

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 6 (1975)

Artikel: Filiation entre les différentes formes du complexe pigmentaire de *Pseudomonas fluorescens*
Autor: Michea, Mehri / Greppin, Hubert
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099072>

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>

Filiation entre les différentes formes du complexe pigmentaire de *Pseudomonas fluorescens*

MEHRI MICHEA & HUBERT GREPPIN

Résumé

MICHEA, M. & H. GREPPIN (1975). Filiation entre les différentes formes du complexe pigmentaire de *Pseudomonas fluorescens*. *Saussurea* 6: 293-298.

La filiation entre les différentes formes du complexe pigmentaire de *Pseudomonas fluorescens* a été suivie au moyen de métabolites radioactifs. Une filiation a été établie entre les cinq formes pigmentaires séparées sur gel Sephadex. Ce résultat a été confirmé par l'utilisation de différentes fractions pigmentaires marquées.

Abstract

MICHEA, M. & H. GREPPIN (1975). Relationships between the different fractions of the *Pseudomonas fluorescens* pigment. *Saussurea* 6: 293-298. In French.

The relationships between the five different fractions of the *Pseudomonas fluorescens* pigment has been studied by means of C 14-metabolites. The appearance of the different fractions separated by Sephadex gel filtration is sequential. This result has been corroborated with the use of C 14-pigment's fractions.

Introduction

Pseudomonas fluorescens est une bactérie mobile, gram négatif, appartenant au groupe des Pseudomonadales fluorescentes, décrit pour la première fois en 1886 par Flügge. Cette bactérie a fait l'objet de nombreux travaux dans le Département de biologie végétale, travaux réalisés par le Professeur F. Chodat et ses collaborateurs dès 1945.

Elle sécrète dans le milieu un complexe pigmentaire hydrosoluble jaune à fluorescence verte et bleue, de structure chimique inconnue. Ce complexe est connu sous les dénominations suivantes: pyoverdine, fluorescéine bactérienne, fluorescine et pigment vert fluorescent de *Pseudomonas fluorescens*.

La pyoverdine est fortement influencée par les facteurs nutritifs: le succinate est, par exemple, un facteur favorisant la chromogénèse (GOUDA & CHODAT, 1963).

Les travaux de GIRAL (1936) et de NAVES (1955) ont mis en évidence l'existence de deux substances possédant des caractéristiques différentes (composantes I et II). En 1961, la séparation par électrophorèse sur papier du complexe pig-

mentaire en cinq fractions (CHODAT & GOUDA, 1961), et la démonstration, *in vitro*, d'une filiation possible entre ces fractions ont changé la notion de dualité pigmentaire au profit de l'unicité de formes dérivant les unes des autres. Gouda émet l'hypothèse de la biogenèse du complexe à partir d'un précurseur commun (substance achrome à fluorescence bleue). FAVRE (1969) ayant constaté que l'électrophorèse dégradait le pigment, s'orienta vers la séparation sur gel Sephadex et obtint ainsi cinq fractions ne correspondant pas exactement à celles décrites par Gouda (FAVRE & GREPPIN, 1971). L'étude fut poursuivie par Michea qui améliora la méthode de séparation, caractérisa les cinq fractions et suivit l'évolution du complexe pigmentaire dans les milieux de culture. L'analyse chimique d'un hydrolysât mit clairement en évidence la nature polypeptidique du pigment, la nature exacte du chromophore restant encore inconnue; d'autre part, l'évolution des différentes fractions suggère bien l'existence d'une filiation entre elles (MICHEA & GREPPIN, 1973). Nous avons voulu vérifier ce dernier point au moyen de métabolites radioactifs.

Matériel et méthodes

Organisme

Pseudomonas fluorescens, souche B 52 (collection du Département de biologie végétale).

Milieu

Lactate d'ammonium 2 gr; SO_4Mg , 7 H_2O 0.3 gr; PO_4HK_2 0.3 gr; eau distillée ad... 1000 ml.

Le pH est ajusté à 7.3 au moyen de NaOH 10%. Les milieux sont stérilisés à l'autoclave pendant 20 min à 120°C.

Inoculum

Un inoculum standard âgé de 72 h (phase stationnaire: 10^8 bactéries/ml) a été utilisé; 0.05 ml d'une telle culture sont ajoutés à 50 ml de milieu nutritif.

Méthode de culture

50 ml de milieu sont répartis dans des Erlenmeyer de 150 ml; les flacons inoculés et cultivés à 25°C sont soumis à une agitation mécanique continue.

Analyses

La séparation et la mesure du complexe pigmentaire ont déjà été décrites (MICHEA & GREPPIN, 1973). Les protéines sont estimées par la méthode de LOWRY & al., (1951). Le marquage du complexe pigmentaire est réalisé de la manière suivante: 500 nCi d'acide succinique-2,3-C 14 (23mCi/mmole) sont ajoutés

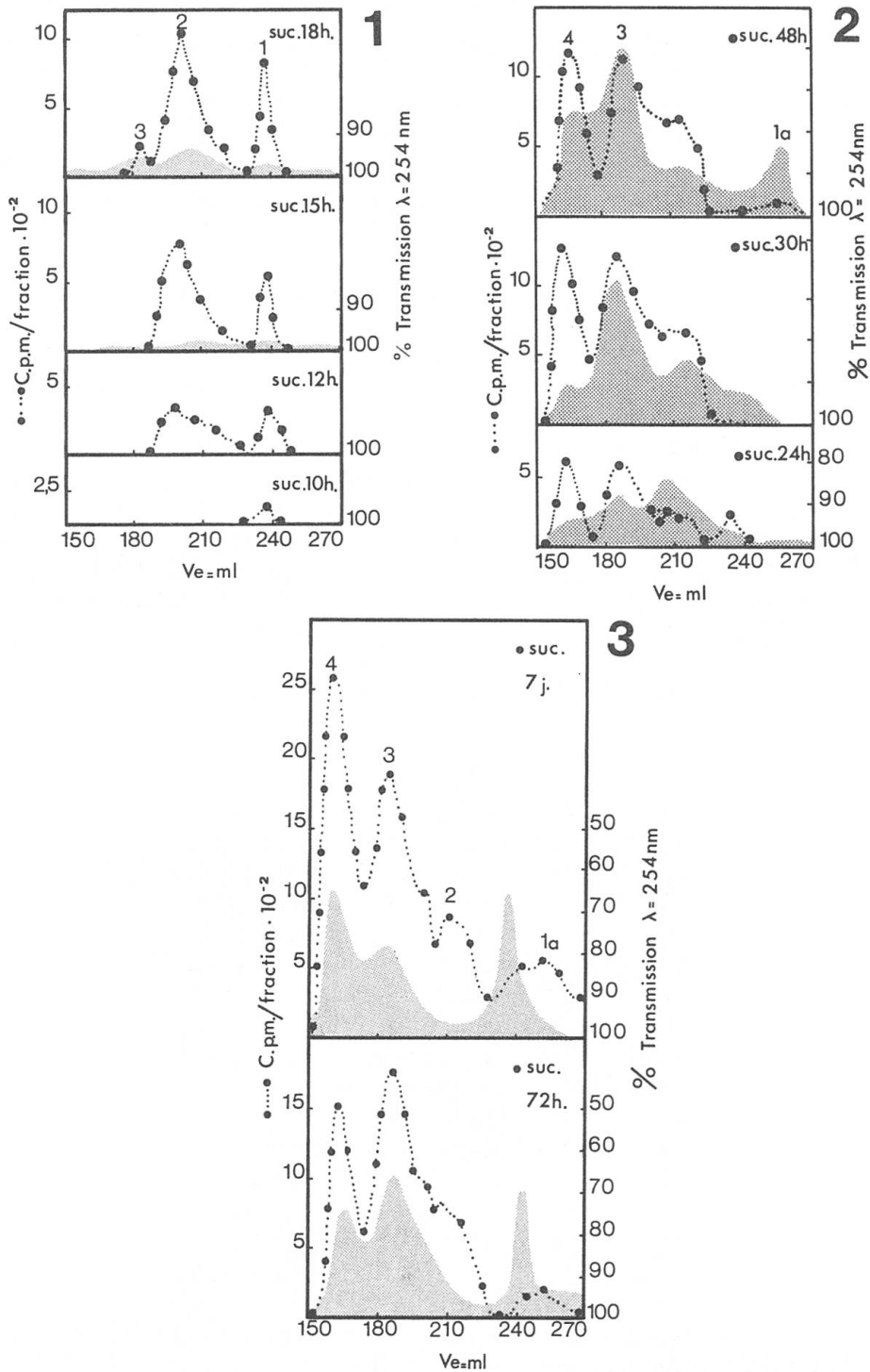


Fig. 1. — Séparation sur gel Sephadex G-15 du complexe pigmentaire au cours de la croissance de *Pseudomonas fluorescens*. Mesure de la radioactivité des fractions après marquage avec l'acide succinique-2,3-C 14 (c.p.m./ml de fraction $\cdot 10^{-2}$) et de la transmission à 254 nm (de 10 h à 18 h de culture).

Fig. 2. — Idem. Après 24 à 48 h de culture.

Fig. 3. — Idem. En fin de culture.

à 50 ml de milieu nutritif et dilués par la même substance non marquée de façon à obtenir une concentration finale de 10^{-4} M.

Lorsque la séparation pigmentaire est réalisée, 2 ml de chaque fraction sont mis dans des fioles en plastique et 15 ml de liquide scintillant (DAVILA & al., 1965) y sont ajoutés. L'activité isotopique est mesurée au scintillateur Beckman et Nuclear Chicago isocap. Le pourcentage de quenching a été déterminé pour chaque fraction.

Résultats

Nous observons (fig. 1) l'apparition de marquage radioactif dès la 10^e heure (fraction 1), puis dès la 12^e heure dans la zone d'élution de la fraction 2. Nous sommes encore dans la phase de latence de la culture et les chromatogrammes ne manifestent aucune absorption dans l'ultra-violet pendant cette période. A partir de la 18^e heure (début de la phase logarithmique de croissance) les fractions 1 et 2 atteignent un maximum de radioactivité et nous constatons l'apparition de la fraction 3. Après 24 heures de culture (fig. 2; fin de la phase logarithmique) toutes les fractions sont représentées. Nous observons un phénomène de balance entre les différentes fractions corroboré par l'examen de l'évolution de la quantité totale de pigment (transmission à 254 mn). Par la suite, nous voyons la fraction 1 disparaître (fig. 2), et une fraction 1a, tardive (produit de dégradation du pigment) apparaître et augmenter tout au long des périodes suivantes (fig. 3). Il est à noter que les cinq substances citées ci-dessus appartiennent bien au complexe pigmentaire (MICHEA, 1973). Les figures 4 et 5 illustrent les interrelations entre les différentes formes du complexe pigmentaire. Au vu de l'évolution totale de la fraction 2, l'augmentation de la radioactivité après 24 h doit certainement correspondre à un phénomène parasite.

Des expériences similaires au moyen de glycine marquée et d'acide Δ -amino-lévulinique ont donné des résultats identiques. L'ensemble de nos observations plaide en faveur d'une filiation entre les différentes formes du complexe pigmentaire. La première molécule synthétisée, F₁ est la molécule la plus légère; F₄, formée tardivement est la plus lourde. L'ordre d'apparition des fractions radioactives et leur transformation l'une dans l'autre (évolution de la radioactivité et de l'absorption des pigments) indiquent une interrelation métabolique.

Afin de pouvoir vérifier cette relation, *in vivo*, nous avons réalisé l'expérience suivante: les cinq fractions radioactives séparées et purifiées par chromatographie sur gel ont été ajoutées respectivement à cinq milieux de culture. Après 24 h d'incubation, la radioactivité des pigments synthétisés *de novo* a été analysée (tableau 1).

Nous constatons que les fractions 1, 2 et 3 sont absorbées par les bactéries (marquage de leurs protéines) contrairement aux fractions 4 et 1a. La fraction 4 inhibe même le développement bactérien (antibiotique?).

La fraction 1 donne naissance à toutes les fractions; les fractions 2 et 3 à toutes sauf la fraction 1. Les fractions 4 et 1a ne participent pas à la formation d'autres fractions. La participation des mêmes substrats à leur formation, la parenté spectrale des diverses fractions, la formation des unes à partir des autres, indiquent bien l'existence d'une structure chimique commune. La fraction 1 serait le précurseur, les

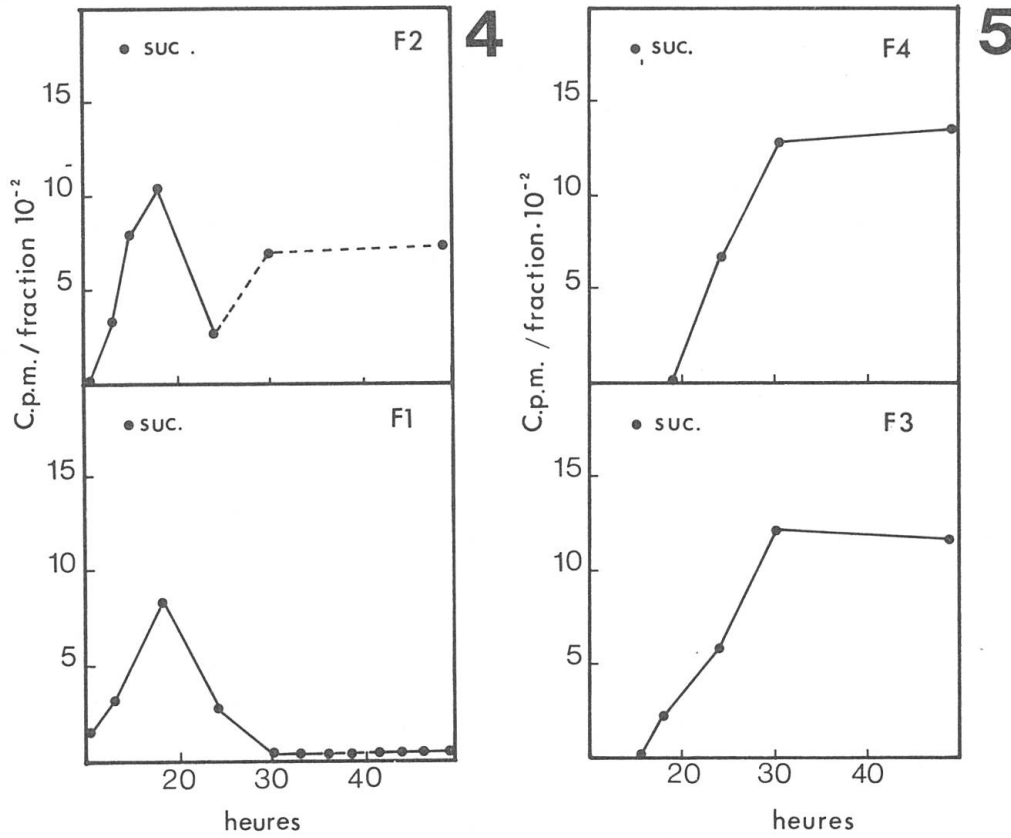


Fig. 4. – Evolution de la radioactivité des fractions pigmentaires 1 et 2 au cours de la culture. Fig. 5. – Evolution de la radioactivité des fractions pigmentaires 3 et 4 au cours de la culture.

fractions 2 et 3 des intermédiaires, la fraction 4 le produit final (1a étant un produit de dégradation). F₂ et F₃ sont des formes physiologiquement actives et en équilibre chimique.

Fraction administrée (cpm)	cpm/ml de fraction, après 24 h d'incubation					cpm/protéine bact. totale %
	1	2	3	4	1a	
1 50.000	1400	1105	389	176	85	17.0
2 60.900	—	3080	1500	460	100	9.0
3 90.400	—	1124	3750	845	208	5.0
4 70.200	—	—	—	6000	300	0.0
1a 30.100	—	—	—	102	2800	0.0

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHODAT, F. & S. GOUDA (1961). *Path. Microbiol.* 24: 840-847.
 DAVILA, C., P. CHARLES & L. LEDOUX (1965). *J. Chromatogr.* 19: 382-395.
 FAVRE, J. (1969). Travail de diplôme. Univ. Genève 80 p.

- FAVRE, J. & H. GREPPIN (1971). *Saussurea* 2: 25-28.
- GIRAL, F. (1936). *Anales Soc. Españ. Fis. Quim.* 34: 667-693.
- GOUDA, S. & F. CHODAT (1963). *Path. Microbiol.* 26: 655-664.
- LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDAL (1951). *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- MICHEA, M. (1973). Thèse n° 1611. Univ. Genève, 136 p.
- & H. GREPPIN (1973). *Compt. Rend. Séances Soc. Phys. Genève* 8: 19-31.
- NAVES, R. G. (1955). Thèse n° 1244. Univ. Genève, 77 p.