

## Effets de la monensine sur les gradients transmembranaires de $H^+$ , $Na^+$ et $K^+$ chez *Bacteroides succinogenes*, bactérie cellulosique du rumen

Evelyne FORANO

Laboratoire de Microbiologie, I.N.R.A.,  
Theix, 63122 Ceyrat, France.

---

**Summary.** The internal concentrations of the cations  $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  and their transmembrane concentration gradients were measured on *Bacteroides succinogenes* treated or not with  $10 \mu M$  of the ionophore monensin. Monensin caused a decrease in intracellular  $K^+$  and pH, and an increase in intracellular  $Na^+$ . The transmembrane electrical potential was only slightly decreased. Modifications in the intracellular concentration of these ions or modifications in their respective gradients are likely to be responsible of the antibiotic effect.

---

*Bacteroides succinogenes*, présente, contrairement à la plupart des bactéries à Gram négatif, une inhibition de croissance en présence de l'ionophore monensine à  $2,5 \mu g/ml$  (Chen et Wolin, 1979). Le but de ce travail est l'étude du mode d'action de la monensine sur cette bactérie. En effet, si l'effet de cet ionophore sur les principales fonctions du rumen a été largement étudié (modification des profils fermentaires, etc...), un nombre très limité de travaux concerne son mécanisme d'action sur les bactéries du rumen. La monensine catalysant un échange  $Na^+/H^+$  ou  $K^+/H^+$ , nous avons suivi les modifications des concentrations intracellulaires des cations  $H^+$ ,  $Na^+$  et  $K^+$  chez *B. succinogenes* après addition de l'ionophore.

**Matériel et méthodes.** *B. succinogenes*, S85, est cultivée sur le milieu synthétique de Bryant *et al.* (1959) modifié au laboratoire, en présence de 5 g/l de glucose, à  $37^\circ C$ , et pendant 15 h ( $DO_{600} = 1,7$ , fin de phase exponentielle). Les mesures des distributions transmembranaires de  $^{14}C$ -TPP<sup>+</sup> et  $^{14}C$ -acide benzoïque ou  $^{14}C$ -méthylamine sont utilisées pour estimer respectivement les gradients électrique ( $\Delta\Psi$ ) et chimique ( $\Delta pH$ ) de  $H^+$ . Les mesures sont réalisées par centrifugation des bactéries sur couche d'huile de silicone, selon la technique décrite par Blaut et Gottschalk (1984). Les concentrations en  $Na^+$  et  $K^+$  intracellulaires sont déterminées par spectrométrie de flamme sur les culots bactériens. Les volumes intra- et extra-cellulaires des culots sont mesurés par répartition de  $^{14}C$ -saccharose et  $^3H_2O$ .

**Résultats et discussion.** *B. succinogenes*, à un pH externe de 6,0, maintient un gradient de potentiel électrochimique pour les protons ( $\Delta p$ ) de  $-139$  mV au travers de la membrane cytoplasmique, composé d'un potentiel électrique ( $\Delta\Psi$ ) de  $-110$  mV, et d'un gradient de pH ( $\Delta pH$ ) de 0,5 upH dans le sens alcalin

interne, soit + 29 mV (tabl. 1). L'incubation des bactéries en présence de 10  $\mu\text{M}$  de monensine (7,3  $\mu\text{g/ml}$ ), concentration qui inhibe totalement la croissance de *B. succinogenes* dans nos conditions), conduit à une acidification du pH intracellulaire de 6,5 à 5,8 — et donc à une inversion du  $\Delta\text{pH}$  — et à une diminution du  $\Delta\Psi$  de 25 %. En conséquence,  $\Delta p$  chute de 50 %. D'autre part, la présence de monensine induit simultanément une augmentation de la concentration en  $\text{Na}^+$  intracellulaire et une diminution de la concentration en  $\text{K}^+$  intracellulaire (tabl. 1). Ces modifications traduisent les modifications des gradients de concentration transmembranaires de ces cations : les bactéries témoin maintiennent un gradient de concentration de  $\text{K}^+$  de 45 qui chute à 25 après action de la monensine, alors que, de manière surprenante, le gradient de  $\text{Na}^+$  augmente de 1,75 à 4,6. L'augmentation du gradient de  $\text{Na}^+$  suggère que c'est le gradient de  $\text{K}^+$ , c'est-à-dire le gradient le plus important quantitativement, qui gouverne le sens des flux catalysés par l'ionophore. L'ensemble de ces résultats est tout à fait comparable à ce qui a été observé par Russell chez la bactérie à Gram positif *Streptococcus bovis* (Russell, 1987).

TABL. 1. — Effets de la monensine sur les concentrations intracellulaires en  $\text{H}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ .

	$\text{Na}^+_{\text{ext}}$	$\text{Na}^+_{\text{int}}$	$\frac{\text{Na}^+_{\text{int}}}{\text{Na}^+_{\text{ext}}}$	$\text{K}^+_{\text{ext}}$	$\text{K}^+_{\text{int}}$	$\frac{\text{K}^+_{\text{int}}}{\text{K}^+_{\text{ext}}}$	$\text{pH}_{\text{ext}}$	$\text{pH}_{\text{int}}$	$\Delta\text{pH}$	$\Delta\Psi$	$\Delta p$
T	100	175	1,75	7	315	45	6,0	6,5	+29	-110	-139
Mon.	100	460	4,60	7	173	25	6,0	5,8	-12	-83	-71

Les concentrations des cations sont données en mM, et  $Z \Delta\text{pH}$ ,  $\Delta\Psi$  et  $\Delta p$  en mV ( $\Delta p = \Delta\Psi - Z \Delta\text{pH}$ ,  $Z = 58,8$  à 20 °C,  $\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{int}} - \text{pH}_{\text{ext}}$ ). Les mesures sont réalisées à 20 °C sur des triplets et sur plusieurs cultures différentes. T : bactéries témoin ; Mon. : bactéries incubées 30 min en présence de 10  $\mu\text{M}$  de monensine.

Les modifications des gradients ioniques induites par la monensine (diminution de 50 % du  $\Delta p$ , diminution du gradient de concentration en  $\text{K}^+$ , augmentation du gradient de concentration en  $\text{Na}^+$ ) pourraient intervenir dans l'effet antibiotique car ces gradients, et en particulier  $\Delta p$ , peuvent être par eux-mêmes source d'énergie pour différentes fonctions cellulaires telles que transport actif ou synthèse d'ATP. D'autre part, les modifications des concentrations intracellulaires des cations : acidification du pH interne, forte augmentation de la concentration en  $\text{Na}^+$  ou diminution de la concentration en  $\text{K}^+$  sont vraisemblablement la cause majeure de l'effet antibiotique par inhibition d'activités enzymatiques cellulaires essentielles.

Ce travail a été effectué dans le cadre du Groupement d'Intérêt Scientifique « Cellulolyse en rumen et en fermenteur ».

- Blaut M., Gottschalk G., 1984. *Eur. J. Biochem.*, **141**, 217-222.  
 Bryant M. P., Robinson M., Chu H., 1959. *J. Dairy Sci.*, **42**, 1831-1847.  
 Chen M., Wolin M. J., 1979. *Appl. environ. Microbiol.*, **38**, 72-77.  
 Russell J. B., 1987. *J. anim. Sci.*, **64**, 1519-1525.