

2. UTILISATION DES NUTRIMENTS.

La respiration cellulaire

Activités pratiques Ex.A.O.

La cellule, siège des réactions chimiques de la vie

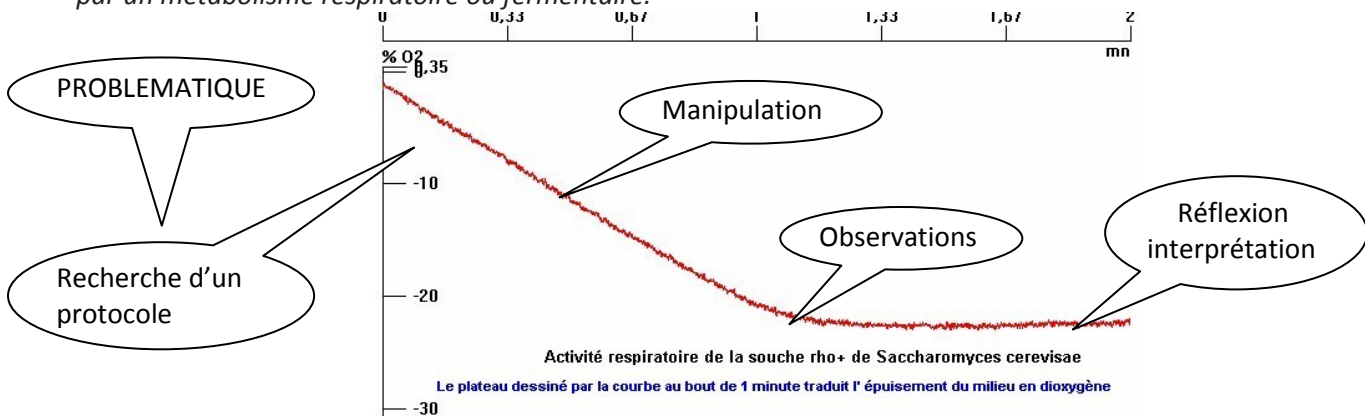
Connaissances	Capacités et attitudes
<ul style="list-style-type: none"> - De nombreuses transformations chimiques se déroulent à l'intérieur de la cellule : elles constituent le métabolisme. Il est contrôlé par les conditions du milieu et par le patrimoine génétique. - La cellule est un espace limité par une membrane qui échange de la matière et de l'énergie avec son environnement. 	<p>Mettre en œuvre un raisonnement expérimental pour:</p> <ul style="list-style-type: none"> - repérer l'influence de l'environnement sur le fonctionnement d'une cellule ; - montrer l'effet de mutations sur le métabolisme cellulaire et comprendre le rôle du génome ; - comprendre les mécanismes d'une démonstration expérimentale : comparaisons, tests, témoins.

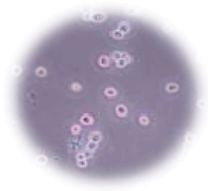
A. Objectifs pédagogiques

- Après avoir constaté que la cellule est une unité structurale commune à tous les êtres vivants, il s'agit de montrer que c'est aussi une unité fonctionnelle, siège de ce que l'on appelle le métabolisme.
- Un deuxième objectif, plus précis, est de montrer que le métabolisme dépend à la fois du programme génétique et de facteurs environnementaux.
- Enfin, l'intérêt de cette activité est aussi méthodologique : les activités proposées ici constituent une excellente initiation à la démarche scientifique expérimentale.

Les exemples choisis correspondent évidemment à des fonctions bien précises (respiration, photosynthèse) mais le but n'est pas d'étudier ces types de métabolismes ou de faire la distinction entre autotrophie et hétérotrophie. Ces exemples choisis ne sont que des supports pour illustrer ce que l'on appelle le **métabolisme** qui restera, à ce stade, défini comme un **échange de matière et d'énergie**.

Les levures sont des champignons unicellulaires non photosynthétiques et tirent leur énergie, comme tous les hétérotrophes, de la matière organique qu'ils dégradent afin de régénérer leurs molécules énergétiques (l'ATP), par un métabolisme respiratoire ou fermentaire.





B. Expérimentation assistée par ordinateur

TP Ex.A.O. Activité 2A : métabolisme des levures et conditions du milieu.

La respiration.

Cette activité permet de définir le métabolisme cellulaire, à travers la capacité d'organismes unicellulaires à consommer un substrat nutritif (saccharose) en utilisant du dioxygène, selon les processus de respiration. On pourra montrer un exemple de l'influence du milieu sur ce métabolisme.

En utilisant une seule souche de levure sauvage (levure de boulangerie) et en **variant la température de l'enceinte**, on pourra mettre en évidence une modification du métabolisme, la température agissant sur le fonctionnement des enzymes responsables de l'hydrolyse du saccharose en glucose, nutriment à l'origine de la fourniture énergétique cellulaire et donc de la consommation en O₂ repérable sur un enregistrement graphique.

Une variante serait de **modifier le type de substrat** : saccharose, glucose ou amidon par exemple avec des levures de boulangerie « affamées » (placée la veille, en aération, dans une solution tampon phosphate sans glucose,).

Ces expériences montrent que le milieu environnant peut influencer le métabolisme cellulaire.

Pistes d'exploitation

1. Expérience avec variation de température :

Trois mesures sur *l'évolution de la concentration en O₂ dans la cuve en fonction du temps*, seront effectuées pendant 8 mn (max):

- Une première mesure (A), à température ambiante (bain marie de 20°C) avec des levures sauvages dans un tampon glucosé avec possibilité d'injection de substrat (glucose) après 1 mn, sera une expérience témoin: elle sert de référence, permettant une comparaison avec les autres essais.
- Les mesures suivantes seront placées exactement dans les mêmes conditions, l'une à température du bain marie proche de 0°C, l'autre au dessus de 30°C (C), il suffira de placer la cuve dans un bain d'eau à la température souhaitée (glaçons ou eau chaude ajoutée).

Résultats attendus :

- dans le milieu (A), la concentration en dioxygène doit diminuer : les levures sauvages ont donc consommé du dioxygène, c'est la référence ;
- dans les milieux (B) et (C), la concentration en dioxygène ne doit pas varier : les levures ne peuvent effectuer le métabolisme dans des conditions de températures extrêmes proposées.

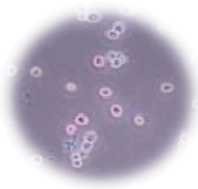
2. Expérience avec variation de substrat :

De la même manière que pour la température, quatre mesures sur *l'évolution de la concentration en O₂ dans la cuve en fonction du substrat ajouté* seront effectuées pendant 8 mn (max) à 20°C :

- Une première mesure (A), avec des levures sauvages préalablement « affamée », dans un tampon SANS glucose et sans injection de substrat servira de référence, pour comparer avec les autres essais.
- Une seconde mesure (B), avec des levures sauvages « affamées » et injection d'amidon après 1 mn,
- Les mesures suivantes (C et D) seront placées exactement dans les mêmes conditions, l'une avec du saccharose, l'autre avec du glucose.

Résultats attendus :

- dans les milieux (A) et (B), la concentration en dioxygène ne doit pas varier : les levures ne peuvent effectuer le métabolisme sans substrat ou ne peuvent utiliser le substrat (amidon).
- dans les milieux (C) et (D), la concentration en dioxygène doit diminuer par rapport au milieu (A) mais plus avec le glucose qu'avec le saccharose.



TP Ex.A.O. Activité 2B : métabolisme des levures et patrimoine génétique

Cette seconde activité pourrait être l'occasion de définir le métabolisme cellulaire, à travers la capacité d'organismes unicellulaires à consommer un substrat nutritif (saccharose), selon les processus de respiration en utilisant leur équipement enzymatique. On pourra montrer un exemple de l'influence du patrimoine génétique sur cet équipement et donc sur ce métabolisme.

Les **levures sauvages** sont les levures de boulangerie normales tandis que **les levures « rho - »** ou **« sac - » sont mutantes** : à ce stade, on définira simplement le terme de mutant par « dont le patrimoine génétique est différent ». Le phénomène de mutation (modification de la séquence des nucléotides du message génétique) pourra être abordé par la suite.

Pour information : les levures « rho - » sont incapables de respirer du fait d'une mutation du cytochrome b, implique dans la chaîne respiratoire mitochondriale tandis que les levures « sac - » sont incapables d'utiliser le saccharose.

Grâce à cette expérience, on montre que deux souches de levures, dont le patrimoine génétique est différent mais qui sont placées exactement dans les mêmes conditions, n'effectuent pas les mêmes échanges avec le milieu dans lequel elles se trouvent.

Remarque : même si l'objectif n'est pas de qualifier le métabolisme dont il s'agit, rien n'empêche, bien au contraire, de faire constater qu'il s'agit ici de la respiration (on voit déjà, en classe de Cinquième, que la respiration consiste en une consommation du dioxygène présent dans le milieu environnant, air ou eau).

Pistes d'exploitation :

Trois mesures sur l'évolution de la concentration en O₂ dans la cuve en fonction du temps, seront effectuées pendant 8 mn (max):

- Une première **mesure (A), sans levures, avec injection de substrat (saccharose) après 1 mn**, sera une expérience témoin : elle sert de référence, permettant une comparaison avec les autres essais.
- Les mesures suivantes seront placées exactement dans les mêmes conditions, l'une **avec des levures sauvages (B)**, l'autre **avec des levures mutantes (C)**.

Le réacteur est disposé dans un bain-marie pour contrôler la température à laquelle on opère (20°C est une bonne température de départ).

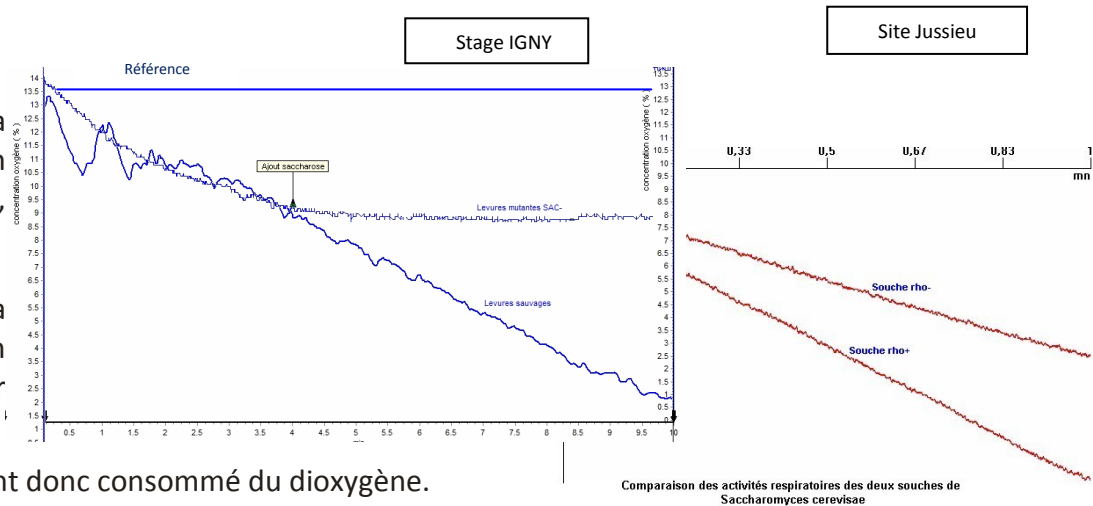
Résultats attendus :

- dans le milieu (A), la concentration en dioxygène ne varie pas, c'est la référence ;

- dans le milieu (B), la concentration en dioxygène a diminué par rapport au milieu (A) :

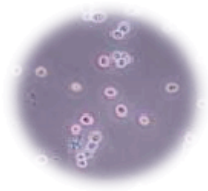
-> Les levures sauvages ont donc consommé du dioxygène.

-> Ce n'est pas le cas des levures du milieu (C) : les levures mutantes ne peuvent effectuer le métabolisme réalisé par les levures sauvages (B).



Comparaison des activités respiratoires des deux souches de *Saccharomyces cerevisiae*

Le métabolisme des cellules dépend donc non seulement des conditions environnementales dans lesquelles ces cellules sont placées mais également du patrimoine génétique qui gouverne le métabolisme, c'est-à-dire les échanges réalisés par les cellules et leur milieu...



TP Ex.A.O. Activité 2C : métabolisme des levures et conditions du milieu. La fermentation.

Lorsque l'on possède des sondes à éthanol et à CO₂, on peut étudier en plus de la respiration, la fermentation des levures.

Le but de cette expérience n'est pas d'étudier la fermentation alcoolique mais seulement de montrer comment on peut distinguer l'existence de **deux types de métabolisme différents** (exercice possible).

On réalise l'expérience suivante:

Une culture de levures, réalisée dans un milieu contenant du glucose en excès, est placée dans une enceinte fermée.

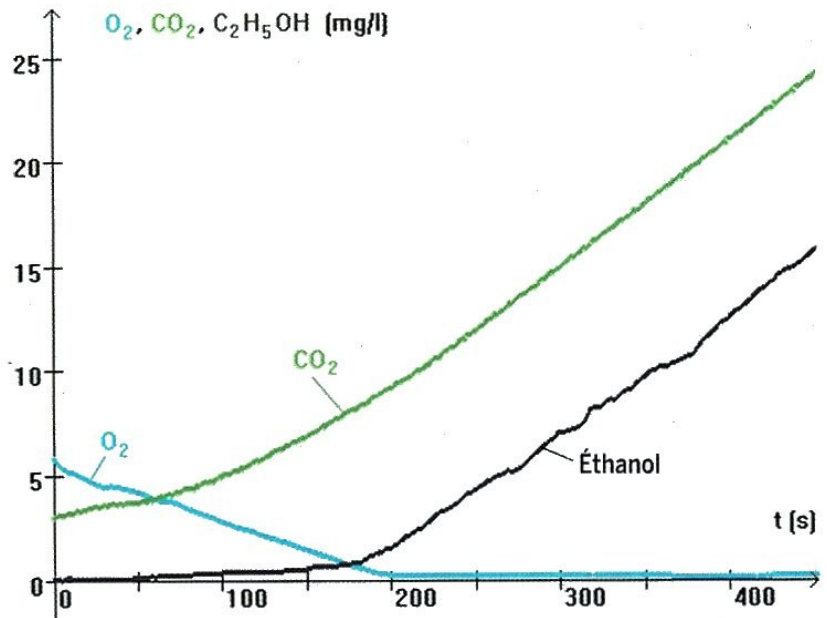
À l'aide de trois sondes, on mesure au cours du temps les concentrations en O₂, CO₂ et éthanol. La concentration en glucose n'est pas mesurée, mais elle diminue continuellement au cours de l'expérience.

Le graphique ci-contre traduit les résultats obtenus.

1. Montrez que les levures sont capables de développer deux types de métabolismes.

2. Caractérissez ces deux métabolismes.

3. Proposez une hypothèse permettant d'expliquer quel facteur pourrait être responsable d'une modification du métabolisme des levures



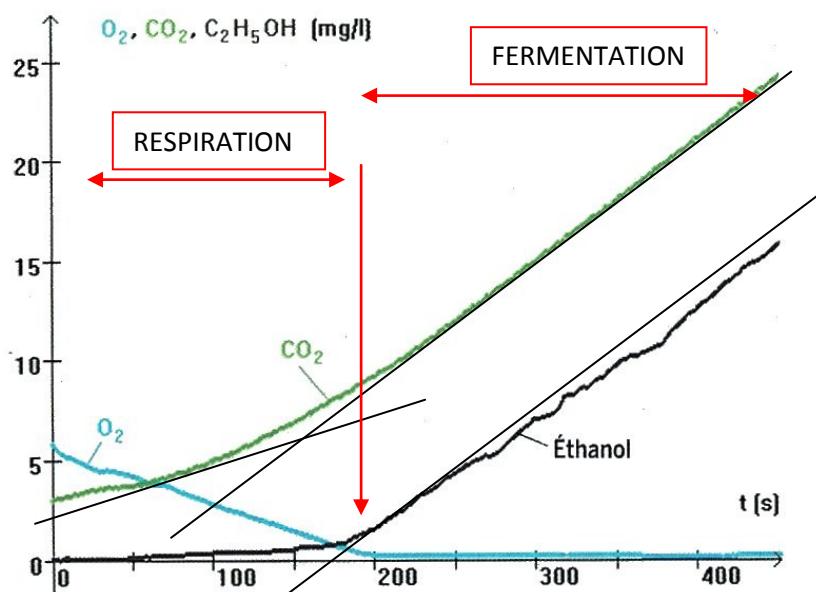
Résultats :

1. Le métabolisme des levures est matérialisé ici par la variation de trois paramètres qui révèlent des échanges entre les cellules et leur milieu : O₂, CO₂, éthanol. D'après le graphique, on constate clairement deux périodes : de 0 à 180 s et au-delà de 180 s. Chacune de ces périodes est en effet caractérisée par des variations différentes des trois paramètres, correspondant à des échanges et donc à des métabolismes différents.

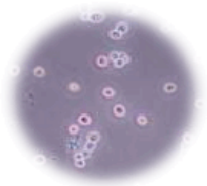
2. - De 0 à 180 s, les levures consomment du dioxygène et rejettent du dioxyde de carbone, elles respirent donc.

- Après 180 s, les levures ne consomment pas de dioxygène, rejettent du dioxyde de carbone en très grande quantité et produisent de l'éthanol.

3. **Conclusion :** après 180 s, il n'y a plus de dioxygène dans le milieu : les levures ne peuvent donc plus en consommer. C'est probablement la cause de l'arrêt du premier type de métabolisme (respiration) et du développement d'un autre processus (la fermentation).



PROCOLES DES MANIPULATIONS



PREPARATION DES LEVURES

1. Levures sauvages (de boulangerie):

- **A préparer la veille** : 2L de suspension de levures fraîches à 10 g.l^{-1} dans du tampon phosphate (SANS GLUCOSE) à pH 6,4, **BIEN AERER** en agitation douce pendant au moins 24h avec un bulleur d'aquarium). Tous les substrats métabolisables de la suspension auront été ainsi assimilés. Les levures seront ainsi "affamées", c'est la **CONDITION NECESSAIRE** à la réalisation des mesures.

2. Levures mutantes (boîtes de cultures sordalab):

- **Prendre** 60 mL de tampon phosphate (SANS GLUCOSE) pH 6,4 pour mettre en suspension les levures d'une boîte de Pétriensemencée par l'une des deux souches.

- **Verser** 10 à 15 mL dans la boîte et mettre en suspension les levures en utilisant l'étaleur ; récupérer la suspension dans un bécher en utilisant un petit entonnoir. Renouveler l'opération afin de récupérer toutes les levures et compléter la suspension avec le reste des 60 mL préparés. On obtient une suspension dont la densité optique est voisine d'une suspension de levure à 10 g.L^{-1}

- **Oxygéner** minimum 2 minutes la suspension à l'aide d'un aérateur d'aquarium.

MESURE EN FONCTION DU SUBSTRAT

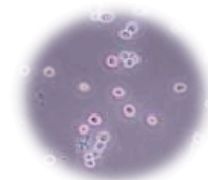
Partie 1 : Réalisation du montage en fonction du substrat

1. **Préparer** 150 ml de suspension tamponnée (pH 6,4) de levures sauvages, **bien aérée**.
2. **Préparer** divers substrats à 50g/l : glucose, saccharose, maltose, lactose, glycérol, glycine ou amidon d'empois à 5g/l, selon le protocole choisi (substrats dilués en milieu tamponné à pH 6,4).
3. **Placer** 37 ml de la suspension de levure sauvage dans le réacteur de 40 ml avec agitateur magnétique et bain-marie à 20°C (ou réacteur simplifié = tube à essai fixé avec 1ml de solution et sans agitation).
4. **Préparer** une seringue avec 1 ml (au moins) d'une solution de substrat choisi et engager le liquide jusqu'au bout du capillaire (afin de ne pas faire rentrer d'air au moment de l'injection).
5. **Placer** la Sonde oxymétrique dans la cuve en prenant soin de ne pas coincer de bulle d'air sous la sonde, **éponger** les débordements éventuels, mettre la sonde thermique dans le bain marie (20°C).
6. **Démarrer** l'agitation (vitesse modérée).

Appeler pour faire contrôler le montage.

Partie 2 : Acquisition des résultats

1. **Choisir** les paramètres de la mesure: durée = 8 minutes, O₂, température.
2. **Prévoir** l'insertion d'un repère sur le graphique (voir notice logiciel).
3. **Régler** l'agitation (douce, en veillant à ce que la sonde ne se trouve pas dans le cône de turbulence)
-> **VERIFIER QUE LE TAUX D'OXYGENE DANS LA SUSPENSION EST PROCHE DU MAX AU DEPART !!!**
4. **Attendre** la stabilisation des mesures puis **démarrer** l'enregistrement.
5. **Enregistrer** pendant 8 minutes et **insérer** un repère sur le graphe à chaque injection de substrat :
- faire d'abord un enregistrement sans substrat (référence).
- puis **superposer** la manipulation suivante et à T= 2min : injecter **0,3** mL de substrat (amidon), placer un marqueur (click sur la courbe) et attendre la fin de la mesure.
6. **Rincer** soigneusement le bioréacteur et placer à nouveau 37 mL d'une suspension de levures.
7. **Recommencer** la manipulation en ajoutant un autre substrat (saccharose puis glucose), toujours **superposer** les courbes.



MESURE EN FONCTION DE LA TEMPERATURE

Partie 1 : Réalisation du montage

1. **Préparer** 150 ml de suspension tamponnée (pH 6,4) de levures sauvages, **bien aérée**.
2. **Préparer** une seringue avec au moins **1 mL** d'une solution tamponnée (pH 6,4) de substrat choisi (glucose) et engager le liquide jusqu'au bout du capillaire.
3. **Placer** 37 ml de la suspension de levure sauvage dans le réacteur de 40 ml avec agitateur magnétique et bain-marie à 20°C (ou réacteur simplifié = tube à essai fixé avec 1ml de solution et sans agitation).
4. **Placer** la Sonde oxymétrique dans la cuve en prenant soin de ne pas coincer de bulle d'air sous la sonde et la sonde thermique dans le bain marie.

Appeler pour faire contrôler le montage

Partie 2 : Acquisition des résultats

1. **Choisir** les paramètres de la mesure: durée = 8 minutes, O₂, température.
2. **Régler** l'agitation douce, en veillant à ce que la sonde ne se trouve pas dans le cône de turbulence.
3. **Placer** des glaçons dans le bain marie de façon à faire descendre la température à ~ 4°C.
-> **VERIFIER QUE LE TAUX D'OXYGENE DANS LA SUSPENSION EST PROCHE DU MAX AU DEPART !!!**
4. **Attendre** la stabilisation des mesures puis **démarrer** l'enregistrement.
5. **Enregistrer** pendant 8 minutes et **insérer** un repère sur le graphe à chaque injection de substrat :
-à T=2mn ajouter **0,3 mL** de substrat (glucose), placer un marqueur (click sur la courbe) et attendre la fin de la mesure.
6. **Rincer** soigneusement le bioréacteur et placer à nouveau 37 mL d'une suspension de levures.
7. **Recommencer** la manipulation en rajoutant de l'eau chaude dans le bain marie de façon à obtenir 20°C, puis 30°C et en **superposant** les manipulations.

MESURE DE L'ÉVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN DIOXYGENE EN FONCTION DE LA SOUCHE DE LEVURE

Partie 1 : Réalisation du montage

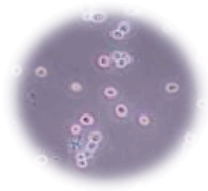
1. **Préparer** 37 ml de la suspension de levures sauvage (issues de la boîte de culture).
2. **Préparer** 37 ml de la suspension de levures mutante (issues de la boîte de culture).
3. **Préparer** une seringue avec au moins **1 mL** de substrat saccharose tamponné à 50g/l.
4. **Placer** les 37 ml de la suspension de levure sauvage dans la cuve réacteur de 40 ml avec agitateur magnétique et bain-marie à 20°C (ou réacteur simplifié = tube à essai fixé avec 1ml de solution et sans agitation).
5. **Placer** la Sonde oxymétrique (étalonnée dans l'eau donc avec des valeurs en mg/l) dans la cuve en prenant soin de ne pas coincer de bulle d'air et la sonde thermique dans le bain marie (20°C)

Appeler pour faire contrôler le montage.

Partie 2 : Acquisition des résultats

1. **Choisir** les paramètres de la mesure: durée = 8 minutes, O₂, température.
2. **Prévoir** l'insertion d'un repère sur le graphique (voir la notice logiciel).
3. **Régler** l'agitation (douce, en veillant à ce que la sonde ne se trouve pas dans le cône de turbulence)
-> **VERIFIER QUE LE TAUX D'OXYGENE DANS LA SUSPENSION EST PROCHE DU MAX AU DEPART !!!**
4. **Attendre** la stabilisation des mesures puis **démarrer** l'enregistrement.
5. **Enregistrer** pendant 8 minutes et **insérer** un repère sur le graphe à l'injection du substrat :
- à T= 2min : injecter **0,3 mL** de substrat saccharose. Attendre la fin de la mesure.
6. **Rincer** soigneusement le bioréacteur et placer à nouveau 37 mL d'une suspension de levures mutante.
7. **Recommencer** la manipulation avec la seconde souche de levure, et **superposer** les courbes.

LABORATOIRE



TP- METABOLISME DES LEVURES sauvages ou Sac- ou Rho-

*Préparation de la solution TAMPON pH 6,4

1 Réaliser deux solutions mères

* Na_2HPO_4 9.48g Eau distillée 1L

* KH_2HPO_4 9.10g Eau distillée 1L

* : non hydraté, sinon tenir compte des molécules de H_2O pour le calcul des masses

2 Réaliser la solution tampon

Pour 200mL :

Solution mère Na_2HPO_4 53.5mL

Solution mère KH_2HPO_4 146.5mL

200mL d'une solution tampon : pH 6.4

Solution tampon convenant pour une manipulation sur : fermentation

« Nemo »

* Préparation d'une solution de tampon (éventuellement glucosée) :

Solution à pH 6,2 - 6,4 + glucose à 10g/L

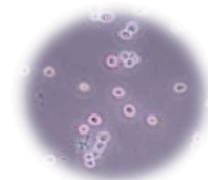
pH	Na_2HPO_4 (M/15)	KH_2PO_4 (M/15)	Glucose
6,2	36 ml	164 ml	2g
6,4	53,5 ml	146,5 ml	2g

* Préparation de la suspension de levures sauvages de boulangerie:

- Préparer une suspension de levures fraîches de levures de boulangerie à 10 g.l^{-1} et dans le cas de levures lyophilisées, à $2,5 \text{ g.l}^{-1}$.

Attention : Toutes les souches du commerce ne se valent pas pour étudier la respiration. Certaines souches sont volontairement déficientes respiratoire afin de favoriser la fermentation.

- Cette suspension de levures sera diluée à 10 g dans 1 L de tampon phosphate à pH 6,4, SANS GLUCOSE, puis AEREE en agitation douce pendant au moins 24h avec un bulleur d'aquarium. Ainsi on obtient des levures "affamées" car tous les substrats métabolisables de la suspension auront été assimilés.



* Préparation des milieux de repiquages sur milieu complet :

		Sordalab
Extrait de levures	10 g	10 g
Bactopeptone -ou Peptone pepsique de viande -ou bouillon ordinaire	10 g	10 g
Glucose *	20 g*	30 g*
Eau distillée	1 L	1 L
Agar (milieu solide)	20 g	20 g

On peut préparer les suspensions de levures en milieu liquide, sans agar, à partir des repiquages :

Ce même milieu, dépourvu d'agar pour rester liquide, est ensemencé et incubé quelques jours pour obtenir une quantité importante de levure.

* Un MILIEU PAUVRE (SANS GLUCOSE) doit être préparé si on veut faire varier le métabolisme en fonction d'un SUBSTRAT AJOUTE !

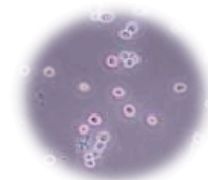
* Préparation des deux séries de boîtes élèves rho+ et rho- ou sac+ et sac- (« Repiquage » trois/quatre jours avant la séance de TP) :

Il faut une boîte de chaque souche de levure pour 50 mL de suspension de levure.

1. Préparer deux tubes contenant 10 mL d'eau stérile.
2. A l'aide d'un ensemencateur stérile, prélever quelques colonies de la souche à repiquer et mettre en suspension dans l'un des tubes d'eau stérile. Agiter. Continuer jusqu'à l'obtention d'une suspension trouble.
3. Toujours en milieu stérile, déposer 4 gouttes de la suspension précédente dans chaque boîte de Pétri à ensemencer. Bien répartir la suspension à la surface de la gélose avec l'ensemencateur stérile.
4. Placer les boîtes à l'étuve à 22 °C. Au bout de 3/4 jours les colonies se sont développées uniformément sur toute la surface de la gélose.

* Préparation des suspensions de levures des deux souches mutantes (sac- ou rho- : une boîte de Pétri ensemencée par chaque souche pour 2 ou 3 binômes).

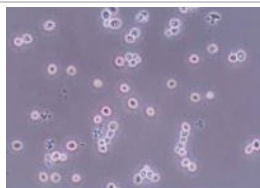
1. - Préparer 60 mL de tampon phosphate pH 6,2 SANS GLUCOSE pour mettre en suspension les levures d'une boîte de Pétri ensemencée par l'une des deux souches.
2. - Verser 10 à 15 mL dans la boîte et mettre en suspension les levures en utilisant l'étaleur ; récupérer la suspension dans un bécher en utilisant un petit entonnoir. Renouveler l'opération afin de récupérer toutes les levures et compléter la suspension avec le reste des 60 mL préparés. On obtient une suspension dont la densité optique est voisine d'une suspension de levure à 10 g.L⁻¹
3. - Oxygéner 1 à 2 minutes la suspension à l'aide d'un aérateur d'aquarium.



Sordalab

Les souches de levures normales sont les souches de « **Saccharomyces cerevisiae sauvage** » du boulanger (pas obligé de l'acheter chez Sordalab) mais si on veut travailler dans les mêmes conditions, alors ??

SVT > Organismes vivants > Levures et milieux



SOUCHE DE LEVURES D

SACCHAROMYCES CEREVISAE SAUVAGE

Les souches de levures sont fournies sur une boîte de pétri contenant une centaine de colonies isolées.

Souche sauvage Prix : 8,60 €

Réf. CMS/D

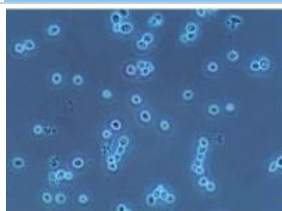
Prix TTC : 8,60 €

Ces souches ainsi que les souches mutantes peuvent être fournies par **Sordalab**

Sac- : <http://www.sordalab.com/catalogue/produit.php?numprod=449>

Rho- : <http://www.sordalab.com/catalogue/produit.php?numprod=450>

4. SVT > Organismes vivants > Levures et milieux



SOUCHE DE LEVURES F

SACCHAROMYCES CEREVISAE SAC-

Les souches de levures sont fournies sur une boîte de pétri contenant une centaine de colonies isolées.

Souche sac - : Souche [F] du kit métabolisme

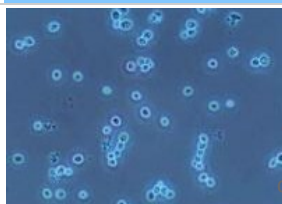
Elle ne diffère de la souche D que par une mutation altérant la synthèse de la saccharase (n'est pas sécrétée à l'extérieur de la cellule). Elle ne poussera donc pas sur saccharose.

Prix : 8,60 €

Réf. CMS/F

Prix TTC : 8,60 €

5. SVT > Organismes vivants > Levures et milieux



SOUCHE DE LEVURES E

SACCHAROMYCES CEREVISAE RHO-

Les souches de levures sont fournies sur une boîte de pétri contenant une centaine de colonies isolées. Souche rho - : Souche [E] du kit métabolisme

Elle ne diffère de la souche D que par une mutation altérant le cytochrome B. Elle ne peut donc pas respirer et ne poussera pas sur glycérol qui est un substrat uniquement respirable. C'est une mutation du génôme mitochondrial.

Prix : 8,60 €

Réf. CMS/E

Prix TTC : 8,60 €

On peut choisir l'une ou l'autre ou l'une et l'autre pour essayer mais c'est peut-être plus facile de travailler avec du saccharose plutôt que du glycérol comme substrat, dans ce cas, **Commander plutôt la souche sac-**.

COMPOSITION des SOUCHES DE LEVURE (Sordalab):

[D], [E], [F] = SACCHAROMYCES Cerevisae

[D] = souche rho+sac+

C'est la souche sauvage ; elle est prototrophe, c'est à dire qu'elle n'a pas d'exigences et pousse sur milieu minimum. Elle possède son génome mitochondrial intact (rho+) et peut donc respirer. Elle peut utiliser le saccharose comme source de carbone et d'énergie (sac+) car elle possède une saccharase qu'elle sécrète.

[F] = souche rho+sac -

Elle ne diffère de la souche D que par une mutation altérant la synthèse de la saccharase (n'est pas sécrétée à l'extérieur de la cellule). Elle ne poussera donc pas sur saccharose.

[E] = souche rho - sac+

Elle ne diffère de la souche D que par une mutation altérant le cytochrome B. Elle ne peut donc pas respirer et ne poussera pas sur glycérol qui est un substrat uniquement respirable.