fluorescens* is particularly intense in achromic or slightly chromic cultures; this enzyme is linked to a type of terminal respiration that is dominantly cytochromic and peroxydasic in activity. The alternative system of respiration (flavinic-cyanoresistant and cytochromic-cyanosensitive) depends on the nature of the environment (concentration of the nutrient substrate and amount of oxygen).

ZUSAMMENFASSUNG

Die Katalaseaktivität bei *Pseudomonas fluorescens* ist in farblosen oder schwach chromogenen Kulturen besonders intensiv; dieses Enzym steht mit einer Art Endatmung in Zusammenhang, wobei hauptsächlich eine zytochromatische und peroxydasische Aktivität auftritt. Die alternativen Atmungsmöglichkeiten (flavinisch-cyanoresistent und zytochromatisch-cyanoempfindlich) hängen vom dargebotenen Milieu ab (Nährstoff- und Sauerstoffgehalt).

Introduction

L'adaptation de *Pseudomonas fluorescens* aux différentes tensions d'oxygène, se traduit par des modifications de la composition des systèmes transporteurs de la chaîne respiratoire terminale. Dans tous les cas observés, l'appauvrissement en oxy-

gène exalte la synthèse en composés tétrapyrroliques: cytochromes, catalase et peroxydase (1, 2, 3). Toutefois, Meyer & Wurtz, n'arrivent pas à la même conclusion; le facteur essentiel étant plutôt la composition du milieu (4).

La sécrétion du pigment vert fluorescent (pyoverdine) est étroitement liée à l'adaptation respiratoire, dictée par le milieu ambiant (5, 6, 7). Les bactéries issues de milieux différemment colorés, possèdent des caractéristiques morphologiques et physiologiques bien déterminées (8, 9, 10). La production de pyoverdine est l'indice d'une respiration terminale essentiellement flavinique alors que les cultures achromes ont tendance à adopter un système plus riche en composés tétrapyrroliques (cytochromes, etc.).

Si la composition du milieu joue un rôle important (5), la concentration en substrat détermine, elle aussi, pour une large part l'alternative respiratoire: flavinique-cyanorésistante, "cytochromique"-cyanosensible. L'augmentation du substrat aboutit à une inhibition de la chromogénèse et une exaltation de la synthèse en cytochromes (6, 9).

En culture simple, les bactéries s'adaptent continuellement au milieu nutritif qu'elles font varier progressivement au cours de leur croissance. En culture continue, il s'établit rapidement un équilibre entre le taux de prolifération des germes et le taux de dilution du milieu (autostabilisation), par adoption d'une certaine composition (modifications quantitatives et qualitatives) de l'appareil transformateur d'énergie (systèmes de respiration terminale). L'étude comparée des deux types de culture (9), nous permet de mieux saisir la cinétique d'adaptation respiratoire de la bactérie à l'offre du milieu.

Matériel et méthodes

Germe: Pseudomonas fluorescens Mig., souche B 52, collection de l'Institut de botanique générale.

Milieu de culture: la composition du milieu de base est la suivante,

Sulfate de magnésium	0.3 g
Phosphate bipotassique.	0.3 g
Eau distillée ad	1000 ml

Pour les cultures continues trois concentrations de lactate d'ammonium 60% ont été utilisées: 0.3‰, 2‰, 15‰. Le pH est ajusté à 7.0 au moyen d'une solution de NaOH 10% et la température d'incubation est de 25°C.

Les cultures continues sont faites dans des ballons de 2.5 litres, contenant 1 litre de milieu nutritif. La régénération du milieu est réalisée par l'intermédiaire d'un dispositif à débit contrôlé et l'évacuation du surplus par un mécanisme d'aspiration maintenant un volume constant (1 litre). Les cultures sont maintenues en état d'agitation permanente par l'intermédiaire d'un agitateur mécanique, assurant ainsi, une tension d'oxygène constante (21%). Des essais, sous différentes tensions d'oxygène (3% jusqu'à 100%) ont été réalisés.

L'inoculation des milieux de culture continue est réalisée à partir d'un milieu de composition similaire,ensemencé depuis 24 heures et cultivé avec agitation à 25°C, dans des erlens de 250 ml.

L'estimation du trouble de croissance est faite au néphélomètre de Pulfrich. La détection et l'estimation des cytochromes sont réalisées selon un procédé similaire à celui de Shibata (11). Pour ces mesures, nous avons employé un spectrophotomètre Unicam SP 800, comprenant un dispositif d'amplification des spectres associé à un enregistreur Beckmann. Pour éprouver la fidélité de la méthode, nous avons surchargé des suspensions de bactéries par une solution de titre connu en cytochrome c d'origine animale. L'évaluation de la quantité de pigment synthétisé a été faite sur le surnageant des centrifugations des milieux de culture, à une longueur d'onde de 420 millimicrons: zone de point isobestique des états réduits et oxydés du pigment (12, 13).

Le dosage des protéines est réalisé par le réactif de Folin et Ciocalteu selon la méthode de Lowry (14). Une courbe d'étalonnage de caséine pure d'Hoffmann la Roche sert de référence.

Nous avons mesuré, par la méthode manométrique de Warburg, l'activité catalasique en suivant le dégagement d'oxygène à partir d'eau oxygénée. A 0.4 ml de suspension bactérienne, nous avons ajouté 2 ml de tampon phosphate 1/15 M à pH 7.0. Il y a 0.3 ml de KOH 20% dans l'auge centrale. En cours d'expérience, 0.3 ml d'eau oxygénée 1% ont été ajoutés à la suspension bactérienne. Le dégagement d'oxygène est suivi pendant 25 minutes. Il est tenu compte d'un témoin sans eau oxygénée.

Résultats

En culture continue, il y a autostabilisation de la croissance bactérienne; pour chaque concentration en substrat, il existe un taux spécifique de croissance μ , variant en fonction du taux de dilution D du milieu nutritif. Lorsque le débit est constant, μ est constant et le nombre de germes est stable (15, 16). A mesure que D augmente, le nombre de germes diminue, jusqu'à une vitesse limite où le taux de dilution devient plus rapide que la vitesse maximale de multiplication des bactéries. Pour maintenir ses différents taux de croissance à des valeurs constantes aux différents taux de dilution du milieu, la bactérie doit adapter sa demande en nourriture à l'offre, en modifiant le dispositif producteur d'énergie: l'appareil respiratoire terminal. A cette fin, *Pseudomonas fluorescens* fait varier qualitativement et quantitativement les pigments associés aux deux voies de l'alternative respiratoire.

Dans les trois systèmes utilisés (0.3‰, 2‰, 15‰) il y a, simultanément, action de la concentration et de la vitesse de variation de la concentration. En culture continue, on peut en quelque sorte se déplacer dans le temps: les forts débits correspondent à la situation de départ dans les cultures simples, les débits lents à celle en fin de culture.

Lorsque l'on fait évoluer D de 0 à une valeur maximale, les bactéries présentent des modifications physiologiques et morphologiques caractéristiques. Les modifica-

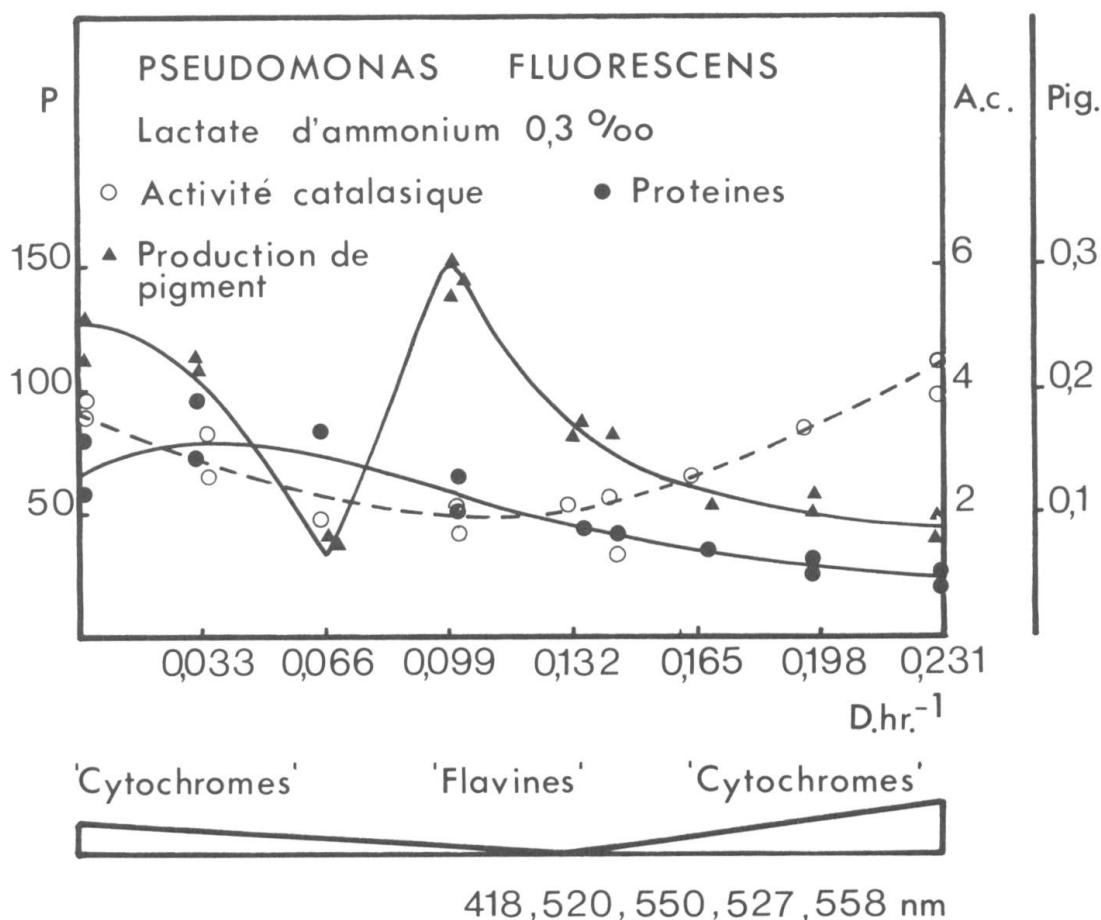


Fig. 1. — Culture continue à faible concentration en lactate d'ammonium (● protéine en γ/ml ; ▲ production de pigment D.O. à 420 nm. 10^3 / indice néphélométrique; ○ activité catalasique en $\mu\text{M O}_2/\text{min}/\text{mg}$ protéines). Bandes d'absorption des cytochromes et représentation semi-quantitative de leur importance globale.

tions respiratoires sont similaires à celles observées aux différentes phases de la prolifération en culture simple.

On peut, chez *Pseudomonas fluorescens*, suivre l'évolution des systèmes respiratoires par l'étude de la production en pyoverdine. C'est la concentration du substrat qui fixe les limites d'évolution et les possibilités d'adaptation de la bactérie. Les milieux à fortes concentrations sont défavorables à la synthèse du pigment; les bactéries sont alors riches en cytochromes. Nous rejoignons ici les conclusions de Pouteau-Thouvenot sur *Pseudomonas roseus fluorescens* (17). Pour que la bactérie devienne chromogène, la concentration du substrat doit atteindre un seuil critique. Dans les cultures simples (lactate d'ammonium 2‰), ce seuil est atteint au cours de la période logarithmique de croissance, pendant la phase c (7).

L'activité catalasique, spécifique des bactéries aérobies (18), varie suivant la concentration en nourriture. Dans les milieux à forte concentration en substrat

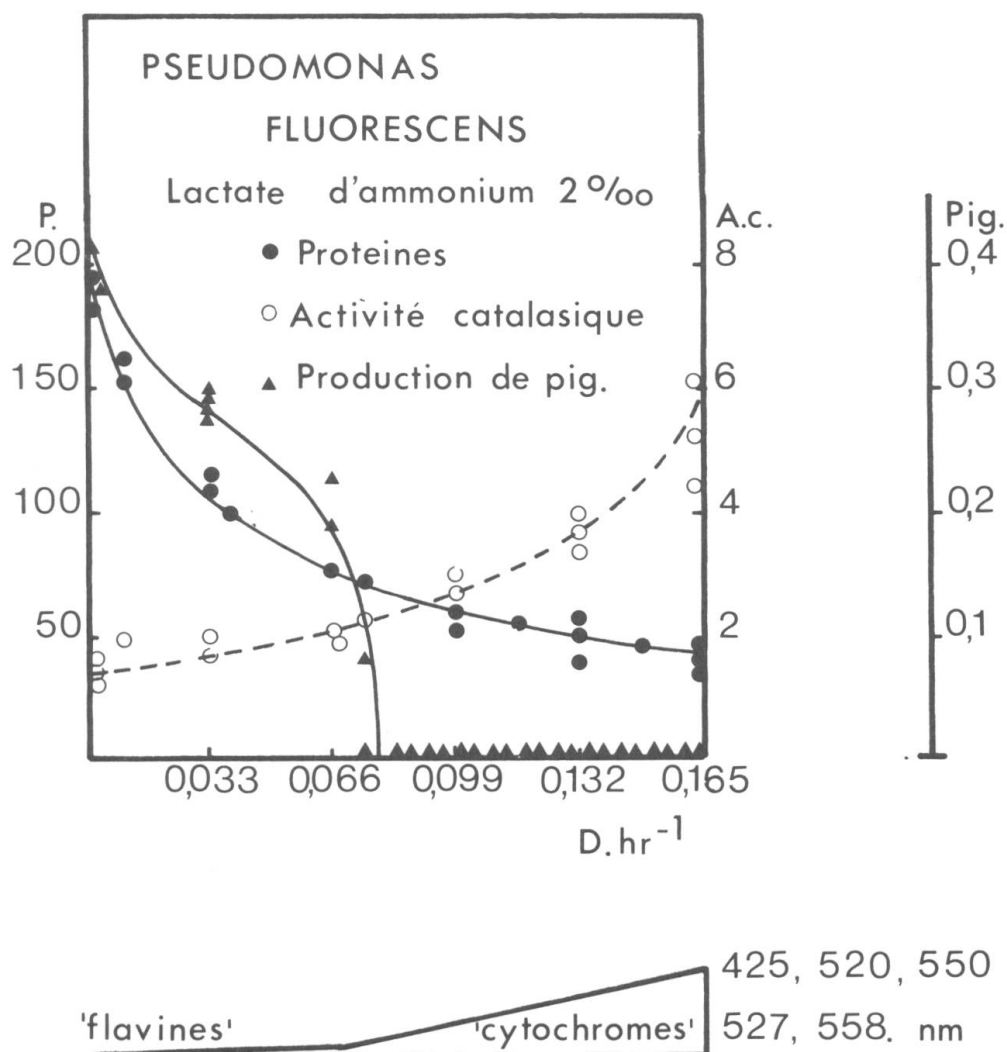


Fig. 2. — Culture continue en présence d'une quantité moyenne de lactate d'ammonium.

(par ex. fig. 1), il y a augmentation graduelle de l'activité catalasique en fonction de D; à concentration normale (fig. 2), la baisse de l'activité catalasique correspond à l'apparition du pigment vert fluorescent et à la disparition des cytochromes. La respiration devient de plus en plus cyanorésistante (10). Le produit du taux de dilution par la quantité de protéines produites nous renseigne sur l'efficacité de la production de protéines sous régime flavinique et cytochromique. Ce dernier système est nettement supérieur. Toutefois, il n'apparaît pas nécessairement comme le plus économique pour l'équilibre socio-écologique de ce germe.

Les cultures à faible concentration (0.3‰) révèlent un indice de production pigmentaire élevé associé à une activité catalasique relativement forte (fig. 3).

Si l'on modifie la tension d'oxygène, on constate que l'hyperaérobiose favorise l'apparition de la pyoverdine, la baisse de l'activité catalasique et la disparition des

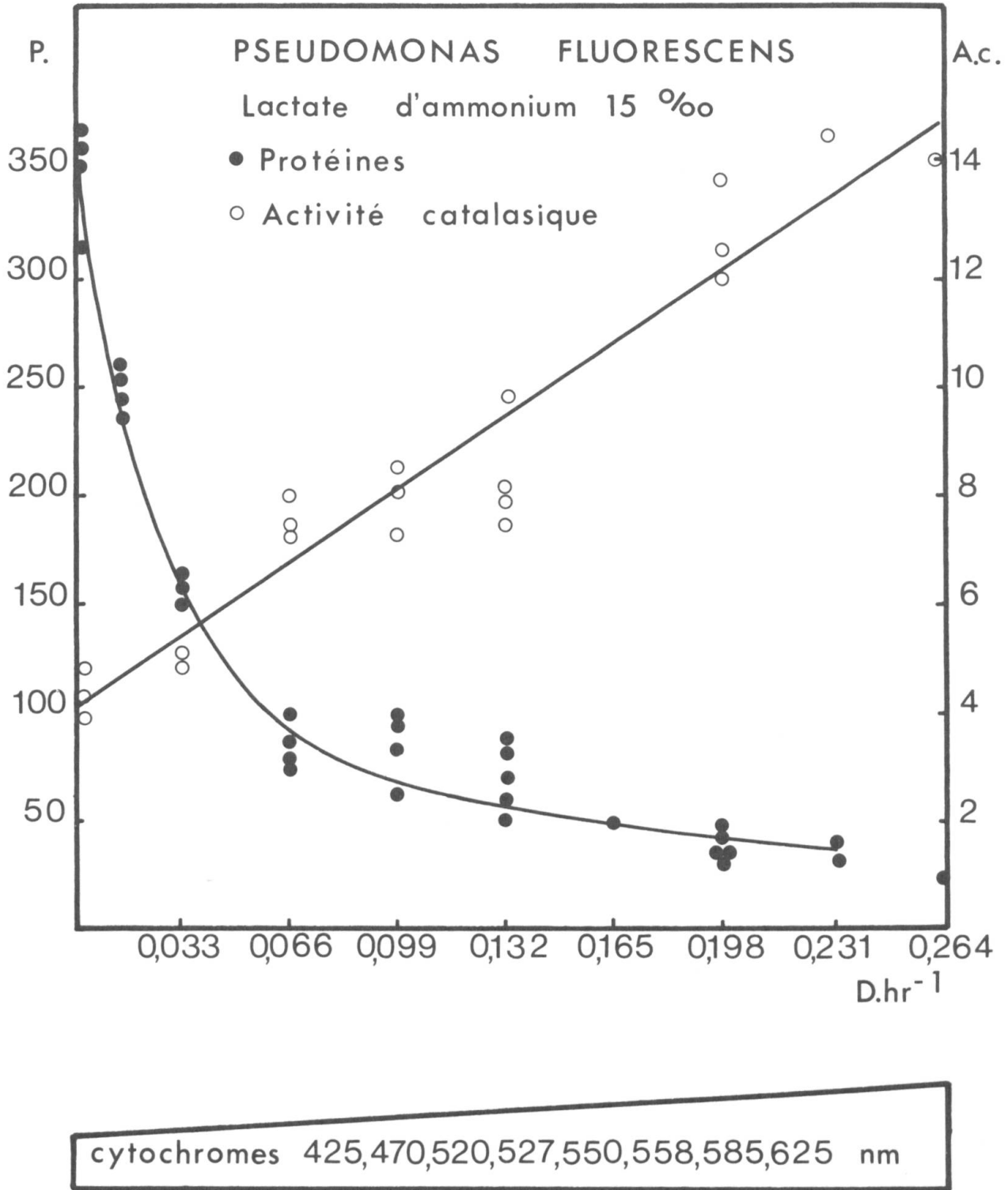


Fig. 3. – Culture continue à forte concentration en lactate d'ammonium.

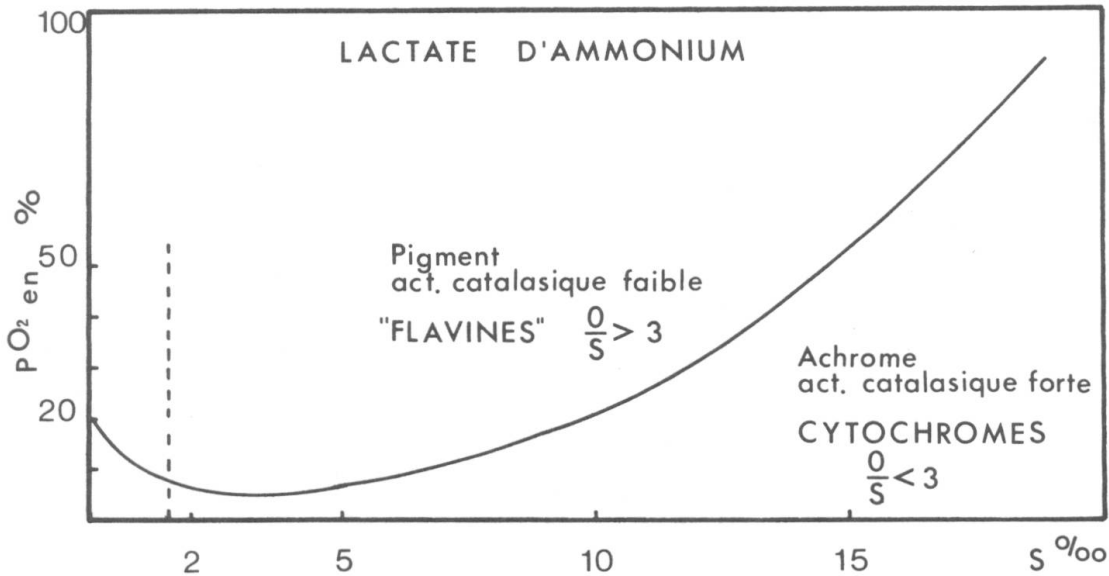


Fig. 4. — Passage, en culture simple, du système cytochromique au système flavinique en fonction de la concentration en lactate d'ammonium et en oxygène. Le passage n'est pas discontinu mais progressif. Le rapport $O/S = 3$ est approximatif.

cytochromes (augmentation de la cyanorésistance). Par contre, l'hypoaérobiose favorise l'apparition de cultures achromes, riches en cytochromes (fig. 4).

En culture continue, à mesure que D diminue, il y a diminution de la concentration en substrat disponible et de ce fait, l'équilibre O/S tend à favoriser l'action de l'oxygène; la culture adoptera les caractéristiques spécifiques d'une aérobose de plus en plus marquée (chromogénèse intense, faible activité catalasique, faible teneur en cytochromes, etc.). C'est dans les conditions qui nous éloignent de l'aérobose (faible concentration en oxygène ou forte concentration en nourriture) que les cytochromes et la catalase se développent particulièrement. C'est donc le rapport O/S qui conditionne l'équilibre respiratoire et de ce fait l'anabolisme qui en découle.

Dans les cultures fortement chromogènes, les cytochromes sont très faiblement visibles (fig. 1, 2). L'arrêt de la chromogénèse est associé à une stimulation de la synthèse de cytochrome c. Un second pigment, de type b apparaît dépassant dans certains cas la concentration du cytochrome c. Dans les cultures riches en substrat (15‰), il y a en plus une absorption dans la zone des cytochromes de type a (fig. 3). Il y a donc modifications quantitatives et qualitatives de la chaîne respiratoire terminale en fonction de l'offre du milieu.

Discussion

L'ensemble des facteurs nutritifs et physiques d'un système de culture agit sous la forme d'une composante inductive, déterminant l'adoption d'un type de respi-

ration adéquat. Les modifications de la chaîne respiratoire se font dans les limites des possibilités d'adaptation de la bactérie.

Lenhoff et Rosenberger attribuent à la tension d'oxygène un rôle primordial dans la détermination du choix respiratoire. Le présent travail met en évidence le rôle de la concentration en substrat nutritif. Cette bactérie très peu exigeante se rapproche sensiblement des autotrophes. Cette semi-autotrophie facilite l'étude du rôle des modifications de la concentration en nourriture.

L'adaptation bactérienne se caractérise par une tendance à la libération harmonieuse de l'énergie potentielle emmagasinée dans le substrat nutritif. L'énergie libérée doit répondre aux possibilités de développement. A chaque période, la bactérie sera à la recherche des conditions optimales pour son développement. Lors des modifications du milieu ambiant, la culture bactérienne sera munie d'un système respiratoire inférieur ou supérieur à ses besoins et tendra automatiquement vers un nouvel équilibre.

La demande génétique pour un programme de travail déterminé doit s'adapter constamment à l'offre du milieu (rapport comburant/carburant). Ceci est réalisé à travers les modifications incessantes, tant quantitatives que qualitatives, des appareils transformateurs d'énergie (chaînes respiratoires). Toutefois, la demande ne peut excéder les possibilités de l'offre. Ce réglage ne tend pas toujours nécessairement à l'adoption du système tirant le maximum d'énergie du milieu (ex.: sexualisation mâle chez *Allomyces javanicus*); mais il doit permettre par un ajustement fin du système transformateur d'énergie l'expression des différents programmes de travail de l'individu et le moment venu de garantir la survie de l'espèce.

L'adoption d'un moteur respiratoire déterminé conditionne le choix d'un programme métabolique de travail et vice-versa; mais cet ajustement est, dans une certaine mesure, dépendant de l'offre du milieu (rapport O/S) et de sa vitesse de variation (commandée par le nombre de germe). Il y a donc un servomécanisme liant le milieu à l'activité cellulaire (commande génétique) (fig. 5).

L'alternative respiratoire et son contrôle à travers le rapport de l'offre en oxygène et en nourriture permettent une modulation fine et précise de la circulation de l'énergie et de son investissement dans l'anabolisme bactérien.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Lenhoff, H. M. & N. O. Kaplan (1953) A cytochrome peroxydase from *Pseudomonas fluorescens*. *Nature* 172: 730.
2. — D. J. D. Nicholas & N. O. Kaplan (1956) Effects of oxygen, iron and molybdenum on routes of electron transfer in *Pseudomonas fluorescens*. *J. Biol. Chem.* 220: 983.

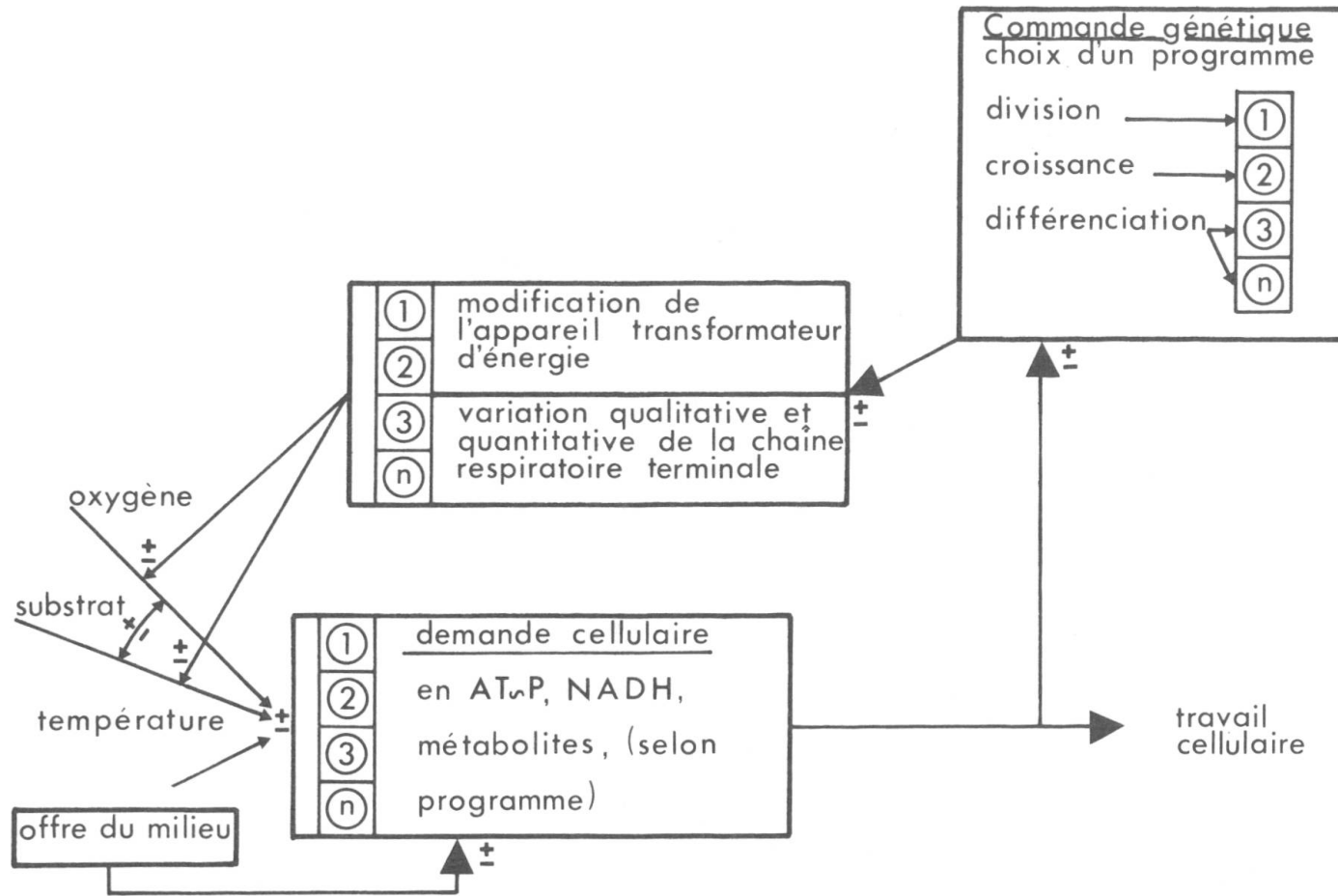


Fig. 5. – Modèle schématisant les relations entre l'offre du milieu, l'appareil respiratoire et la demande cellulaire (commande génétique).

3. Rosenberger, R. F. & M. Kogut (1958) The influence of growth rate and aeration on the respiratory and cytochrome system of a fluorescent *Pseudomonas* grown in continuous culture. *J. Gen. Microbiol.* 19: 228.
4. Meyer, E. & B. Wurtz (1964) Influence des conditions de culture sur l'activité catalasique de mutants R et S d'une souche de *Pseudomonas fluorescens*. *Compt.-Rend. Hebd. Séances Mém. Soc. Biol.* 158: 821.
5. Gouda, S. & F. Chodat (1963) Glyoxylate et succinate, facteurs déterminant respectivement l'hypochromie et l'hyperchromie des cultures de *Pseudomonas fluorescens*. *Pathol. Microbiol.* 26: 655.
6. – & H. Greppin (1965) Biosynthèse pigmentaire chez *Pseudomonas fluorescens* en fonction de la concentration du substrat hydrocarboné ou aminé. *Arch. Sci.* 18: 717.
7. – (1966) *Etude sur le pigment de Pseudomonas fluorescens et de ses incidences avec le type de respiration terminale*. Thèse.
8. Auderset, G., M. Baumann & H. Greppin (1966) Morphologie de *Pseudomonas fluorescens* dans différentes conditions de culture. *Compt. Rend. Séances Soc. Phys. Genève* n.s. 1: 91.
9. Gouda, S. & H. Greppin (1966) Cultures à approvisionnement successif et induction respiratoire chez *Pseudomonas fluorescens*. *Compt. Rend. Séances Soc. Phys. Genève* n.s. 1: 104.
10. – & H. Greppin (en préparation) *Cyanosensibilité et alternative respiratoire chez Pseudomonas fluorescens*.
11. Shibata, K., A. A. Benson & M. Calvin (1954) The absorption Spectra of Suspension of living microorganisms. *Biochim. Biophys. Acta* 15: 461.
12. Gouda, S. (1965) Oxydo-réductibilité du pigment de *Pseudomonas fluorescens* in-vivo et in-vitro. *Pathol. Microbiol.* 28: 107.
13. Greppin, H. & S. Gouda (1965) Action de la lumière sur le pigment de *Pseudomonas fluorescens*. *Arch. Sci.* 18: 721.
14. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr & J. R. Randal (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265.
15. Monod, J. (1950) La technique des cultures continues: théorie et applications. *Ann. Inst. Pasteur* 79: 390.
16. Herbert, D., R. Elsworth & R. C. Telling (1950) The continuous Culture of Bacteria; a Theoretical and Experimental Study. *J. Gen. Microbiol.* 14: 601.
17. Pouteau-Thouvenot, M. (1959) Rapport entre le pouvoir chromogène et divers aspects métaboliques de *Bacillus roseus fluorescens* en fonction de la concentration du milieu de culture en sulfate ferreux. 1. Etude sur les cytochromes contenus dans les corps bactériens. *Trav. Lab. Microbiol. Fac. Pharm. Nancy* XIX: 133.
18. Gunsalus, I. C. & R. Y. Stanier (1961) *The Bacteria*. Academic Press, N.Y.