



UTILISATION DU GALACTOSE CHEZ Streptococcus thermophilus:
INDUCTION PAR MUTAGENESE A LA NITROSOGUANIDINE.

par

Amina BENATEYA^{*}, P. BRACQUART^{**} et G. LINDEN^{**}

(*) Laboratoire de Microbiologie, Institut de Nutrition-Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Université de CONSTANTINE, ALGERIE.

(**) Laboratoire de Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences, Université de NANCY 1, FRANCE.

UTILIZATION OF GALACTOSE BY Streptococcus thermophilus : INDUCTION
OF MUTATION BY NITROSOGUANIDINE.

Amina BENATEYA*, P. BRACQUART** and G. LINDEN**

SUMMARY:

Three galactose-positive (Gal^+) mutants were isolated after treating the Streptococcus thermophilus CNRZ 302 strain with N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine. The mutants retained all their parental growth characteristics except galactose fermentation. In contrast with the wild type's inability to utilize galactose, the A5 mutant metabolized 70% of the galactose resulting from the hydrolysis of lactose. The results imply that galactose was not translocated via a Phosphoenolpyruvate-Phosphotransferase system, but rather by a galactose-Permease and that the ability to ferment galactose was limited by the galactokinase activity. Galactokinase activities were 2.3 and 3.5 times higher in induced galactose-fermenting strains than in galactose-negative strain. The mutation seems to affect a galactokinase regulation gene.

Key Words: Streptococcus thermophilus , galactose fermentation, mutation, Nitrosoguanidine.

RESUME:

Streptococcus thermophilus, bactérie lactique utilisée dans la fabrication de beaucoup de produits laitiers, est le seul streptocoque lactique qui, utilisant bien le lactose ne fermente en réalité que la glucose produit d'hydrolyse du diholoside. Dans une étude précédente, nous avons essayé de trouver un moyen d'induire la prise et l'utilisation du galactose par des souches de S. thermophilus par de simples adaptations ; et nous avons pu constater qu'une addition de 1% de galactose à une culture en phase exponentielle sur milieu glucosé accélère considérablement la croissance et augmente la production de galactokinase de 50%. Mais repiquée sur milieu galactosé, la bactérie perd la capacité de croître.

Dans la présente étude, nous avons effectué une mutagénèse à la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine à des concentrations de 100 à 500 ug/ml. Nous avons isolé trois mutants à caractère Gal⁺, à partir de la préparation donnant 50% de survie. Ces mutants ont été étudiés. A l'inverse de la souche sauvage, ils catabolysent le galactose libre ou produit de l'hydrolyse du lactose. De plus, l'activité de la Galactokinase se trouve augmentée chez le mutant A5 de 2,3 et 3,5 fois plus que celle notée chez la souche mère. La mutation semble avoir modifié le gène de régulation de la synthèse de la Galactokinase. Le transport du galactose paraît s'effectuer selon une Perméase.

Mots clés: Streptococcus thermophilus, fermentation, galactose, mutation, Nitrosoguanidine.

INTRODUCTION :

L'importance économique des bactéries lactiques dépend directement de la capacité et de la vitesse de fermentation du lactose du lait en acide lactique.

Streptococcus thermophilus est une bactérie homolactique utilisée traditionnellement dans la fabrication de produits laitiers où une température élevée est nécessaire, notamment le Yaourt, l'érmenthal...

Relativement aux streptocoques lactiques mésophiles du groupe N (S. lactis, S. cremoris et S. diacetylactis), peu de données concernant le métabolisme intermédiaire de S. thermophilus sont connues. Par ailleurs, S. thermophilus métabolise un nombre restreint de glucides, les disaccharides sont préférentiellement dégradés par rapport aux monosaccharides (3, 15). Dans une récente revue, HUTKENS et MORRIS (10) proposent un schéma d'utilisation du lactose et galactose chez cette espèce.

Contrairement aux streptocoques mésophiles du groupe N où le lactose, glucose et galactose sont principalement transportés à l'intérieur de la cellule par des systèmes spécifiques de type Phosphotransférase Phosphoénolpyruvate dépendant (PEP-PTS) (12, 21, 22, 23, 24, 25), S. thermophilus transporte le lactose par un système actif de type Perméase ATP dépendant (4, 10) et le glucose par un système PEP-PTS spécifique de très faible affinité (5). De plus, une activité Phospho- β -galactosidase est généralement inexistante (18, 26).

S. thermophilus est le seul streptocoque lactique qui soit incapable d'utiliser le galactose comme substrat libre ou produit d'hydrolyse du lactose puisqu'il est excrété dans le milieu de culture (9, 15, 20, 26). Ainsi, il s'accumule dans le produit laitier quand ce microorganisme est employé (17). Or, en pratique la présence de ce glucide dans un produit laitier est nuisible car il serait un bon substrat pour une fermentation hétérolactique, et donc une production de métabolites indésirables tel que le CO₂ (26). De plus, il est certain que la dégradation de la totalité du lactose permet une acidification plus rapide du produit fabriqué. THOMAS et CROW (20) ont pu induire l'utilisation du galactose chez certaines souches de S. thermophilus dans des conditions de chémostat en présence de concentrations fortes en galactose

et limitantes en lactose. Mais ces variants galactose-positif étaient instables et perdaient cette capacité après un repiquage sur lactose.

L'efficacité de l'agent mutagène chimique, le N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (NTG) a été prouvée sur différentes bactéries lactiques. Ainsi BURROW et al. (7) ont isolé des mutants de S. diacetylactis qui produisent de fortes quantités d'acétoïne et de diacétyl. MIYAMOTO et al. (14) ont exposé des cellules de Lactobacillus casei subsp alactosus à l'action mutagène du NTG dans le but d'obtenir des variants génétiques ayant des propriétés améliorées de production d'acide et d'arômes dans le lait de soja.

Le but de la présente étude est d'induire une mutation chez S. thermophilus CNRZ 302 par l'action du NTG afin d'isoler des variants capables de fermenter le galactose.

MATERIEL ET METHODES:

Microorganisme et conditions de culture:

La souche étudiée est S. thermophilus CNRZ302, provenant de l'Institut National de Recherches Agronomiques, Jouy-en-Josas, France. Elle est conservée dans du lait reconstitué stérile à 10%. Les cultures sont réalisées à 42 °C, dans le milieu Tryptose Protéose Peptones à l'extrait de levures (TPPY) liquide ou solide (6) contenant 1% de lactose et 1% de glucose (p/v), le pH étant ajusté à 7 avant autoclavage.

Traitement à la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine:

Nous avons utilisé la méthode de MIYAMOTO et al. (14) adaptée à nos conditions.

La culture de S. thermophilus CNRZ 302 sur 500 ml de milieu TPPY est arrêtée en phase stationnaire après 10 à 12 heures d'incubation à 42 °C puis directement centrifugée stérilement à 5000 g pendant 5 minutes à 4°C. Les cellules, constituant le culot, sont lavées deux fois avec du tampon Phosphate de Potassium et de Sodium 20 mM, pH 7, puis remises en suspension dans le même tampon telle que la concentration finale en cellules corresponde à 1 mg en poids sec par ml d'essai soit $2 \cdot 10^8$ cellules/ml. Différentes concentrations de NTG allant de 100 µg/ml à 500 µg/ml, sont préparées dans du tampon Phosphate de Potassium et de Sodium 20 mM, pH 7,0. Chaque mélange NTG-suspension cellulaire préparé stérilement est immédiatement agité au Vortex puis incubé pendant une heure à 42°C dans une étuve sous agitation orbitale à 200 tours par minute. Pour éliminer le NTG, les solutions sont centrifugées pendant 20 minutes à 6000 g à 4°C et les cellules récupérées dans le culot sont ensuite lavées stérilement deux fois avec le tampon Phosphate. Elles sont ensuite remises en suspension dans 5 ml de milieu TPPY lactosé et glucosé et incubées de nouveau à 42°C pendant 2 heures.

Afin de déterminer le taux de survie de la bactérie après traitement au NTG à différentes concentrations, un dénombrement en milieu gélosé TPPY lactosé et glucosé sur boîtes de Pétri est effectué. Les mutants de S. thermophilus CNRZ 302 Galactose⁺ sont isolés sur milieu TPPY gélosé contenant 1% de galactose comme seule source glucidique.

Dosage du lactose et du galactose:

Le lactose et le galactose sont déterminés enzymatiquement en utilisant le Kit de Boehringer Mannheim (n° 176 303). Le dosage des deux glucides est effectué sur le milieu de culture après élimination des bactéries par centrifugation à 5000 g pendant 5 minutes à 4°C.

Activité de la Galactokinase:

Après croissance, les cellules bactériennes sont lavées deux fois avec du tampon Tris-H₂SO₄ 50 mM pH 7,0. Elles sont ensuite perméabilisées selon la méthode de MIOZZARI et al. (13). La perméabilisation consiste à remettre en suspension les cellules après lavages et centrifugation dans le même tampon mais contenant 0,05% de triton X-100 puis à les congeler à -20°C pendant au moins 15 heures.

L'activité de la Galactokinase (EC 2.7.1.6.) est déterminée par la méthode de BALLARD (2). L'ADP formé lors de la phosphorylation du galactose par l'ATP, est mesuré par spectrophotométrie à 340 nm en suivant la vitesse d'oxydation du NADH en présence de phospho-énolpyruvate (PEP), pyruvate Kinase (PK) et Lactate Déshydrogénase (LDH). Le volume d'essai final de 1,1 ml contient 0,5 ml de tampon Triéthanolamine-HCl 0,3 M, pH 7,8 et 50 µl de chacune des solutions suivantes: KCl 1 M, ATP 50 mM, MgCl₂ 60 mM, PEP 20 mM, L-cystéine 150 mM, NaF 0,5 mM, PK 10 Unités, LDH 10 Unités, NADH 0,20 mM et galactose 20 mM. Ce mélange mis dans une cuve à quartz est incubé pendant 5 minutes à 37°C dans le spectrophotomètre à cuve thermostatée (KONTRON:UVIKON 810/820). La réaction commence dès l'addition de 100 µl de la suspension cellulaire à 0,8 de densité optique, ce qui représente 0,024 mg de cellules en poids sec par ml en concentration finale.

L'Unité d'activité de la Galactokinase est la quantité d'enzyme qui catalyse l'oxydation de 1 µmole de NADH par minute et par mg de cellules, le coefficient d'extinction molaire du NADH étant de 6,22 l.mole⁻¹.cm⁻¹.

RESULTATS

Détermination du taux de survie après traitement au NTG:

Les pourcentages de survie des cellules de S. thermophilus CNRZ 302 après traitement à différentes concentrations en NTG pendant 1 heure, sont indiqués dans la figure 1. Le pourcentage survie décroît avec l'augmentation de la concentration et, approximativement un taux de 50% est obtenu à 100 µg/ml. Pour une concentration double, la destruction des cellules est de 90%.

Sélection des mutants Gal⁺:

Les mutants Gal⁺ sont isolés sur milieu TPPY gélosé ne contenant que du galactose comme source glucidique.

Un nombre de 22 souches Gal⁺ ont été isolées à partir de la suspension cellulaire traitée donnant 50% de survie. Mais, seules 3 souches étaient stables après plus de 4 repiquâges successifs sur le même milieu. ADELBERG et al. (1) ont isolé le maximum de mutants à partir d'une culture d'E. coli traitée à la Nitrosoguanidine donnant 50% de survie, c'est la raison pour laquelle nous avons choisi cette condition.

Les 3 mutants isolés ont été désignés par A5, A8, A10; ils présentent la caractéristique de garder le phénotype Gal⁺ sur lait, même après congélation à -20°C pendant 4 mois.

Une observation microscopique nous a révélé que ces mutants sont morphologiquement similaires à la souche mère. Des tests biochimiques et physiologiques ont également montré qu'ils présentent les mêmes caractères que la souche sauvage, exceptée la fermentation du galactose.

Croissance de S. thermophilus et ses mutants:

La croissance des microorganismes sur bouillon TPPY contenant le lactose, glucose ou galactose est estimée par mesure directe de l'absorbance à 650 nm.

Comme l'indique la figure 2, le lactose est la meilleure source glucidique aussi bien pour la souche CNRZ 302 que pour ses mutants A5 et A10. Le variant A3 donne des résultats similaires à ceux de A5 et ne sont pas représentés.

Cependant les mutants présentent, sur les trois glucides, une phase de latence de 4 heures avant de commencer la croissance exponentielle. Sur milieu glucosé, l'absorbance finale de A5 est plus faible que celle de A10. Sur galactose la souche CNRZ 302 ne montre quasiment pas de développement alors que A5 et A10, malgré la longue phase de latence, donnent une phase exponentielle de croissance aussi importante que celle observée sur lactose, l'absorbance finale dépasse même celle sur lactose.

Utilisation du lactose et du galactose :

Les vitesses de dégradation du lactose et d'apparition du galactose ont été déterminées simultanément dans le milieu de culture après élimination des cellules en croissance sur le milieu TPY lactosé, par centrifugation. Cette étude est réalisée sur la souche mère et le mutant A5.

La figure 3A montre que S. thermophilus CNRZ 302 dégrade à peine 4 g de lactose par litre en 24 heures de culture puisque nous retrouvons 6 g par litre dans le milieu contenant au départ 10 g/l. En revanche, elle excrète dans le milieu de culture près de 2 g de galactose par litre pour le même temps d'incubation, soit la moitié du poids de lactose consommée, d'où l'hypothèse que la totalité de galactose, produit par hydrolyse intracellulaire du lactose, s'accumule dans le milieu de culture et n'est pas réutilisée par la bactérie.

La même expérience a été réalisée pour les mutants isolés. La figure 3 B indique que, tout comme la souche sauvage, le mutant A5 consomme 4 g de lactose par litre en 24 heures d'incubation. La quantité de galactose accumulée dans le milieu de culture est, par contre, beaucoup plus faible. Nous avons détecté à peine 0,6 g de galactose par litre en 24 heures, soit 70% de galactose non excrété par la bactérie par rapport à la souche mère. Autrement dit 70% du galactose produit par l'hydrolyse intracellulaire du lactose, sont métabolisés par le mutant.

Système de transport du galactose:

Le système PEP-PTS spécifique du galactose est recherché selon la méthode décrite précédemment (4). Nos résultats ont révélé l'inexistence d'une telle activité aussi bien chez la souche CNRZ 302 que ses mutants. Cette donnée rejoint les résultats rapportés par HUTKINS et al. (8) qui ont montré la présence d'une galactose Perméase chez des souches de S. thermophilus Gal⁻ mais dont l'activité est très faible et dépend de la source d'énergie exogène.

Activité de la galactokinase:

Les activités de la Galactokinase ont été testées sur des cellules de S. thermophilus CNRZ 302 et du mutant A5 en culture sur bouillon TPPY contenant le lactose, glucose ou galactose comme source glucidique. La souche sauvage est ensemencée sur milieu lactosé ou glucosé et A5 sur milieu galactosé. Comme l'indique la figure 4 un niveau considérable de Galactokinase est observé pour A5. Ce mutant présente un taux de l'enzyme 2,3 et 3,5 fois plus élevé par rapport au taux existant dans les cellules de la souche mère poussant sur glucose et lactose respectivement. Le maximum d'activité est observé dans tous les cas en début de phase exponentielle.

DISCUSSION

Les streptocoques du groupe N possèdent le potentiel enzymatique nécessaire au métabolisme du galactose via deux voies séparées (la voie du Tagatose 6-Phosphate et la voie de Leloir) (11, 19). La voie impliquée dépend du mécanisme de prise. Quand le galactose est transporté par le système PEP-PTS, il est phosphorylé lors du transport et se retrouve dans la cellule sous forme de galactose-6-Phosphate, qui est ensuite métabolisé selon la voie du Tagatose 6-Phosphate. Au contraire, s'il emprunte le système Perméase, sa phosphorylation se produit dans la cellule selon la voie de Leloir,

Les souches de S. thermophilus sont généralement galactose-négative. THOMAS et CROW (20) ont décrit des activités de deux enzymes de la voie de Leloir: la galactose-1-Phosphate-uridyl transférase (EC 2.7.7.12), enzyme catalysant la réaction D-galactose-1-P en UDP-D-galactose et l'uridine-diphospho-glucose-4-épimérase (EC 5.1.3.2), enzyme catalysant la transformation de l'UDP-D-galactose en UDP-D-glucose. Par ailleurs, ces auteurs n'ont pu détecter aucune activité des enzymes de la voie du Tagatose-6-P chez les mêmes souches étudiées et suggèrent alors que seule la voie de Leloir est impliquée dans le métabolisme du galactose chez S. thermophilus et par conséquent le transport membranaire du glucide s'effectue par un système de type Perméase. Plus tard, HUTKINS et al. (9) ont confirmé cela en mettant en évidence une Perméase spécifique du galactose où une force motrice protonique est impliquée. De plus, nous avons signalé, dans la présente étude l'absence d'un système PEP-PTS spécifique du galactose chez la souche CNRZ 302.

Contrairement aux streptocoques mésophiles du groupe N qui catabolisent conjointement le glucose et le galactose, produits d'hydrolyse du lactose, en acide lactique, S. thermophilus CNRZ 302 dégrade uniquement le glucose alors que le galactose est excrété. Cette observation confirme les données précédentes. En effet, TINSON et al. (26) ont montré que certaines souches de S. thermophilus peuvent utiliser faiblement le galactose et ont suggéré que les enzymes du métabolisme du galactose sont présents mais sont de faible activité. D'autre part, THOMAS et CROW (20) ont isolé des variants de S. thermophilus fermentant le galactose (Gal^+) en chémostat en présence

de fortes concentrations en galactose résiduel et lactose limitant mais maintenues sur lait, une réversion au phénotype Gal⁻ est vite observée. Dans un bouillon contenant 1% de galactose, nous avons noté une croissance de plusieurs souches de S. thermophilus Gal⁻ en supplémentant le milieu d'une infime quantité de saccharose ; ces souches induites étaient capables d'utiliser le galactose durant quelques repiquâges et ce caractère se perdait dès le passage sur lait (donnée non publiée). En outre, nous avons étudié l'effet de l'addition de galactose à une culture de S. thermophilus CNRZ 302 sur bouillon TPPY glucosé. Le galactose a été rajouté au milieu pendant la phase exponentielle de croissance (donnée non publiée). Nous avons remarqué que le galactose stimule la croissance de telle sorte que le taux de croissance passe de 0,54 h⁻¹ (culture sur glucose seul) à 1,2 h⁻¹ (après addition du galactose). L'activité de la Galactokinase a été mesurée dans les mêmes conditions et les résultats ont montré que l'addition de galactose augmente la production de la galactokinase de 50% par rapport au taux présent dans les cellules ayant poussé sur glucose seul. Ces constatations nous ont amenés à admettre que le catabolisme du galactose est en rapport direct avec le taux de la galactokinase.

Dans la présente étude, trois mutants stables Gal⁺ ont été isolés à partir de cellules de S. thermophilus CNRZ 302 traitées à la nitrosoguanidine. Les quantités de lactose et galactose dans le bouillon lactosé après culture, ont été déterminées et les résultats indiquent que le mutant A5 dégrade approximativement 70% du galactose produit d'hydrolyse du lactose alors que la souche sauvage le rejette presque en totalité. Cependant, ONER et ERICKSON (16) trouvent de très faibles quantités de galactose résiduel quand S. thermophilus et Lactobacillus bulgaricus sont cultivés en symbiose sur lait écrémé à 3%.

L'activité croissante de la Galactokinase des mutants Gal⁺, comparée à celle de la souche mère corrobore l'existence des enzymes de la voie de Leloir. Le mutant A5 en croissance sur galactose montre près de 2,3 et 3,5 fois plus d'activité Galactokinase que la souche CNRZ 302 cultivée sur glucose et lactose respectivement, indiquant une induction possible de l'enzyme par mutation.

BIBLIOGRAPHIE CITEE:

1. **Adelberg, E.M., Mandel, M. and G.C. Chen.** 1965. Optical conditions for mutagenesis by N-methyl-N'-nitrosoguanidine in K12. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **18**:788-790.
2. **Ballard, F.J.** 1975. Galactokinase from pig liver, p. 43-47. In Woo, W.A (ed.), *Methods in Enzymology*, Volume XLII. Academic Press, New-York.
3. **Benateya, A., Bracquart, P., Le Déaut, J.Y. and G. Linden.** 1986. Croissance et prise de l'acide glutamique par les bactéries du genre **Streptococcus** en fonction de la source d'énergie. *Lait.* **66**:289-303.
4. **Benateya, A., Bracquart, P. and G. Linden.** 1987. Perméation des glucides chez **Streptococcus thermophilus**. I- Caractérisation du système de prise du lactose: adaptation au lactose et au glucose. *Microbiologie- Aliments-Nutrition.* **4**:253-264.
5. **Benateya, A., Bracquart, P. et G. Linden.** 1987. Perméation des glucides chez **Streptococcus thermophilus**. II- Caractérisation du système de prise du glucose. *Microbiologie- Aliments-Nutrition.* **5**:181-190.
6. **Bracquart, P.** 1981. An agar medium for the differential enumeration of **Streptococcus thermophilus** and **Lactobacillus bulgaricus** in yoghurt. *J. Appl. Bacteriol.* **51**:303-305.
7. **Burrow, C.D., Sandine, W.E., Elliker, P.R. and C. Speckma.** 1970. Characterization of diacetyl negative mutants of **Streptococcus diacetylactis**. *J. Dairy Sci.* **53**:121-125.

8. Hutkins, R., Morris, H.A. and L.L. McKay. 1985a. Galactose transport in **Streptococcus thermophilus**. Appl. Environ. Microbiol. **50**:772-776.
9. Hutkins, R., Morris, H.A. and L.L. McKay. 1985b. Galactokinase activity in **Streptococcus thermophilus**. Appl. Environ. Microbiol. **50**:777-780.
10. Hutkins, R.W. and Morris, H.A. 1987. Carbohydrate metabolism by **Streptococcus thermophilus**: A review. J. Food Protect. **50**:876-884.
11. Marshall, V.M.E. and Law, B.A. 1984. The physiology and growth of Dairy Lactic acid bacteria, p. 67-98. In Davies, F.L. and Law, B.A. (ed.), Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Elsevier Applied Science Publishers, London and New-York.
12. McKay, L.L., Walter, L.A., Sandline, W.E and P.R. Elliker . 1969. Involvement of phosphoenolpyruvate in lactose utilization by group N streptococci. J. Bacteriol. **99**:603-610.
13. Miozzari, G.F., Niederberger, P and R. Hutter. 1978. Permeabilization of microorganisms by Triton X-100. Anal. Biochem. **90**:220-233.
14. Miyamoto, T., Reddy, N.S. and T. Nakae. 1983. Induction of mutation in **Lactobacillus casei** subsp **alactosus** by nitrosoguanidine. Agric. Biol. Chem. :2755-2759.

15. O'Leary V.S. and J.H. Woychik. 1976. Utilization of lactose, glucose and galactose by a mixed culture of **Streptococcus thermophilus** and **Lactobacillus bulgaricus** in milk treated with lactase enzyme. *Appl. Environ. Microbiol.* **32**:89-94.

16. Oner, M.D. and Erickson, L.E. 1986. Anaerobic fermentation of **Lactobacillus bulgaricus** and **Streptococcus thermophilus** on 3% nonfat dry milk with pure and mixed culture. *Biotechn. Bioeng.* **XXVIII**: 883-894.

17. Shanley, R.M. 1973. Analysis of free sugars in yoghurt. *Austr. J. Dairy Technol.*, **28**:58-60.

18. Somkuti, G.A. and Steinberg, D.H. 1979. Adaptability of **Streptococcus thermophilus** to lactose, glucose and galactose. *J. Food Protection*, **42**: 885-887.

19. Thomas, T.D., Turner, K.W. and Crow, V.L. 1980. Galactose fermentation by **Streptococcus lactis** and **Streptococcus cremoris**: Pathways, products and regulation. *J. Bacteriol.* **144**:672-682.

20. Thomas, T.D. and Crow, V.L. 1984. Selection of galactose-fermenting **Streptococcus thermophilus** in lactose limited chemostat cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* **48**: 186-191.

21. Thompson, J. and Thomas, T.D. 1977. Phosphoenolpyruvate and 2-phosphoglycerate: endogenous energy source for sugar accumulation by starved cells of **Streptococcus lactis**. *J. Bacteriol.* **130**:583-595.

22. **Thompson, J.** 1978. In vivo regulation of glycolysis and characterization of sugar phosphotransferase systems in **Streptococcus lactis**. *J. Bacteriol.* **136**: 465-476.
23. **Thompson, J., Turner, K.W. and Thomas, T.D.** 1978. Catabolite inhibition and sequential metabolism of sugars by **Streptococcus lactis**. *J. Bacteriol.* **133**:1163-1174.
24. **Thompson, J.** 1979. Lactose metabolism in **Streptococcus lactis**: phosphorylation of galactose and glucose moities in vivo. *J. Bacteriol.* **140**: 774-785.
25. **Thompson, J.** 1980. Galactose transport systems in **Streptococcus lactis**. *J. Bacteriol.* **144**: 683-691.
26. **Tinson, W., Hillier, A.J. and Jago, G.R.** 1982. Metabolism of **Streptococcus thermophilus**. I-Utilisation of lactose, glucose and galactose. *Austr. J. Dairy Technol.* **37**: 8-13.

LEGENDE DES FIGURES:

Figure 1: Survie de S. thermophilus CNRZ 302 après traitement à la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.
UFC = Unité formant Colonie

Figure 2: Croissance de S. thermophilus CNRZ 302 et les mutants A5 et A10 sur bouillon TPPY lactosé (x), glucosé (▲) ou galactosé (●).
Température: 42°C

Figure 3: Utilisation du lactose et galactose par S. thermophilus CNRZ 302 (A) et du mutant A5 (B) en culture sur TPPY lactosé.
Croissance (▲).
Concentration de galactose (●) et de lactose (⊙) dans le milieu de culture.

Figure 4: Croissance (A) et activité Galactokinase (E) de S. thermophilus CNRZ 302 en culture sur bouillon TPPY lactosé (●) ou glucosé (x) et du mutant A5 en culture sur bouillon TPIY galactosé (▲).
Température: 42°C.

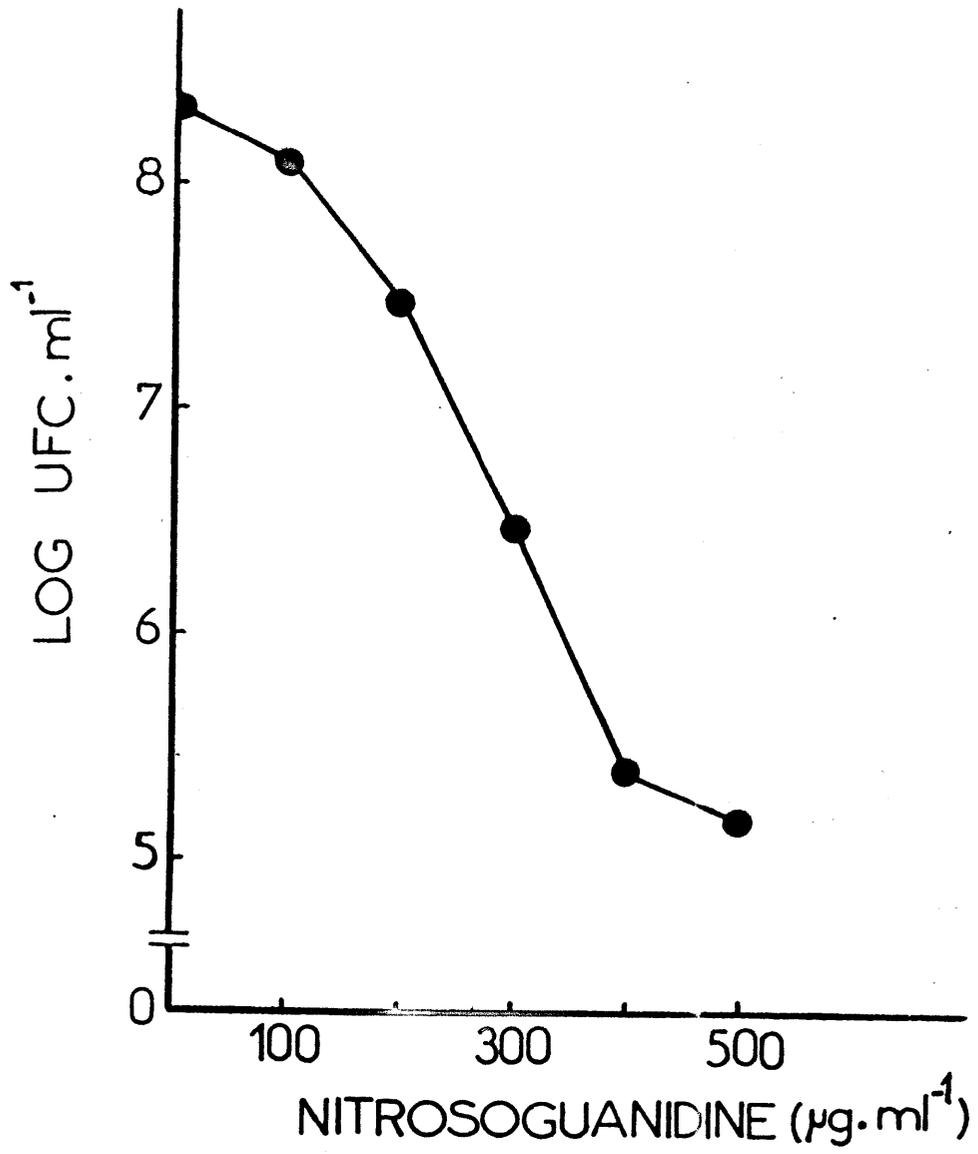
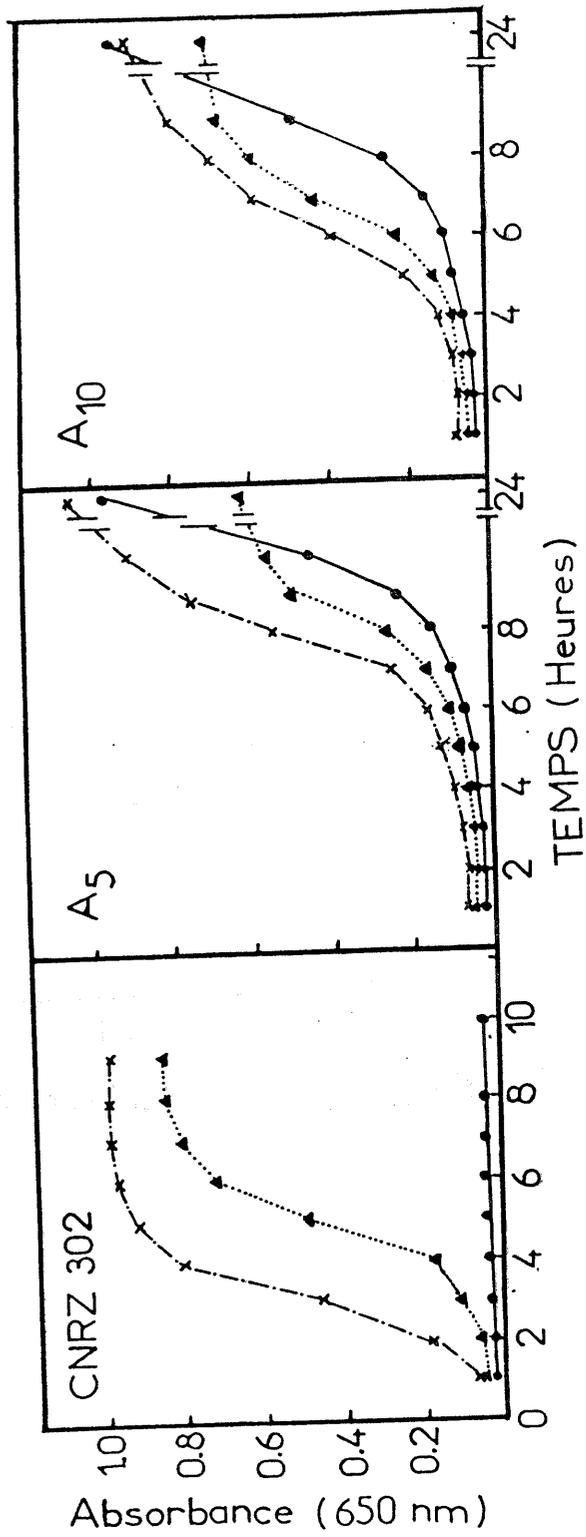


Figure 1



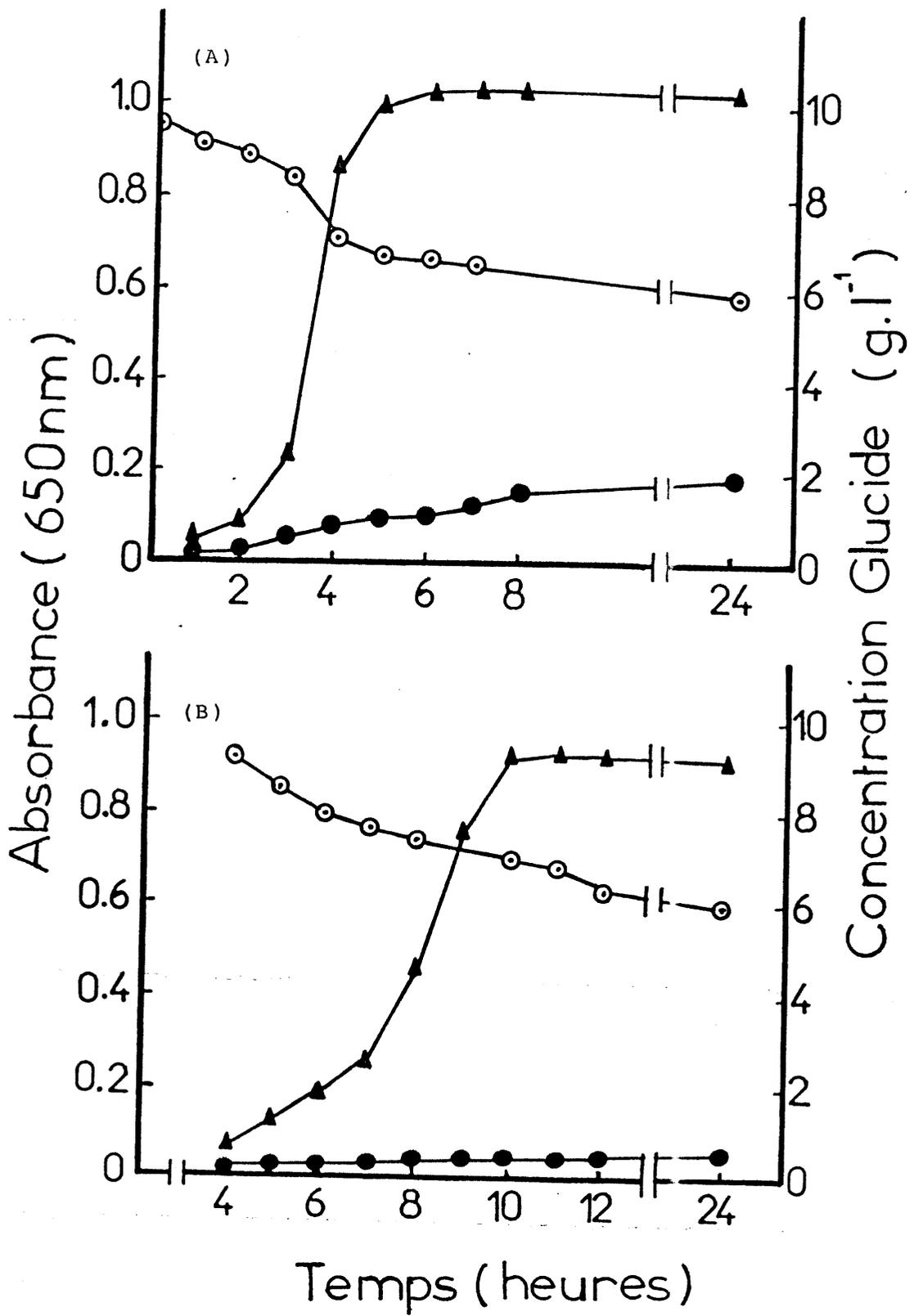


Figure 3

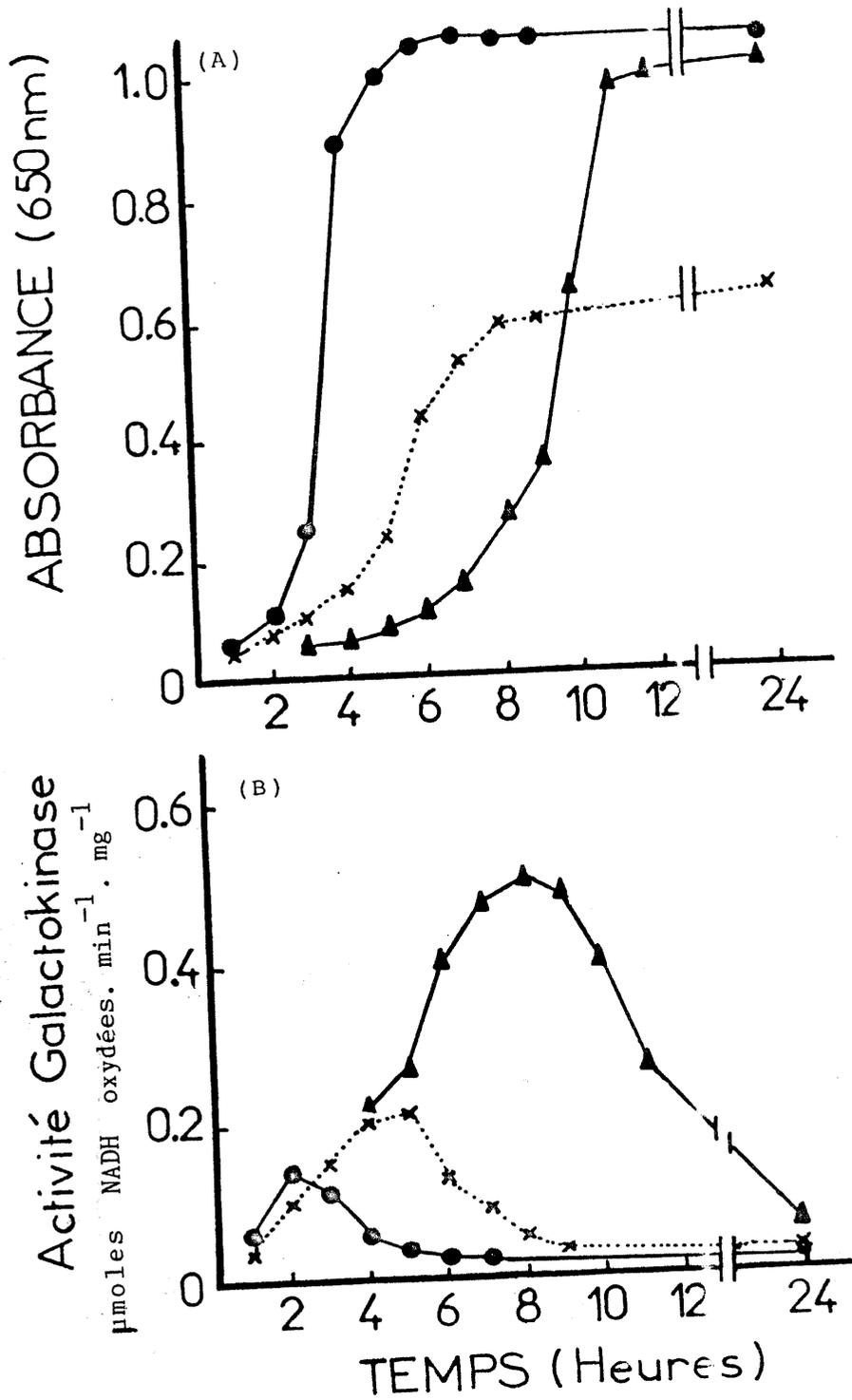


Figure 4