

ADAMOS



*Un nouveau regard sur les écosystèmes laitiers et fromagers :
Adaptation, développement et appropriations des méthodes
omiques à des fins d'écologie microbienne*

Quel nouveau regard sur la microflore du lait et des fromages ?

Des prairies aux fromages...

Présenté par Nicolas Orieux (ENILV)
avec la collaboration de Blandine Polturat (Ceraq), Cécile Charles (ENILV)
et des partenaires des projets présentés

Colloque Adamos • 21 janvier 2020 • Paris



Introduction

Quels nouveaux éléments apportent les méthodes de métagénomique sur les écosystèmes microbiens à toutes les étapes de la production ?

.....

➔ Illustrations à partir de travaux déjà réalisés ou en cours

Introduction

Quels nouveaux éléments apportent les méthodes de métagénomique sur les écosystèmes microbiens à toutes les étapes de la production ?



➔ Illustrations à partir de travaux déjà réalisés ou en cours :

Amont Saint-Nectaire - 2016-2018



sophie.hulin@pole-fromager-aop-mc.org

Erasmus - 2016-2018



blandine.polturat@ceraq.fr

IFEP - 2016-2020



y.bouton@comte.com

Levures - 2017-2018



blandine.polturat@ceraq.fr

MetaPDOCheese - 2017-2020



celine.delbes@inra.fr

Microphyllos - 2016-2017



marina.cretenet@unicaen.fr

Thèse de Marie Frélin - soutenue en décembre 2016



celine.delbes@inra.fr

Quels nouveaux éléments apportent les méthodes de métagénomique sur les écosystèmes microbiens à toutes les étapes de la production ?



➔ Illustrations à partir de travaux déjà réalisés ou en cours :

Amont Saint-Nectaire - 2016-2018



Erasmus - 2016-2018



IFEP - 2016-2020



Levures - 2017-2018



MetaPDOCheese - 2017-2020



Microphyllos - 2016-2017



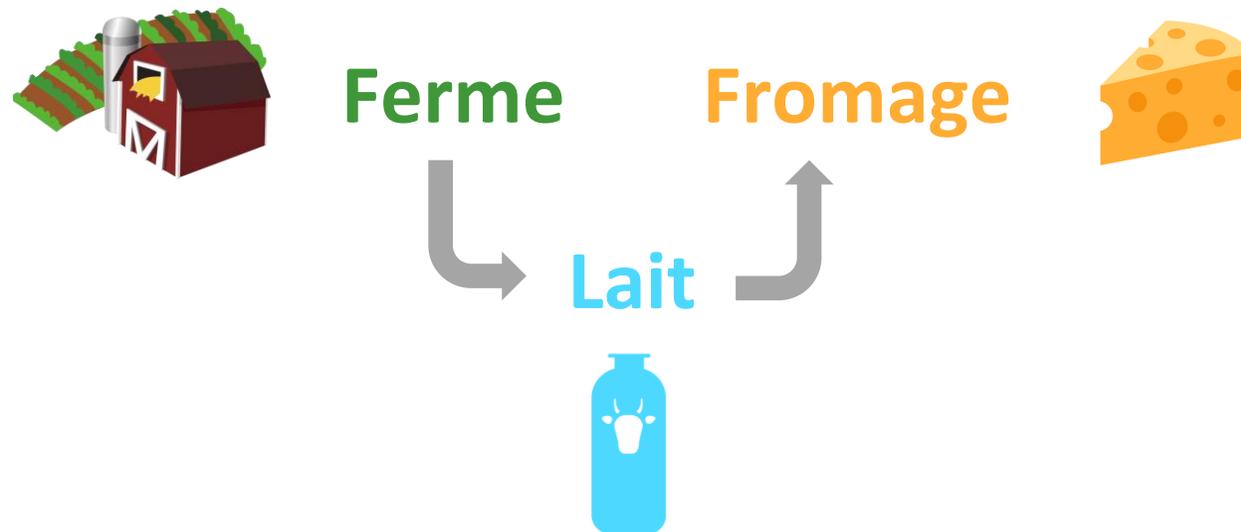
Thèse de Marie Frélin - soutenue en décembre 2016



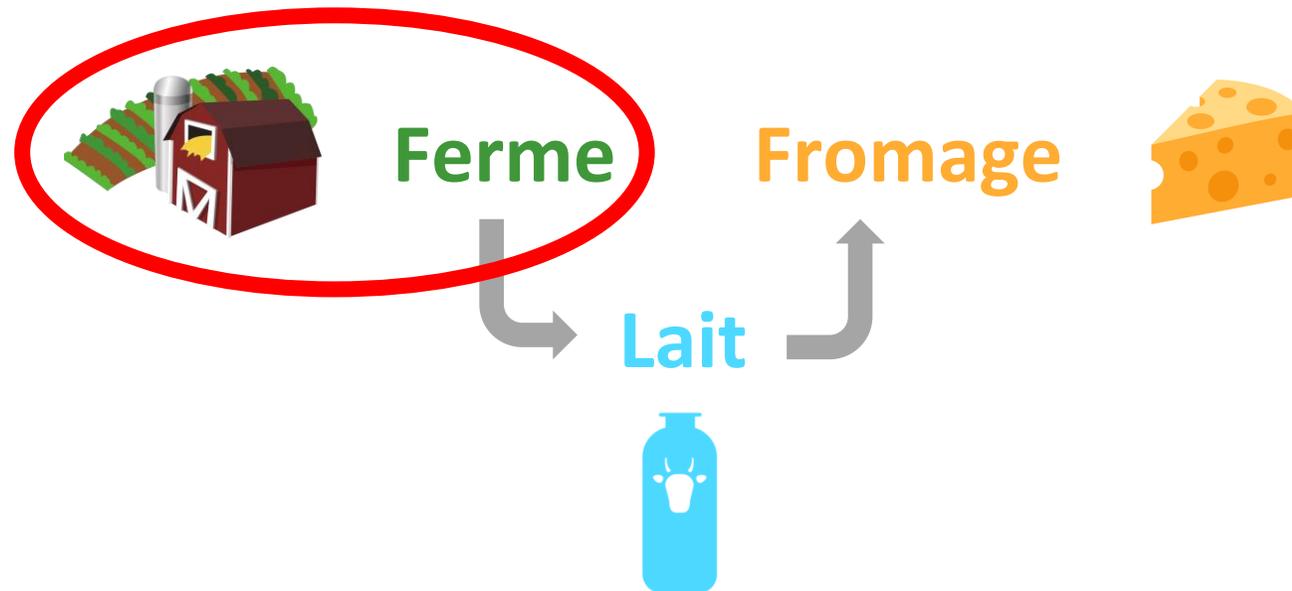
Introduction

Quels nouveaux éléments apportent les méthodes de métagénomique sur les écosystèmes microbiens à toutes les étapes de la production ?

.....

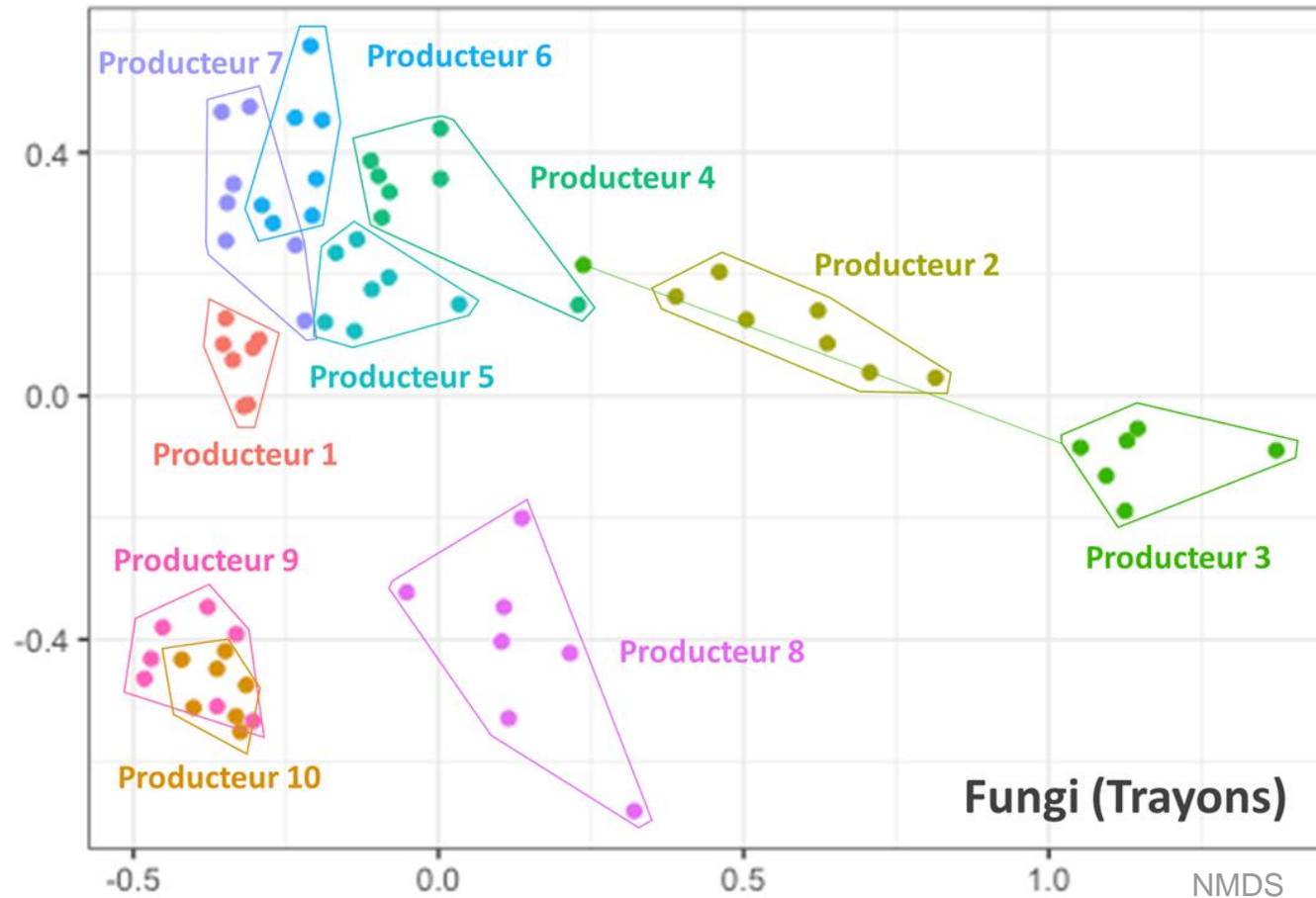


Dans la ferme...



Dans la ferme...

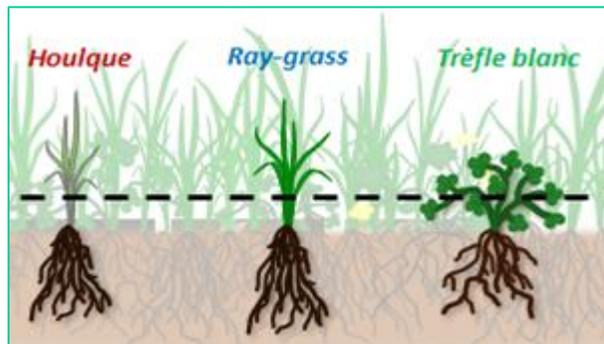
Les micro-organismes présents peuvent varier d'une exploitation à l'autre



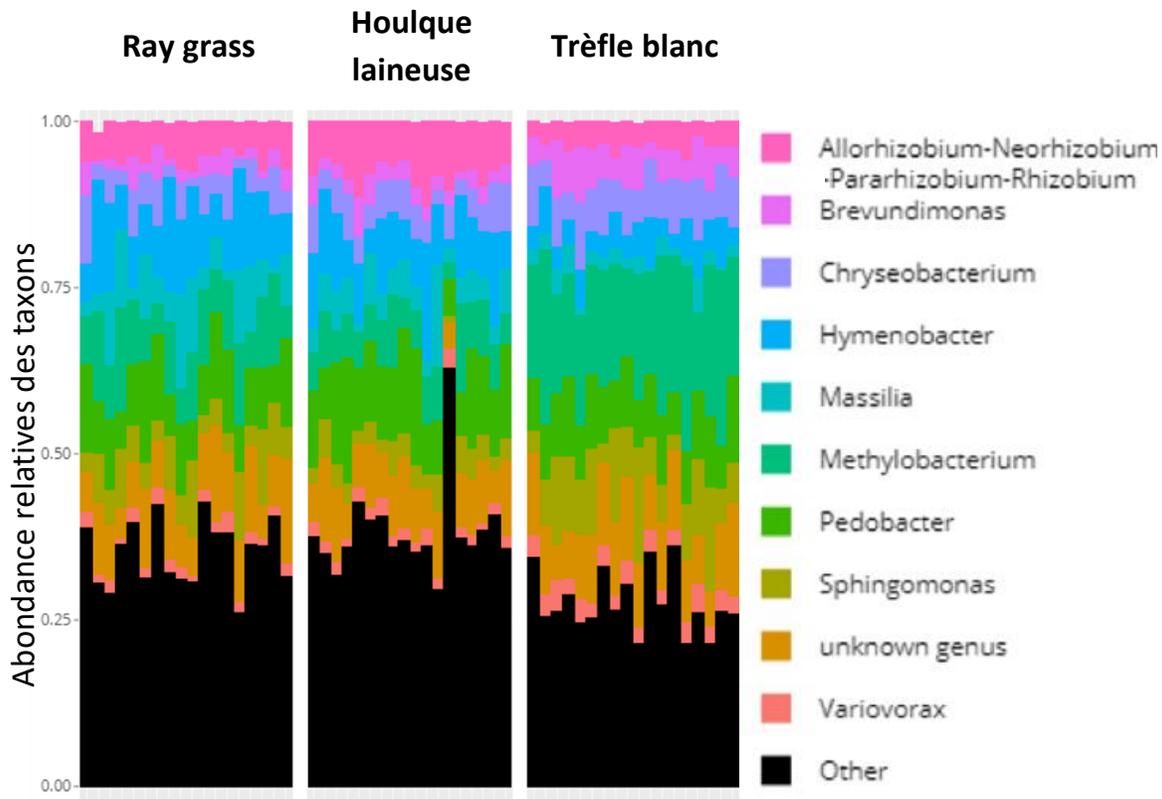
*Représentation de la diversité entre échantillons selon les ateliers dans lesquels ils ont été prélevés (NMDS).
Écosystème étudié = fungi sur les trayons*

1 point = 1 échantillon ; plus les points sont proches, plus les écosystèmes fongiques des échantillons correspondants sont proches

Entre 10^{16} et 10^{18} microorganismes par km^2 de prairie

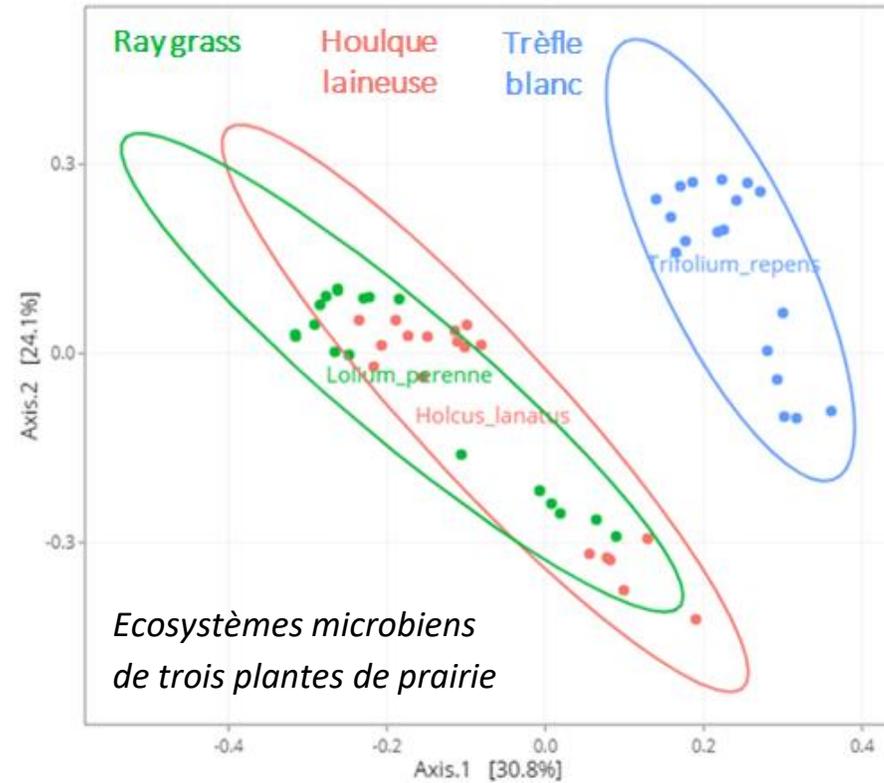
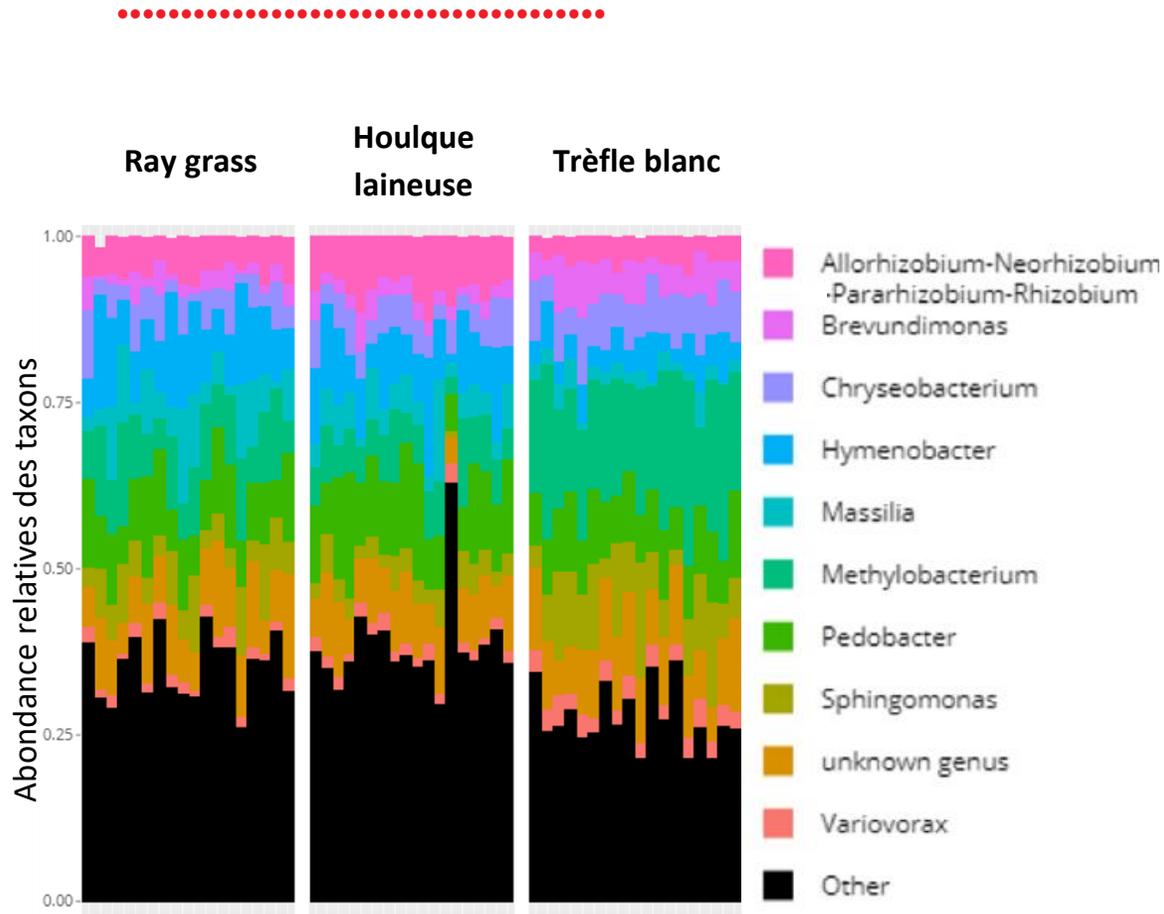


Les dix genres bactériens majoritaires sont les mêmes pour les trois plantes étudiées



Dix genres majoritaires des écosystèmes microbiens observés sur trois plantes

La diversité bactérienne des prairies dépend des espèces végétales présentes



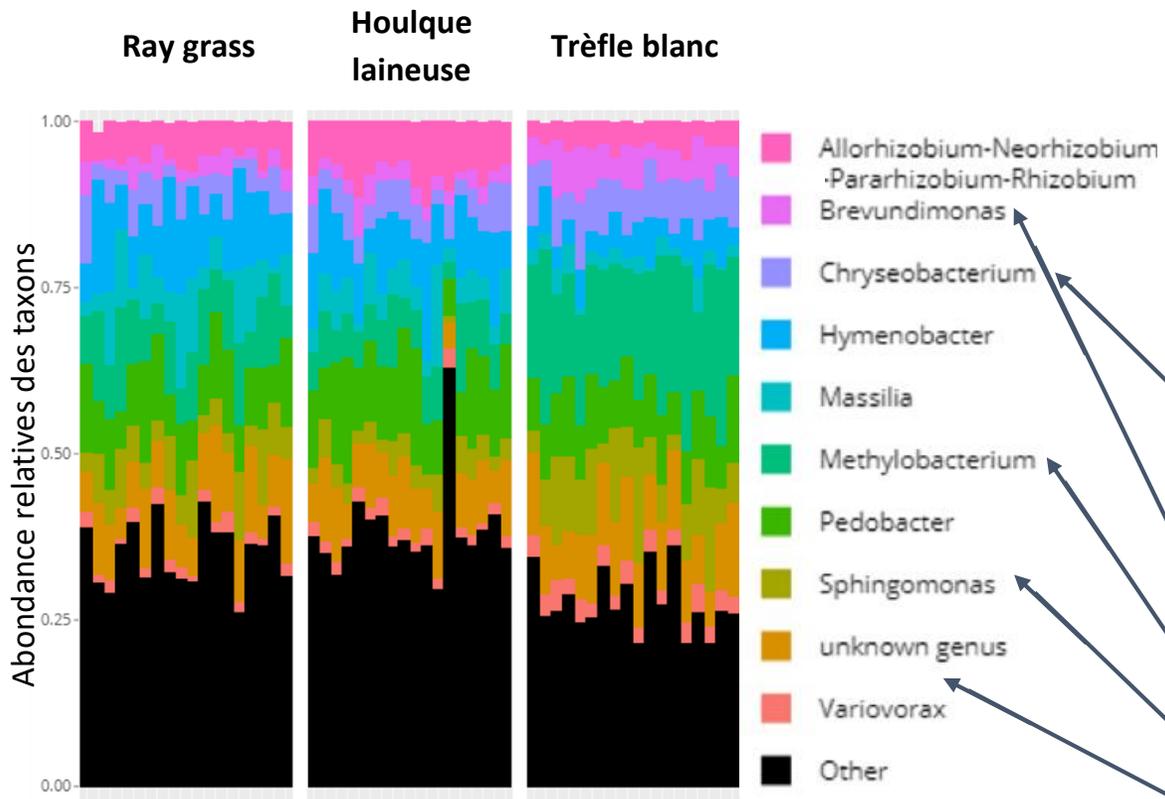
Ecosystèmes microbiens de trois plantes de prairie

Dix genres majoritaires des écosystèmes microbiens observés sur trois plantes de prairie

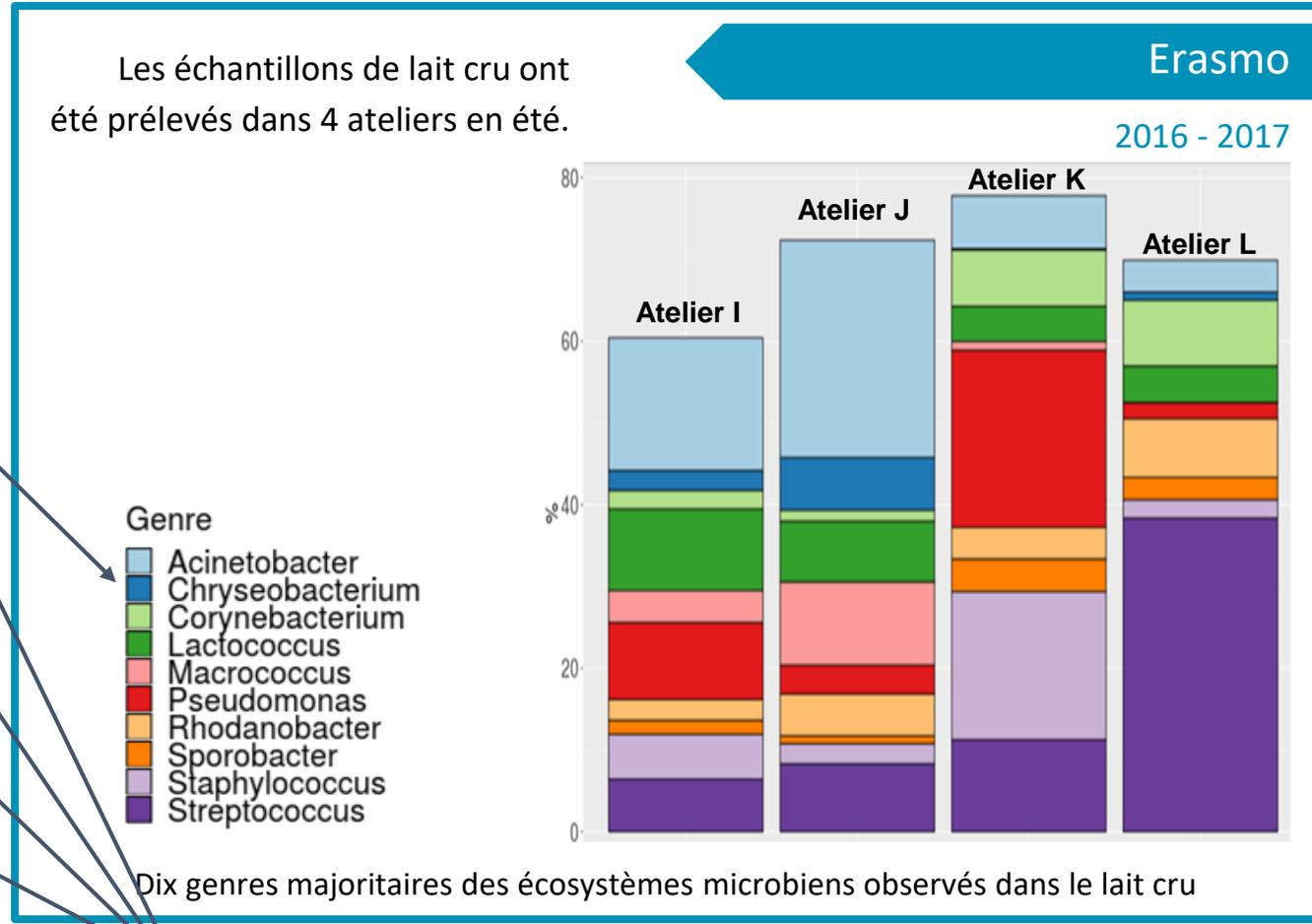
De la ferme au lait



Comparaison des bactéries des prairies et du lait cru



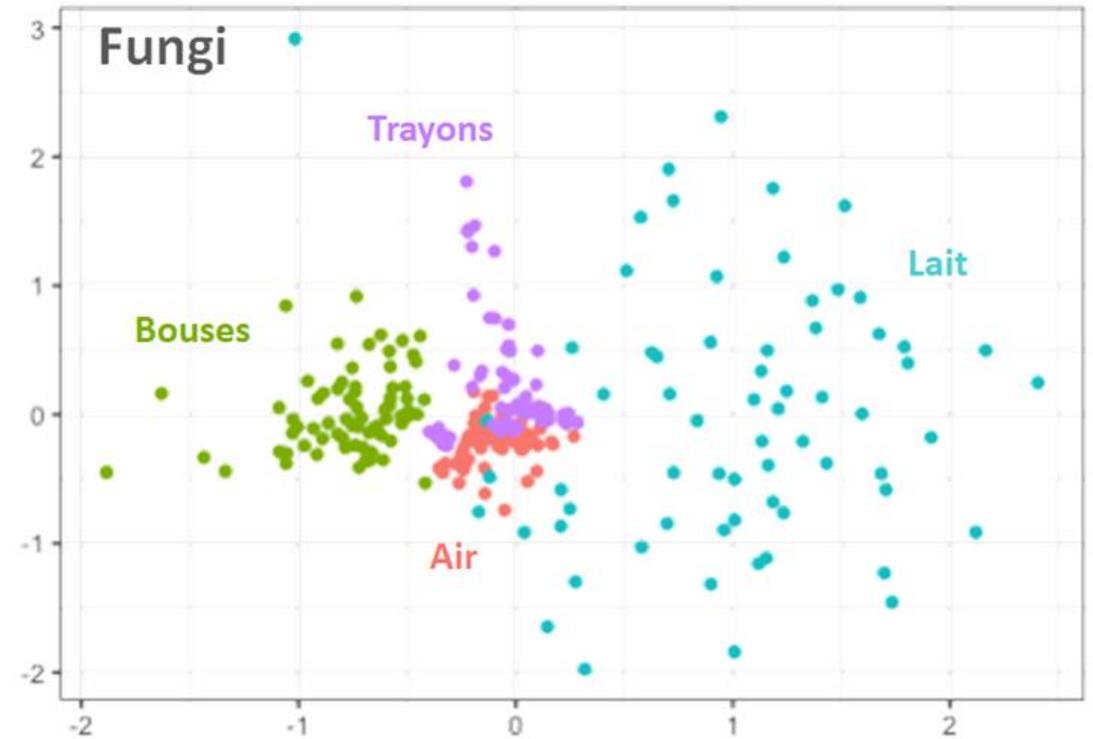
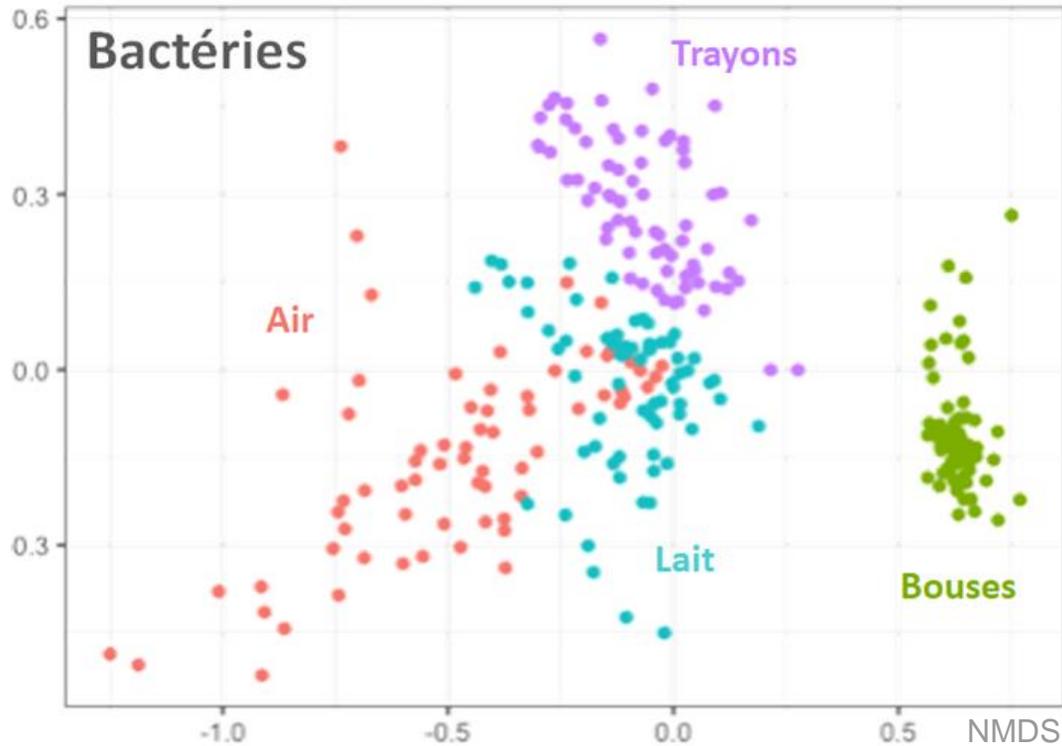
Dix genres majoritaires des écosystèmes microbiens observés sur trois plantes



Dix genres majoritaires des écosystèmes microbiens observés dans le lait cru

Flores minoritaires

Les écosystèmes microbiens sont globalement différents selon les **supports** étudiés...



Représentation de la diversité entre échantillons selon les supports sur lesquels ils ont été prélevés (NMDS)

1 point = 1 échantillon ; plus les points sont proches, plus les écosystèmes bactériens ou fongiques des échantillons correspondants sont proches.

Prélèvements réalisés de janvier à mars 2018.

De la ferme au lait...

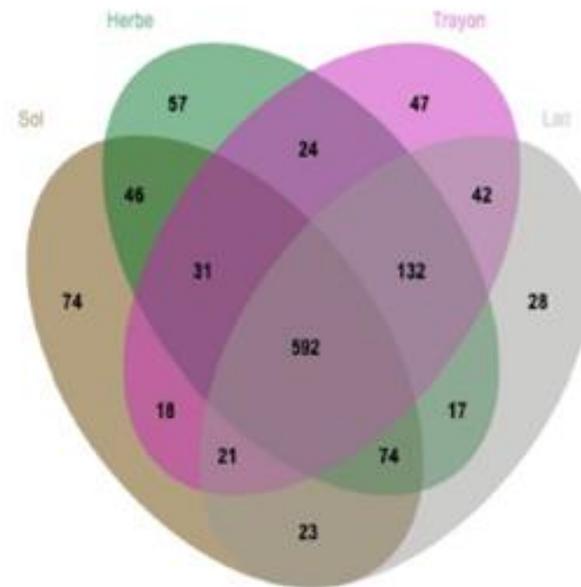
... mais les mêmes micro-organismes peuvent être retrouvés dans différents lieux



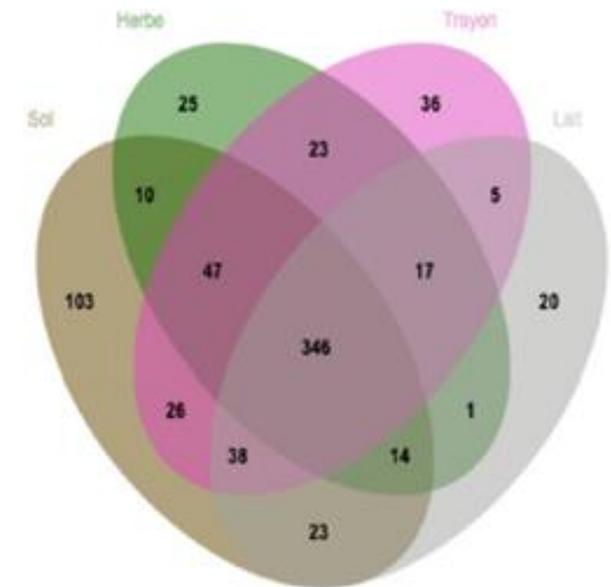
→ Notion de “réservoirs de flores”



Bactéries



Fungi



Taille des échantillons

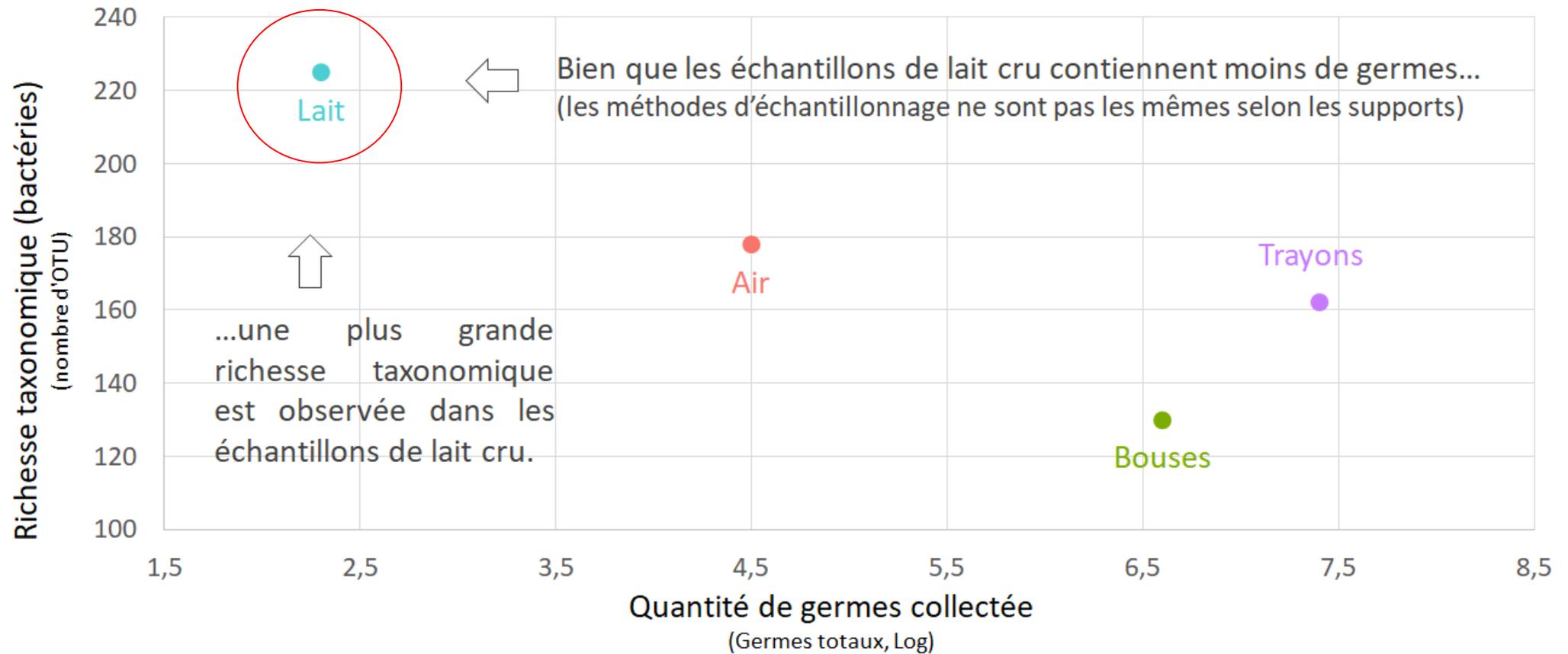


Taille des échantillons



Diagramme de Venn représentant la présence des genres bactériens (16S) et fongiques (18S) dans les différents compartiments

La diversité des espèces de bactéries est plus importante dans le **lait cru**



De la ferme au lait...

“Analyse pluridisciplinaire des systèmes de production de lait en fromages AOP Saint-Nectaire fermiers pour la maîtrise de leurs qualités sanitaires”

.....

En cours

Résultats attendus :

- Mise en évidence de corrélations entre les profils microbiens du lait et de l’environnement et des aspects sanitaires
- Mise en place d’indicateurs sur les liens entre les pratiques d’élevage et les profils microbiens du lait et de l’environnement



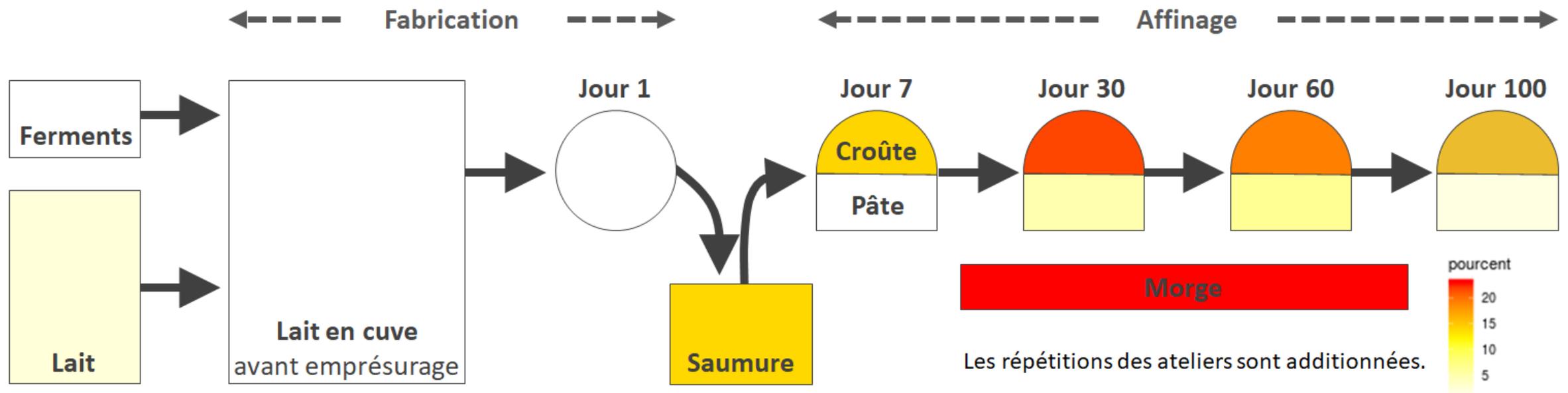
Du lait au fromage...



Les microflores évoluent au cours de l'affinage

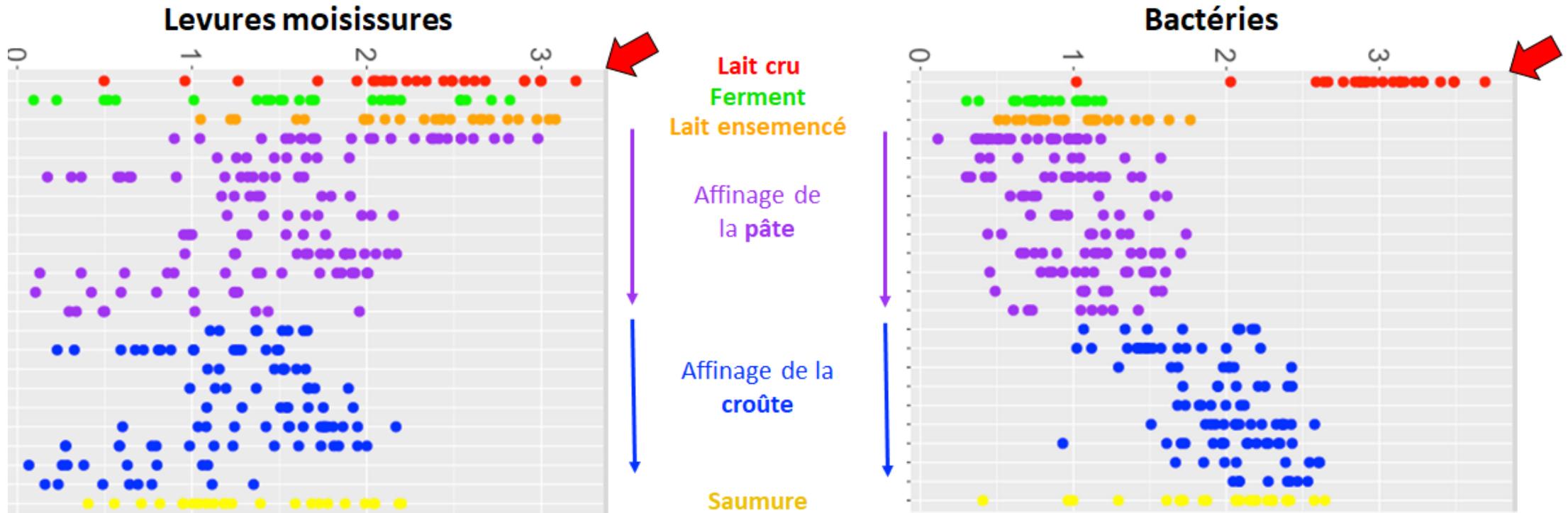
- Les espèces présentes ne sont pas les mêmes selon l'étape de fabrication
- Les flores de la pâte et de la croûte peuvent être distinguées

Exemple : Les *Corynebacterium*



Du lait au fromage

La plus forte biodiversité est de nouveau observée dans le **lait cru**

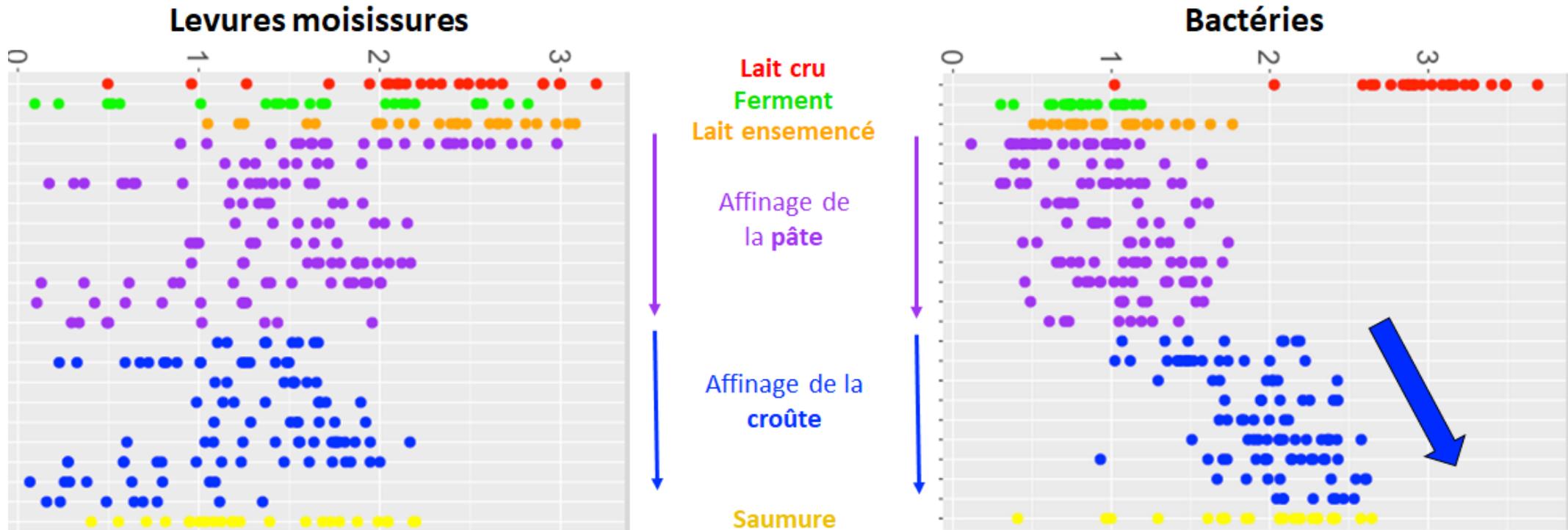


Biodiversité bactérienne ou fongique de tous les échantillons du projet ERASMO

L'indice de Shannon prend en compte le nombre d'espèces dans le milieu et la répartition des individus au sein de ces espèces

Du lait au fromage

Les flores majoritaires issues de l'ensemencement laissent place aux flores d'affinage



Biodiversité bactérienne ou fongique de tous les échantillons du projet ERASMO

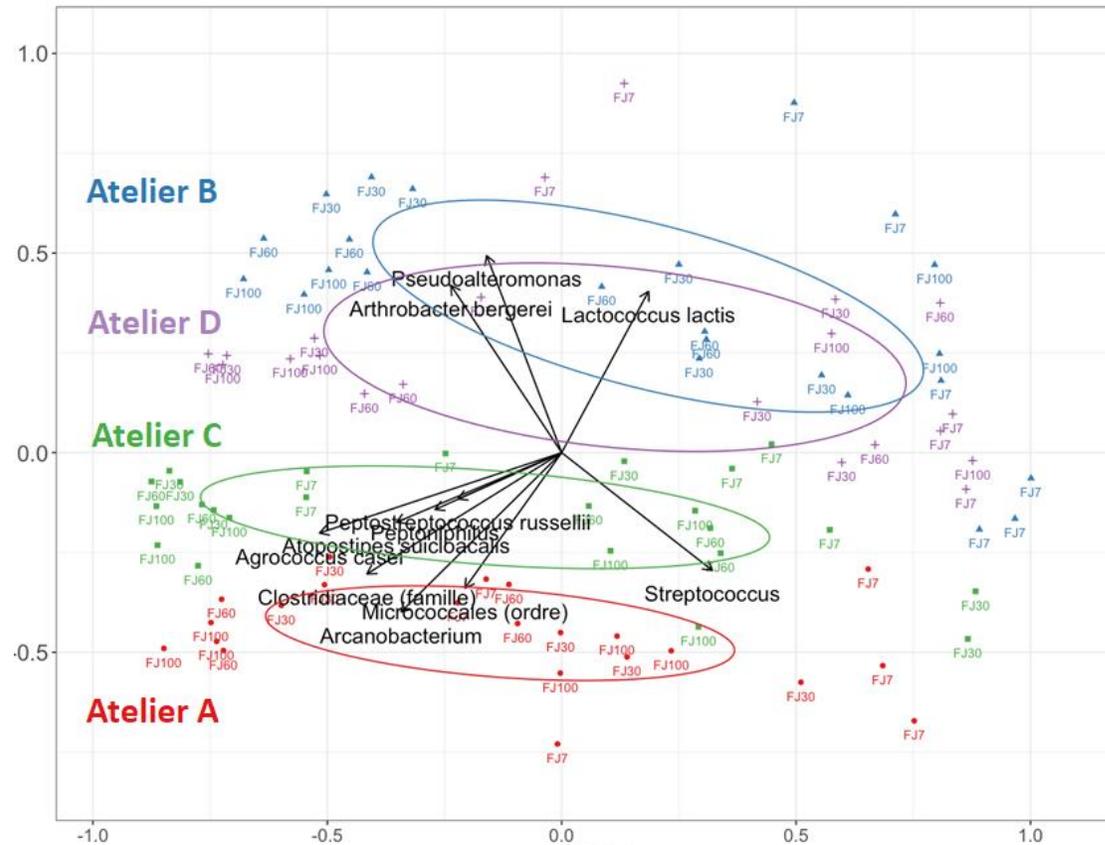
L'indice de Shannon prend en compte le nombre d'espèces dans le milieu et la répartition des individus au sein de ces espèces

Du lait au fromage

Les flores ne sont pas les mêmes selon les ateliers



→ Il est possible de distinguer les ateliers entre eux en s'intéressant aux espèces minoritaires présentes.

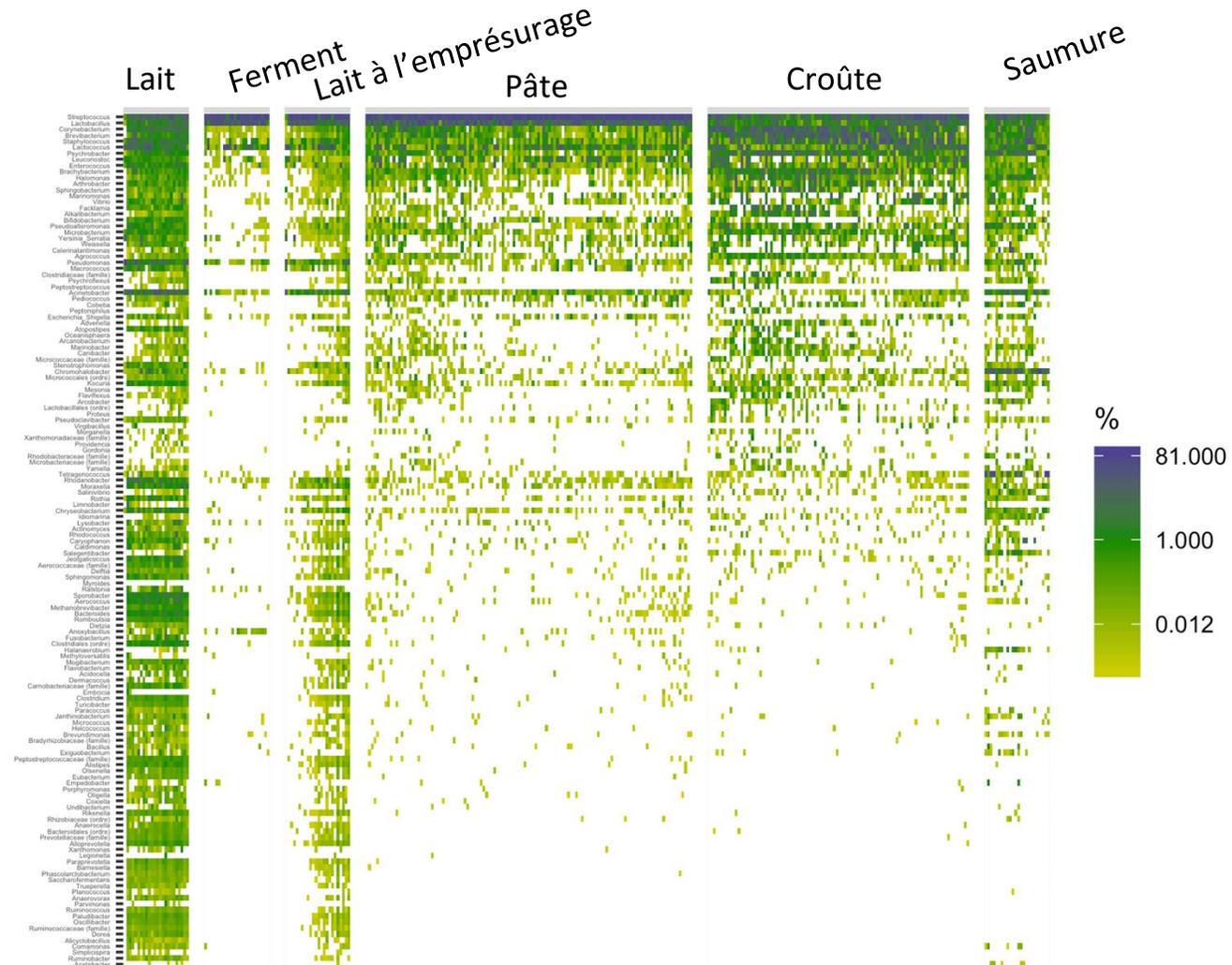


Représentation de la diversité entre échantillons selon les ateliers dans lesquels ils ont été prélevés (NMDS)

1 points = 1 échantillon ; plus les points sont proches, plus les écosystèmes bactériens des échantillons correspondants sont proches

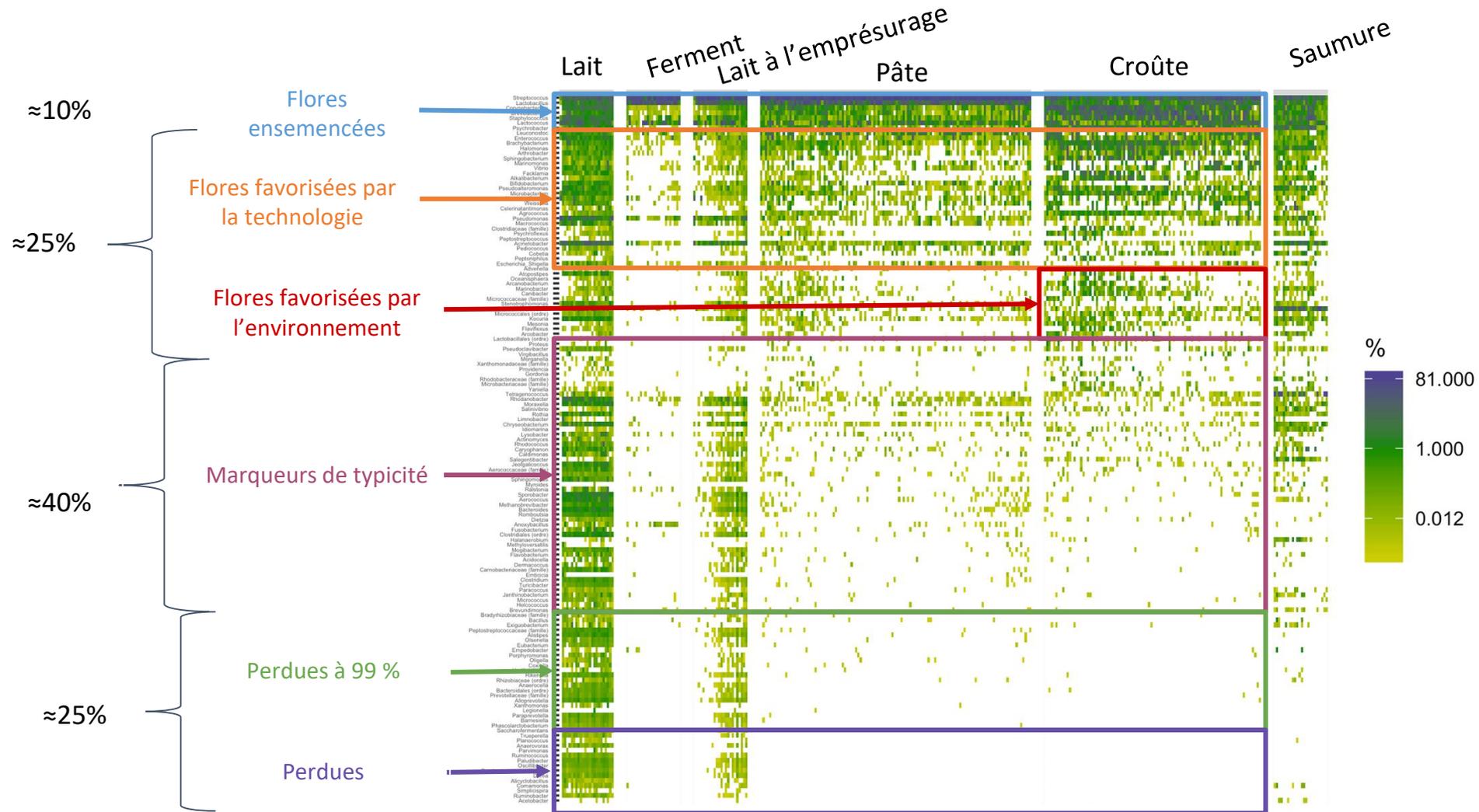
Du lait au fromage

Les flores du lait cru sont présentes dans le fromage !



Du lait au fromage

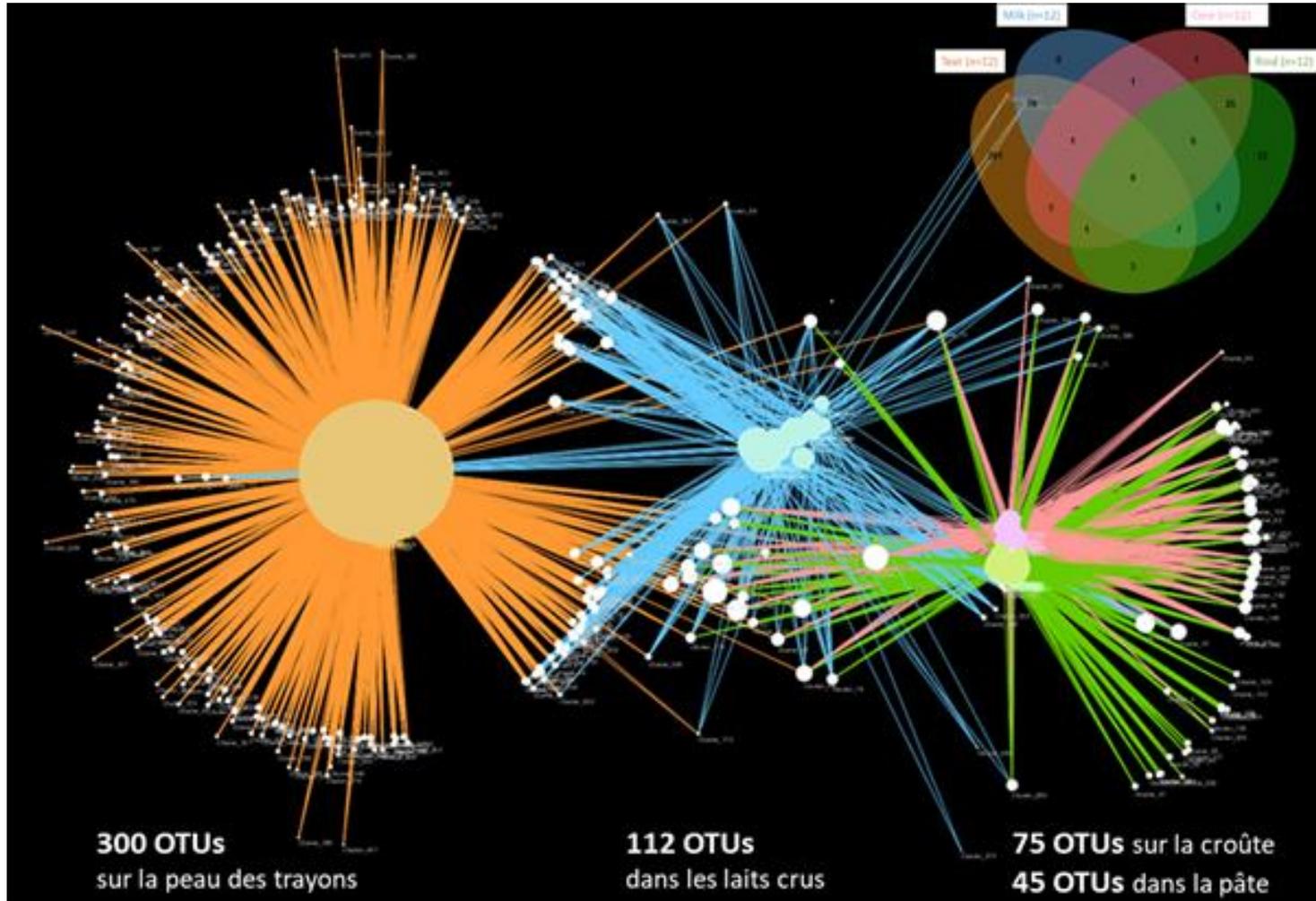
Les flores du lait cru sont présentes dans le fromage !



De la ferme au fromage



Quels sont les réservoirs de biodiversité ?

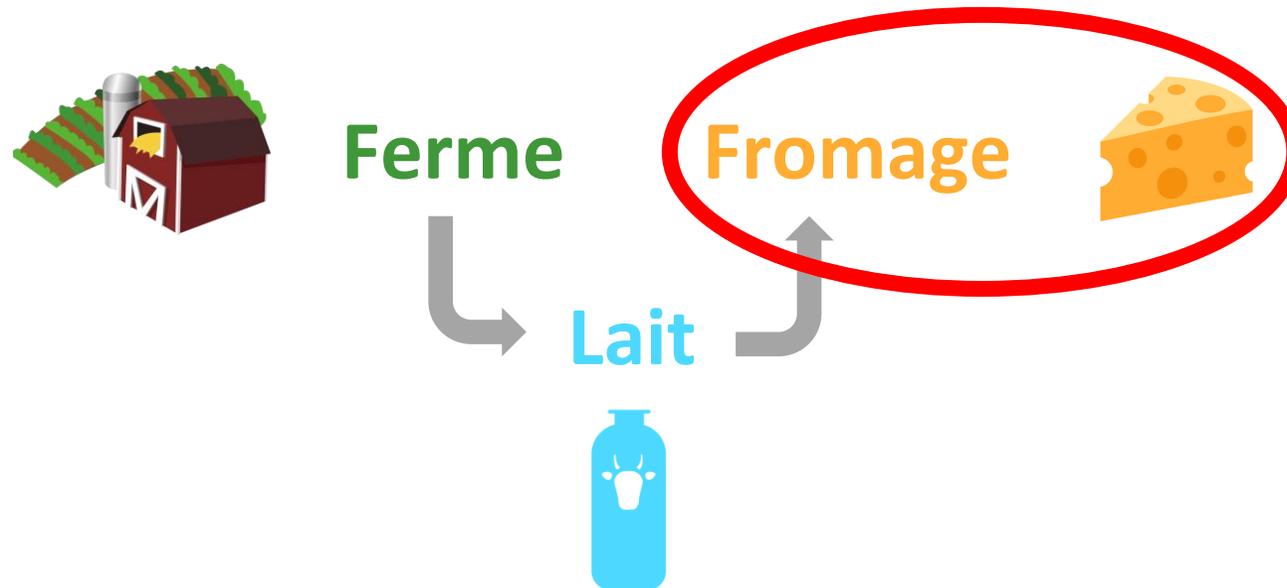


Représentation visuelle des 365 OTUs bactériens détectés sur la peau des trayons jusqu'au fromage affiné

Les ronds blancs correspondent aux 365 OTUs bactériens détectés dans les quatre habitats (peau des trayons : rond orange ; laits crus : rond bleu ; pâte des fromages : rond rose ; croûte des fromages : rond vert). La taille des ronds est proportionnelle au nombre d'OTUs bactériens qui y sont connectés. La présence des OTUs bactériens dans un habitat est indiquée par la couleur des lignes.

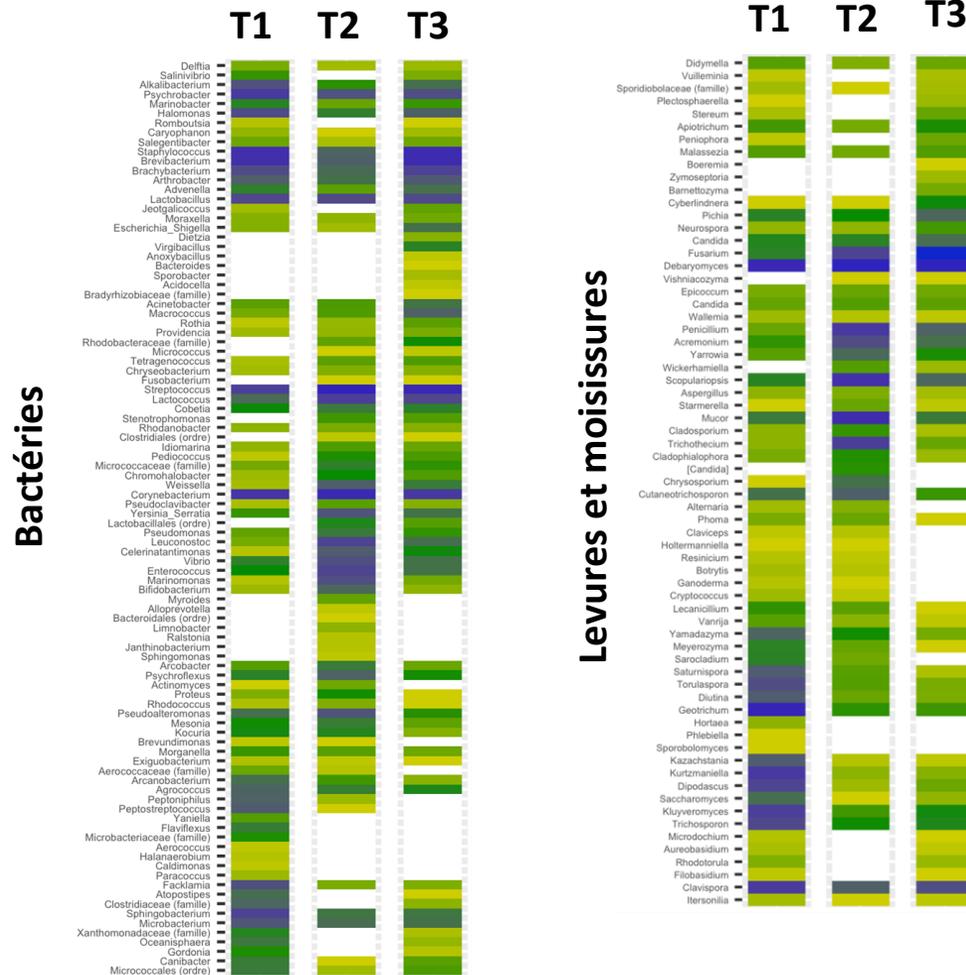
Thèse "Construction de la qualité sensorielle des fromages de type Cantal : rôle des interactions entre les communautés microbiennes et la composition de la matière grasse laitière des fromages", Marie Fretin, soutenue le 14 décembre 2016 (p.130)

Dans le fromage



Dans le fromage

Chaque technologie possède son propre profil d'écosystème



→ Les bactéries, levures et moisissures présentes dans la croûte ne sont pas les mêmes selon les technologies de fabrication.

Taxons et abondances relatives des micro-organismes présents dans la croûte des fromages selon trois technologie de fabrication :

- T1 = Pâte pressée cuite
- T2 et T3 = Pâte pressée non cuite

Dans le fromage

Mieux connaître la diversité microbienne des fromages AOP

.....

En cours

Résultats attendus :

- La liste des espèces microbiennes (levures et bactéries) présentes dans les laits et les fromages AOP
- Les liens entre les conditions de production et les espèces présentes
- Les mécanismes d'adaptation de certaines espèces spécifiques au contexte **fromager**

Conclusion

Quels nouveaux éléments la métagénomique a-t-elle apportés ?

.....

- **Une diversité bactérienne et fongique importante de la prairie jusqu'au fromage** à l'échelle des filières mais également au sein d'une même filière (diversité entre ateliers, entre prairies, diversité observée à l'échelle d'une exploitation, d'une fromagerie à un temps t...)
- **Une diversité particulièrement remarquable dans le lait cru**
- **Une meilleure connaissance du comportement des espèces minoritaires présentes dans les laits et les fromages**
- **Une identification des réservoirs de flores communs mais aussi spécifiques** pour l'ensemble des microorganismes, cultivables ou pas
- **Une approche des corrélations entre les pratiques d'élevages ou technologiques et la dynamique des flores microbiennes**

Conclusion

Quelles réponses peut apporter la métagénomique ?

.....

- **Comparaison de microorganismes de différents compartiments**

Pour tous types de matrices : prairie, trayons, bouses, lait, fromage, saumure...

Quelle est la diversité observée à l'échelle d'une exploitation, d'une fromagerie, d'une AOP...?

- **Etude de la dynamique des écosystèmes microbiens**

Quelles sont les espèces majoritaires et minoritaires ?

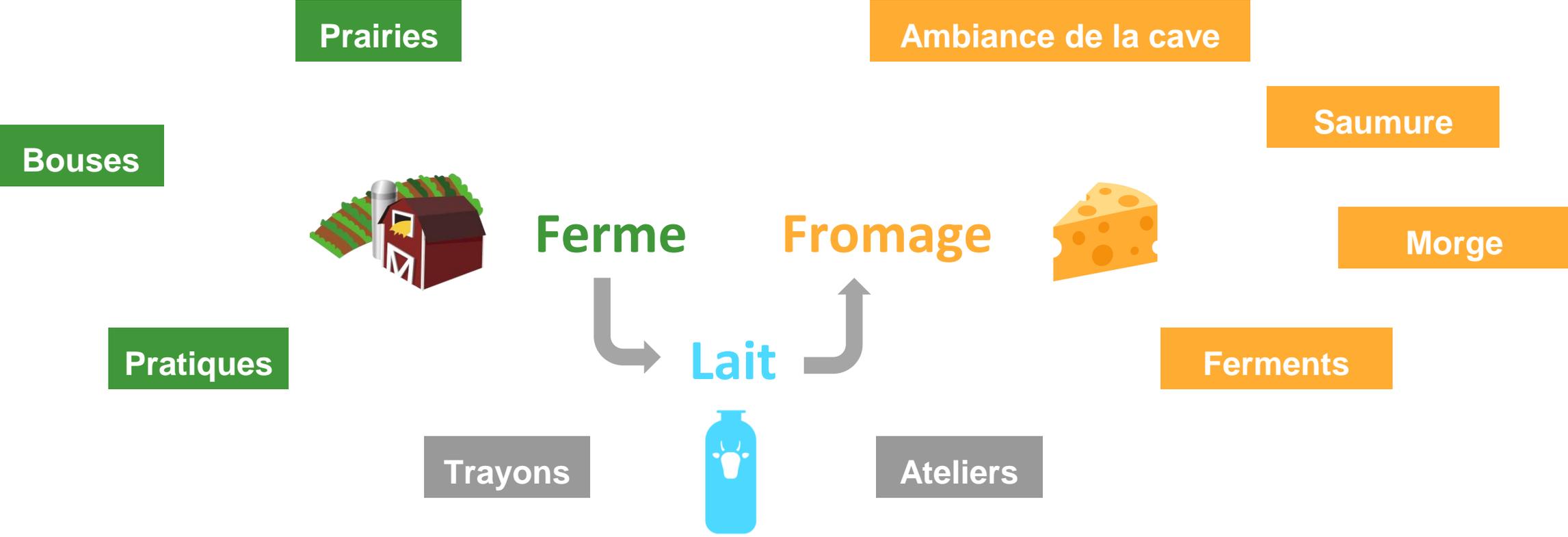
Comment évoluent-elles dans le temps (par exemple au cours de l'affinage) ?

- **Etude de l'impact d'une technologie ou d'une pratique**

...sur la composition des écosystèmes microbiens et leur dynamique.

Quels conséquences sur la gestion de la qualité et des aspects sanitaires ?

Conclusion



Merci de votre attention !



Amont Saint-Nectaire - 2016-2018



Contacts :
sophie.hulin@pole-fromager-aop-mc.org

Erasmo - 2016-2018



blandine.polturat@ceraq.fr

IFEP - 2016-2020



y.bouton@comte.com

Levures - 2017-2018



blandine.polturat@ceraq.fr

MetaPDO Cheese - 2017-2020



celine.delbes@inra.fr

Microphyllos - 2016-2017



marina.cretenet@unicaen.fr

Thèse de Marie Frétin - soutenue en décembre 2016



celine.delbes@inra.fr