

NOTES AND COMMENTS

VARIATIONS GÉNÉTIQUES DE LA LEVURE AU COURS DE LA CROISSANCE SUR DES SUBSTRATS NON GLUCIDIQUES

P. GALZY

Station de Technologie Agricole, C.R.A.M. Montpellier

Received 2.vi.64

LA culture prolongée de la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* dans des milieux où le substrat carboné n'est pas fermentescible donne lieu à des phénomènes d'"accoutumance" (Kilkenny et Hinselwood, 1951). La vitesse de croissance de certaines souches sur ces substrats augmente au cours des cultures successives et peut atteindre une vitesse proche de celle obtenue sur glucose. Les mécanismes génétiques de ce phénomène n'avaient pas été établis par les auteurs cités et méritaient donc d'être étudiés. Ce travail expose les résultats obtenus en cultivant la levure sur éthanol.

L'étude de la croissance a été réalisée en milieu synthétique (Galzy, 1964). La source d'aliment carboné est l'alcool 0,5 pour cent. en concentration finale et constitue le seul facteur limitant. Quatre souches haploïdes d'origine monosporique ont été choisies: 59 R, 276-3d, 276-3br et 1258-7a. Les deux premières ne présentent pas d'exigences particulières en facteurs de croissance à part la biotine et le pantothénate; les deux autres exigent, l'une l'adénine et la thiamine, l'autre le tryptophane, l'histidine et la méthionine.

Lorsque les quatre souches ayant proliféré sur glucose sont inoculées sur éthanol, elles se comportent différemment. Les souches 276-3br et 376-3d montrent d'emblée un taux de croissance voisin de $0,2 h^{-1}$, valeur qui demeure constante au cours des repiquages successifs sur éthanol. Les deux autres prolifèrent d'abord avec un taux de $0,1 h^{-1}$ seulement. Après plusieurs dizaines de générations cellulaires, ce taux atteint les valeurs limites de $0,15 h^{-1}$ pour la souche 1258-7a et de $0,25 h^{-1}$ pour la souche 59 R.

Dans le but de mettre en évidence des mutants éventuels, les souches d'origine (o) ayant toujours été cultivé en présence de glucose et les souches ayant subi une culture prolongée sur éthanol (e), ont été étalées sur un milieu gelosé. Ce milieu présentait la composition suivante: yeast extract Difco 0,5 pour cent., substrat carboné 0,5 pour cent., gelose 4 pour cent., $pH = 6$; le substrat carboné utilisé peut être indifféremment l'éthanol, l'acide lactique ou l'acide acétique. Les souches d'origine 59 R-o et 1258-7a-o; donnent des colonies "en chou-fleur" fortement plissées et de couleur blanc mat (fig. 1); quelques colonies cependant sont lisses et brillantes (fig. 2). Les colonies obtenues par étalement des souches 59 R-e, et 1258-7a-e, ayant subi plusieurs dizaines de générations cellulaires sur éthanol, sont au contraire en majorité "lisses". Ces différences de morphologie coloniale ne sont décelables que lorsque les colonies sont formées sur un milieu solide contenant un substrat non fermentescible (éthanol,

acide lactique ou acide acétique). L'étalement sur un milieu contenant du glucose ne permet pas de distinguer les deux types coloniaux.

Le tableau 1 indique les pourcentages de "colonies lisses" observés dans les étalements des 4 souches origines (*a*) ou après culture prolongée sur éthanol comme seule source de carbone (*e*). La souche 276-3d présente des colonies fortement plissées et la souche 276-3br des colonies lisses dans tous les étalements. En définitive, la morphologie coloniale n'a été modifiée

TABLEAU 1

Pourcentage de colonies lisses dans les cultures

Souches	59 R	276-3d	276-3br	1258-7a
<i>a</i>	3	0	100	0
<i>e</i>	86	0	100	31

au cours de la culture prolongée sur éthanol que pour les souches ayant présenté une augmentation de la vitesse de croissance sur ce substrat.

Les caractères "colonie lisse" et "colonie plissée en chou fleur" sont stables et se transmettent par voie végétative. Diverses colonies lisses ou plissées ont été prélevées; l'étalement de ces clones après plusieurs générations cellulaires effectuées sur glucose ou sur éthanol permet de contrôler

TABLEAU 2

Variations de la proportion de colonies lisses au cours des cultures successives sur éthanol

Clones	Nombre de générations cellulaires					
	0	20	40	60	80	100
59 RP ₁	0	2	8	14	74	72
59 RP ₂	0	2	7	9	76	75
59 RL ₁	100	100	100	100	100	100
59 RL ₂	100	100	100	100	100	100

le type colonial de la culture et montre que le type de la colonie initiale s'est toujours maintenu. Cependant, lorsque la culture se prolonge, la mutation "colonie lisse" apparaît généralement dans les clones plissés. A partir d'un étalement de 59 R-0 par exemple, deux colonies plissées (59 RP₁ et 59 RP₂) et deux colonies lisses (59 RL₁ et 59 RL₂) ont été prélevées, ces clones ont été cultivés sur milieu à base d'éthanol d'une part, sur milieu glucosé d'autre part. Le pourcentage de colonies lisses dans ces cultures est contrôlé par des étalements sur milieu gelosé. Les tableaux 2 et 3 indiquent les résultats de ces étalements ainsi que le nombre de générations cellulaires effectuées sur le milieu à l'étude, entre l'isolement du clone et le moment de l'étalement.

Plate

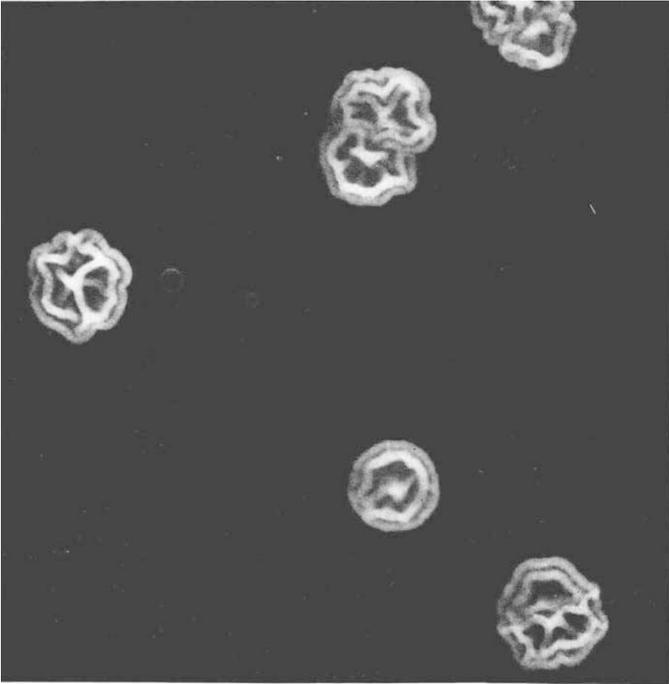


FIG. 1

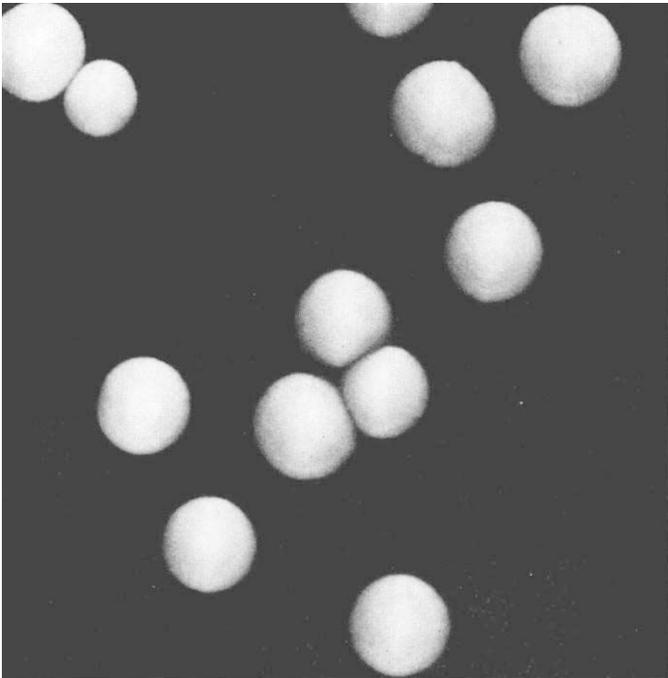


FIG. 2

La mutation colonie lisse est apparue dans les clones plissés de 59 R aussi bien dans les cultures sur glucose que dans les cultures sur éthanol. Le mutant n'est pas favorisé par la sélection naturelle dans les cultures sur glucose; il élimine au contraire progressivement la souche plissée dans les cultures sur éthanol. L'augmentation de la vitesse de croissance sur éthanol, observée pour 59 R et 1258-7a au cours d'une culture prolongée sur ce

TABLEAU 3

Variations de la proportion de colonies lisses au cours des cultures successives sur glucose

Clones	Nombre de générations cellulaires					
	0	20	40	60	80	100
59 RP ₁	0	0	0	3	3	3
59 RP ₂	0	0	2	3	3	3
59 RL ₁	100	100	100	100	100	100
59 RL ₂	100	100	100	100	100	100

substrat, s'explique donc par la sélection de mutants spontanés "colonies lisses". La souche 276-3br qui présentait le phénotype lisse à l'origine, et la souche 276-3d, qui n'a pas donné de mutant dans nos cultures, bien que ses colonies soient plissées, n'ont pas donné d'augmentation de la vitesse de croissance.

Des phénomènes analogues ont été observés dans des cultures prolongées sur acide lactique ou sur acide acétique comme seule source de carbone. Pour les mêmes souches que précédemment, une sélection de mutants "colonies lisses" se produit au cours des cultures successives sur ces divers substrats.

1. RÉSUMÉ

La vitesse de croissance de certaines souches de levure augmente progressivement au cours des cultures successives sur éthanol. Cette observation s'explique par la sélection de mutants spontanés caractérisés par la morphologie coloniale.

2. BIBLIOGRAPHIE

- KILKENNY, B. C., AND HINSHELWOOD, C. 1951. The utilisation of carbon sources by certain yeast strains. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, B. 375, 138.
- GALZY, P. 1964. Etude génétique et physiologique du métabolisme de l'acide lactique chez *Saccharomyces cerevisiae* Hansen. *Thèse. Ann. Techn. Agric. INRA*, 13, No. 2, 109-259.