ADAMOS

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

AVEC LA CONTRIBUTION FINANCIÈRE DU COMPTE D'AFFECTATION SPÉCIALE DÉVELOPPEMENT AGRICOLE ET RURAL
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Quel nouveau regard sur la microflore
De l'herbe au fromage

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

Webinaire écosystèmes microbiens • 19 novembre 2020

réseau Fromages de Terroirs

Projet affilié au RMT
Filières Fromagères Valorisant leur Terroirs

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 :

Contacts :

Amont Saint-Nectaire - 2016-2018 — 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

MetaPDOCheese - 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

Introduction

Nom de projet

début - fin du projet

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

Erasmo - 2016-2018

IFEP - 2016-2020

Levures - 2017-2018

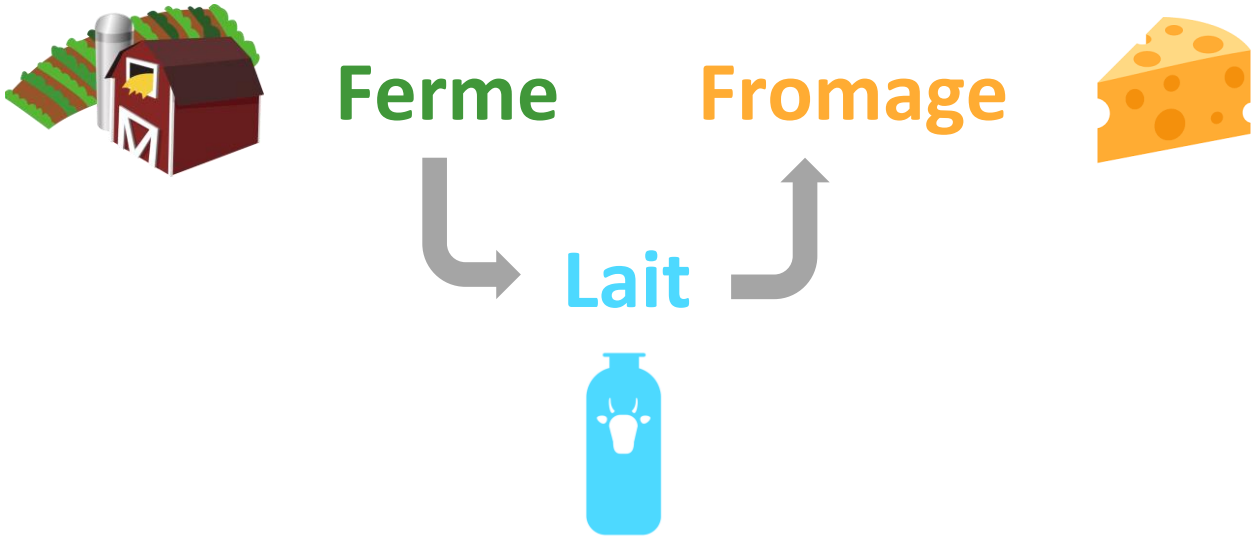
MetaPDOCheese - 2017-2020

Microphyllos - 2016-2017

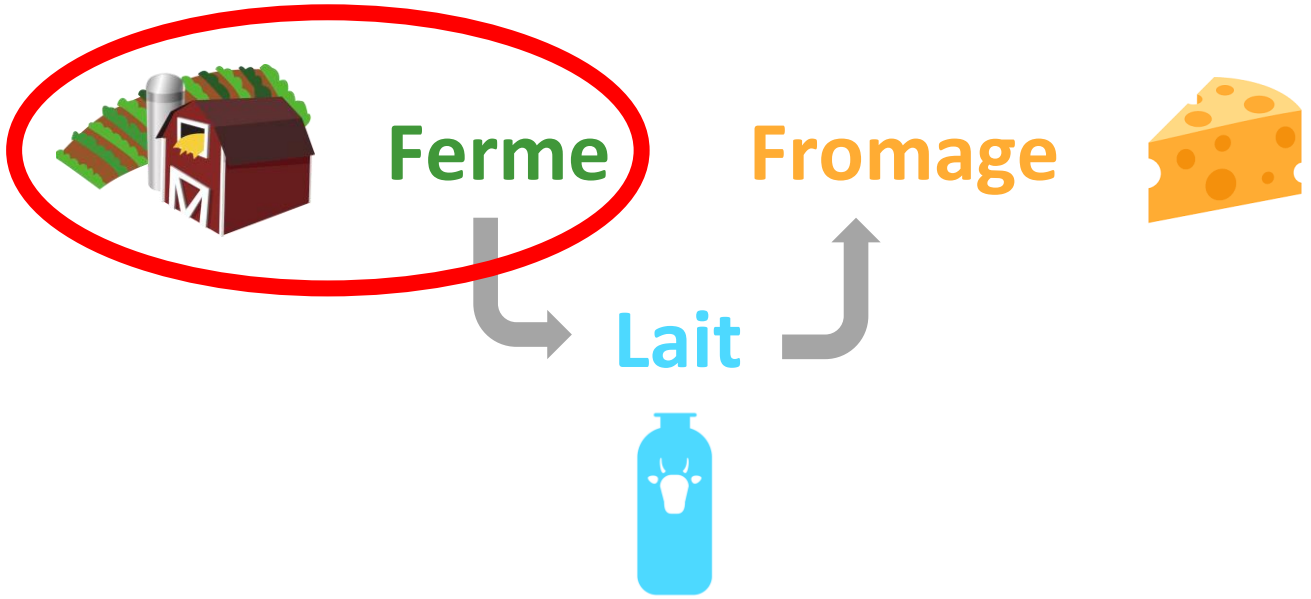
Thèse de Marie Frétin - soutenue en décembre 2016

Introduction

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

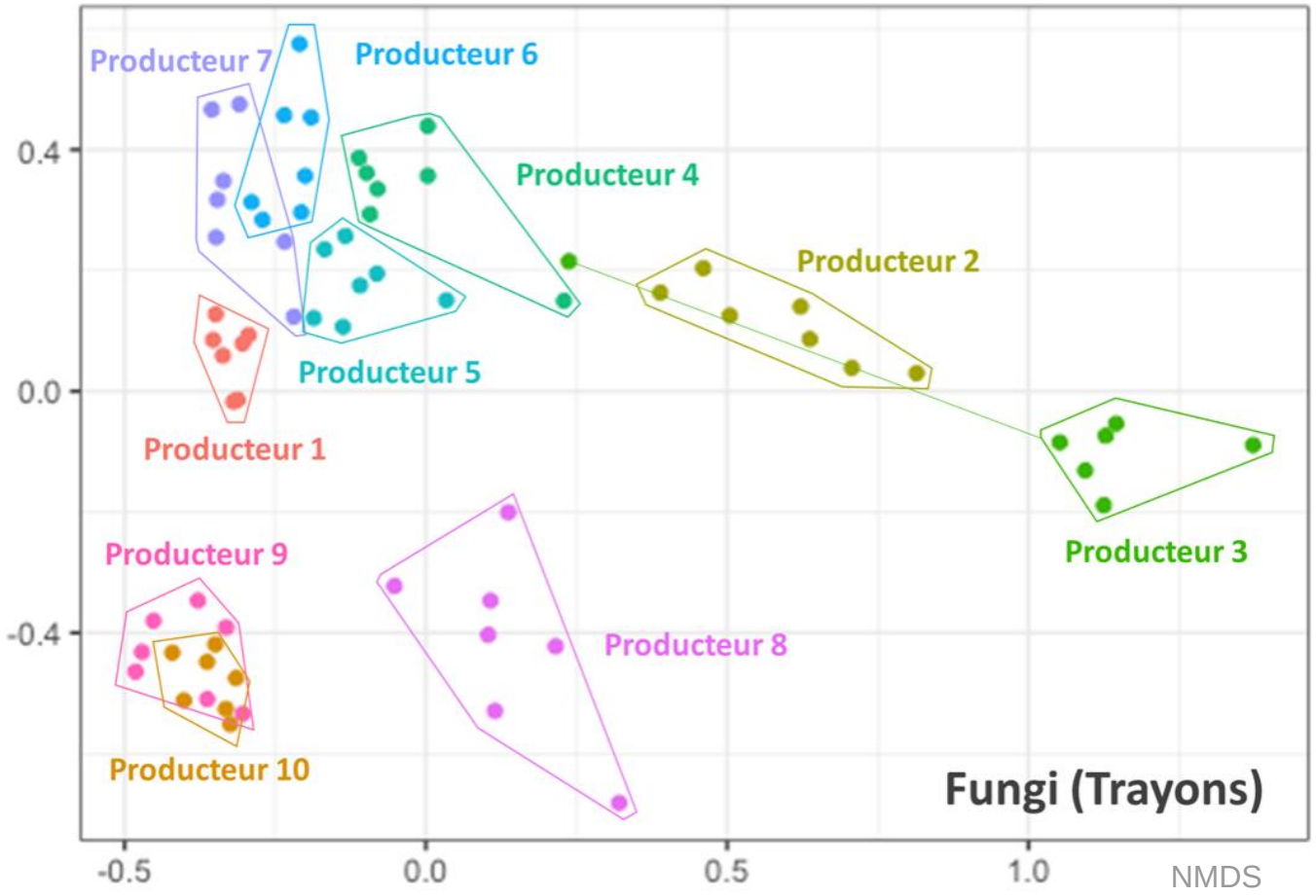


Dans la ferme…



Dans la ferme…

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

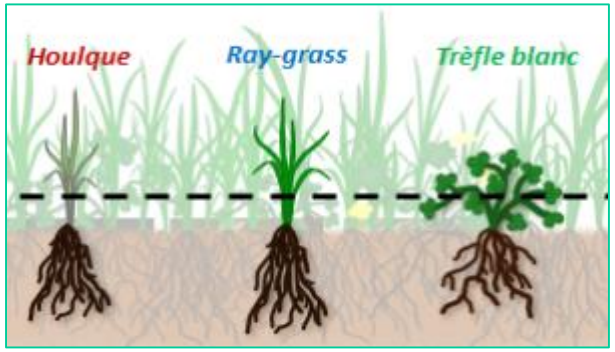


Représentation de la diversité entre échantillons selon les ateliers dans lesquels ils ont été prélevés (NMDS).
Écosystème étudié = fungi sur les trayons

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

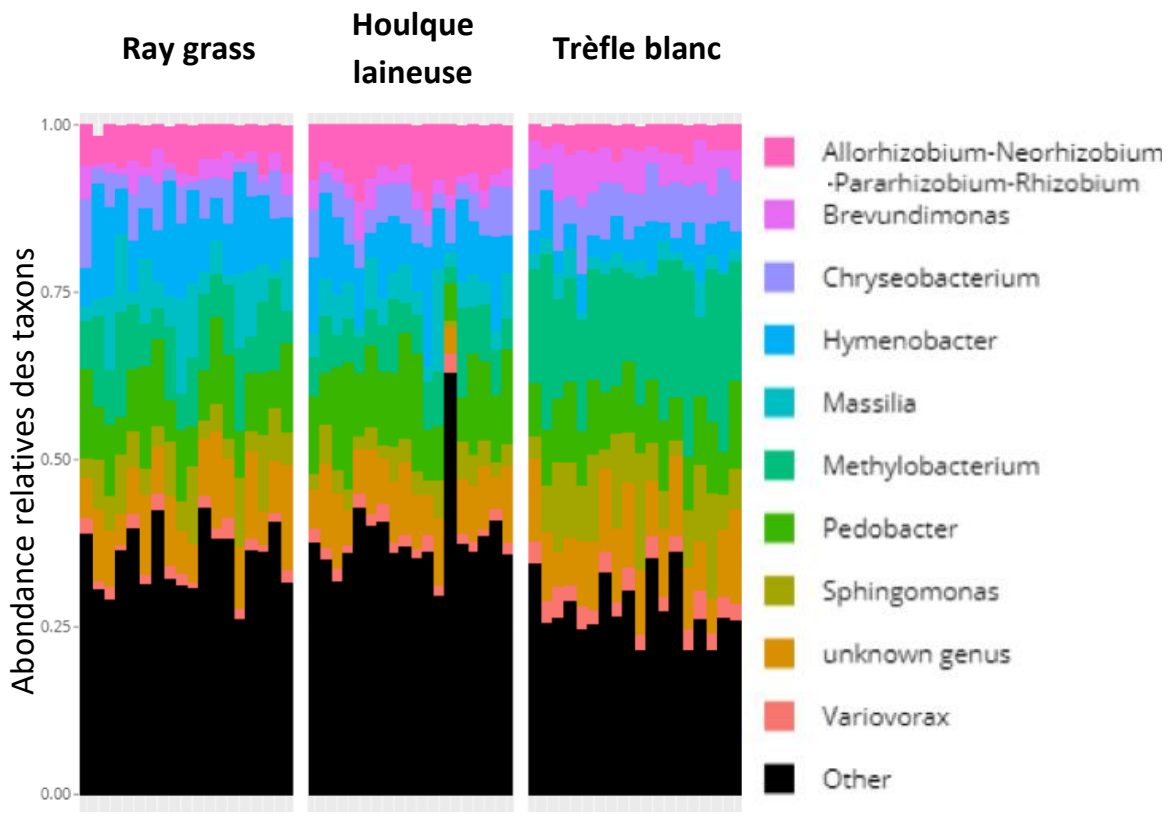
Dans la ferme…

Entre 10^{16} et 10^{18} microorganismes par km² de prairie



Dans la ferme…

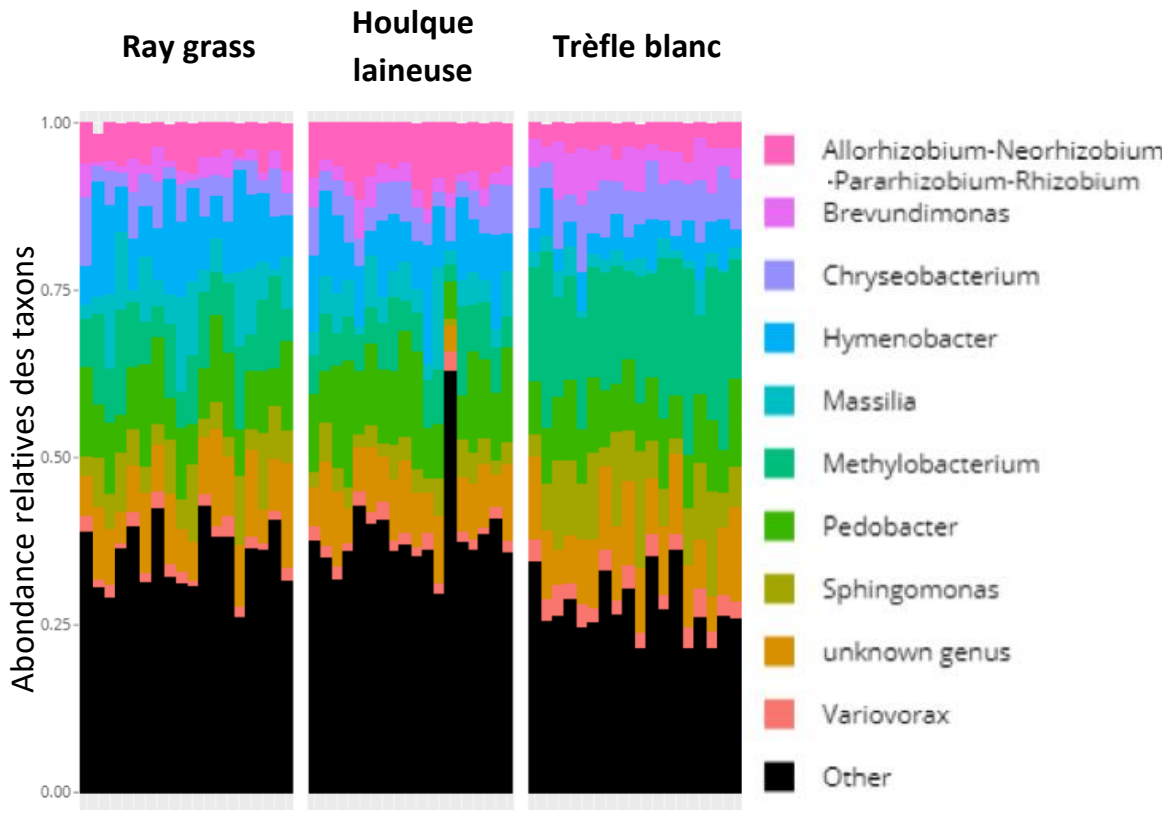
Les dix genres bactériens majoritaires sont les mêmes pour les trois plantes étudiées



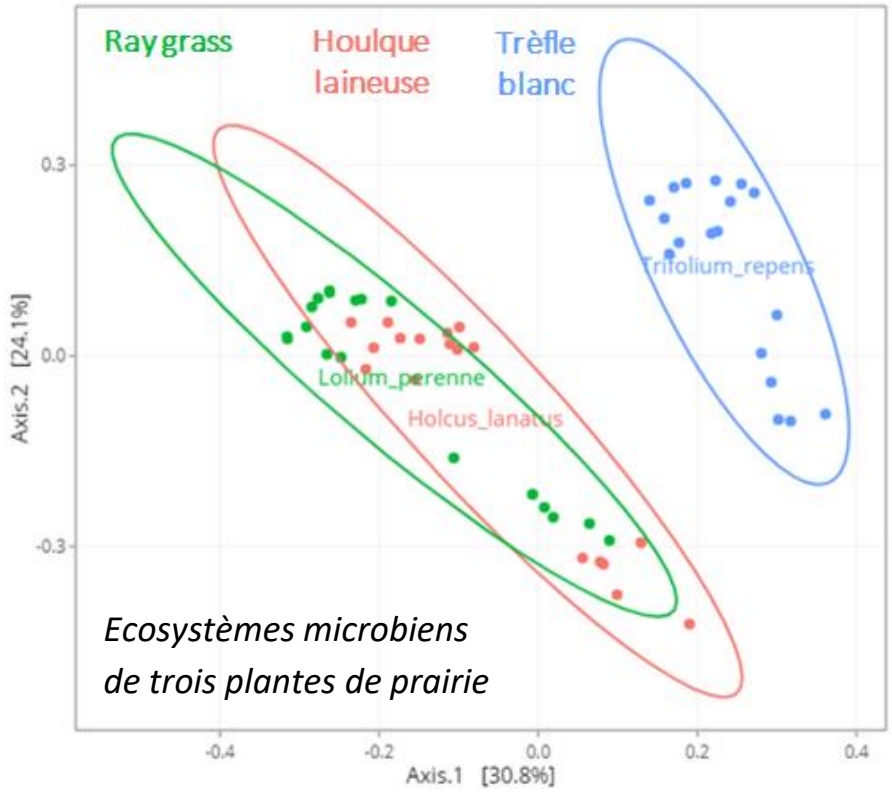
Dix genres majoritaires des écosystèmes microbiens observés sur trois plantes

Dans la ferme…

La diversité bactérienne des prairies dépend des espèces végétales présentes



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



Ecosystèmes microbiens de trois plantes de prairie

De la ferme au lait

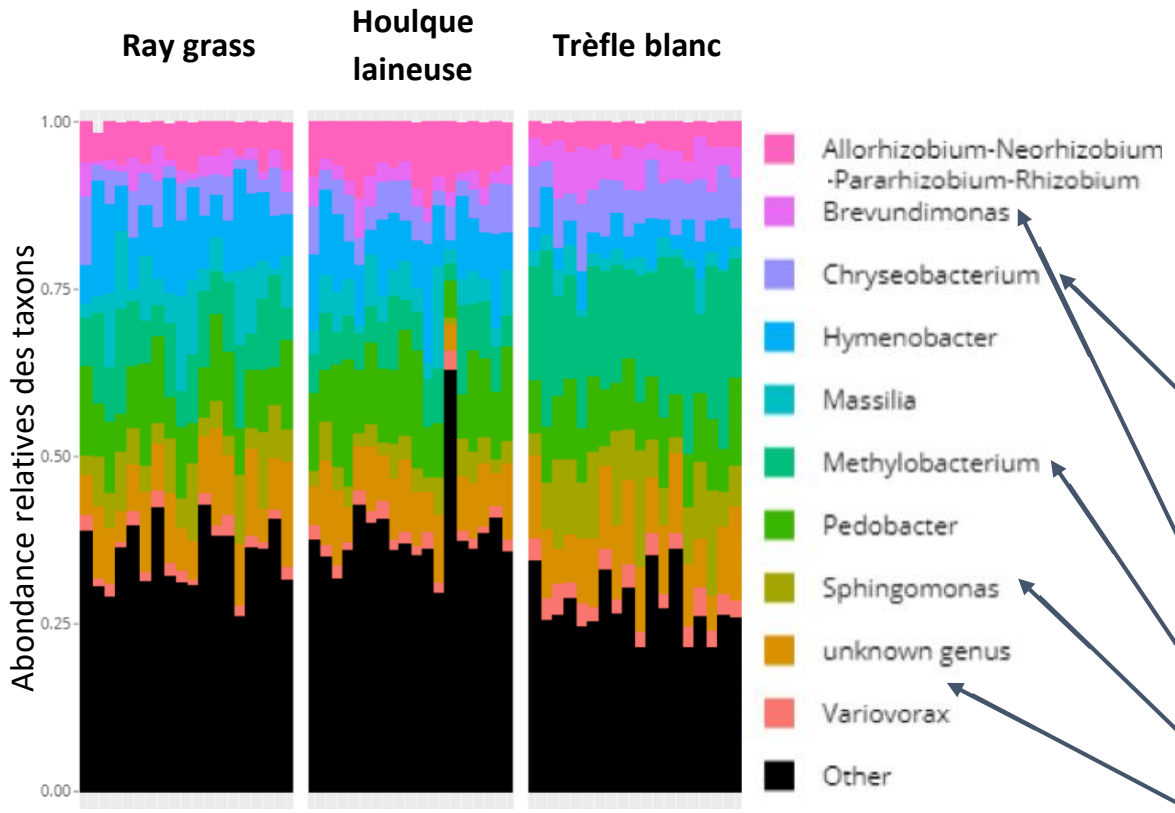
Ferme

Fromage

Lait

De la ferme au lait...

Comparaison des bactéries des prairies et du lait cru

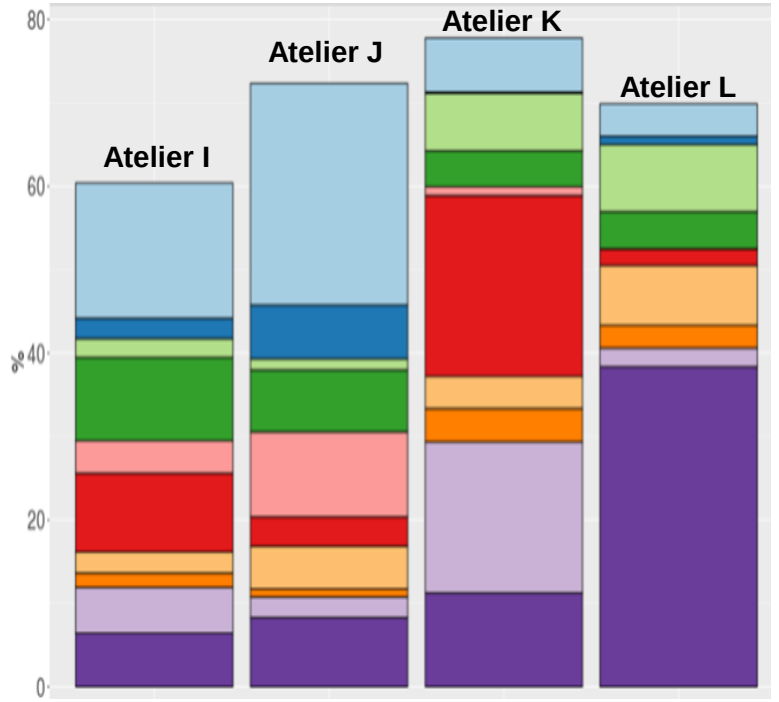


Dix genres majoritaires des écosystèmes microbiens observés sur trois plantes

Erasmo

2016 - 2017

Les échantillons de lait cru ont été prélevés dans 4 ateliers en été.

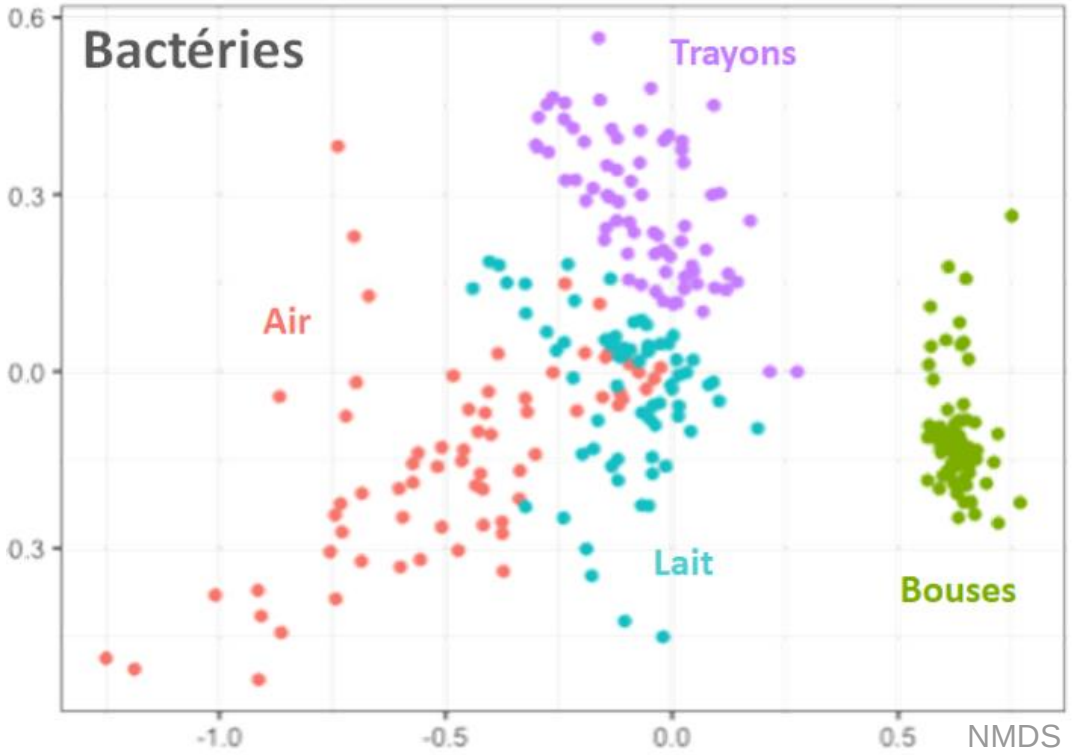


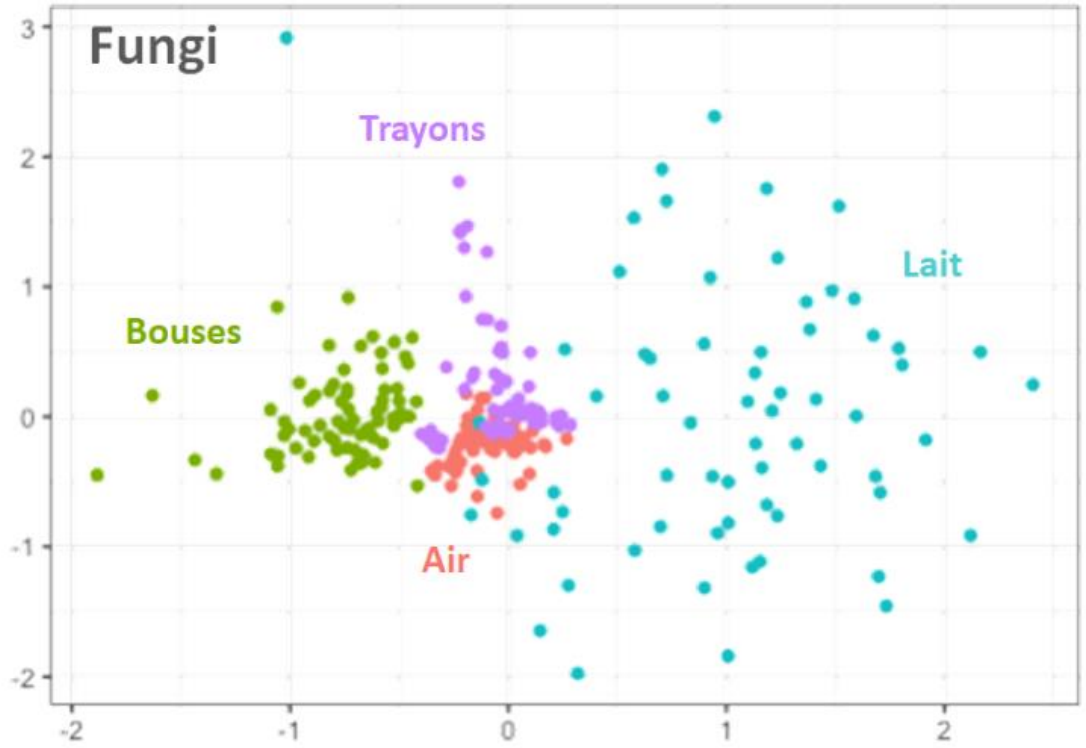
Dix genres majoritaires des écosystèmes microbiens observés dans le lait cru

Flores minoritaires

De la ferme au lait...

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.

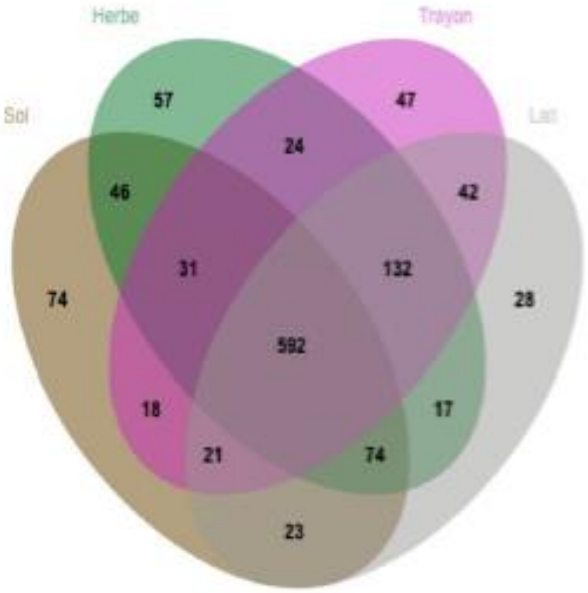
Prélèvements réalisés de janvier à mars 2018.

De la ferme au lait...

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

→ Notion de “réservoirs de flores”

Bactéries

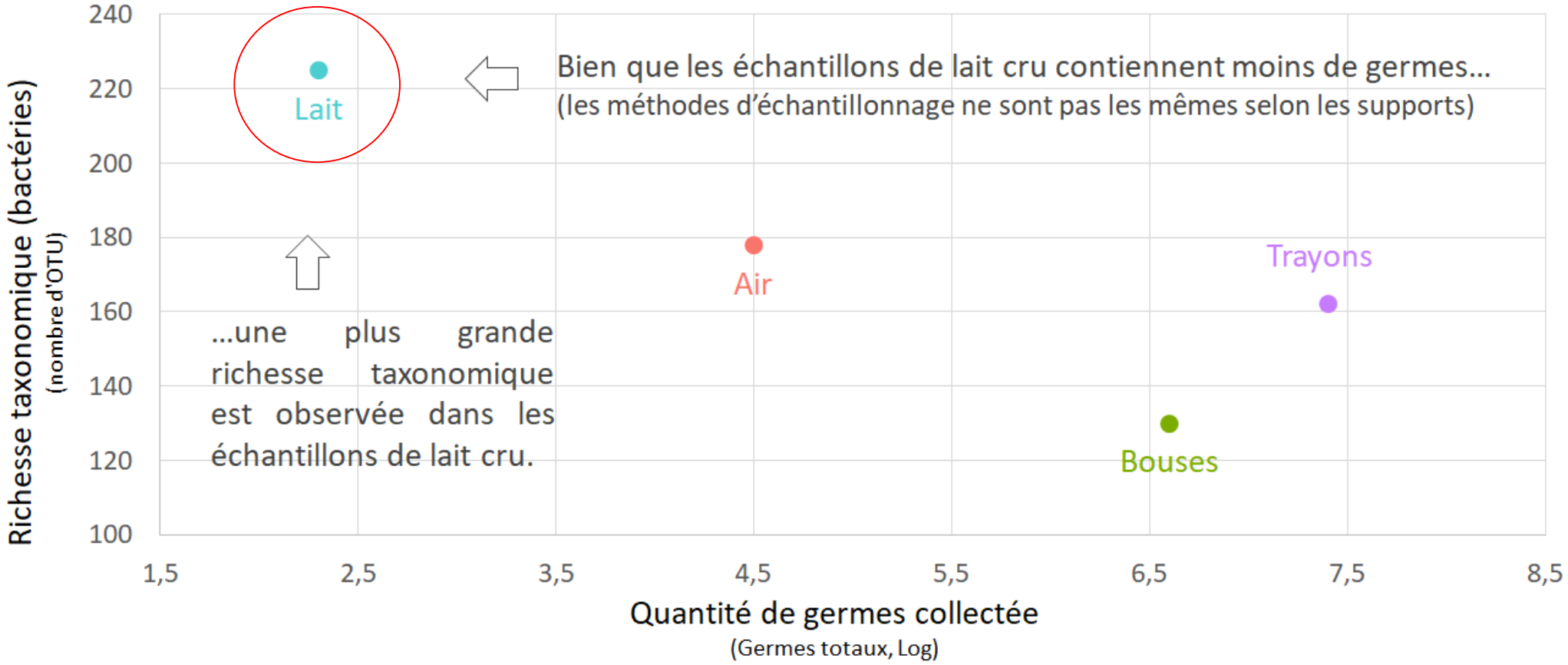


Fungi

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

De la ferme au lait...

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



De la ferme au lait...

2016 - 2018

"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...

Ferme

Fromage

Lait

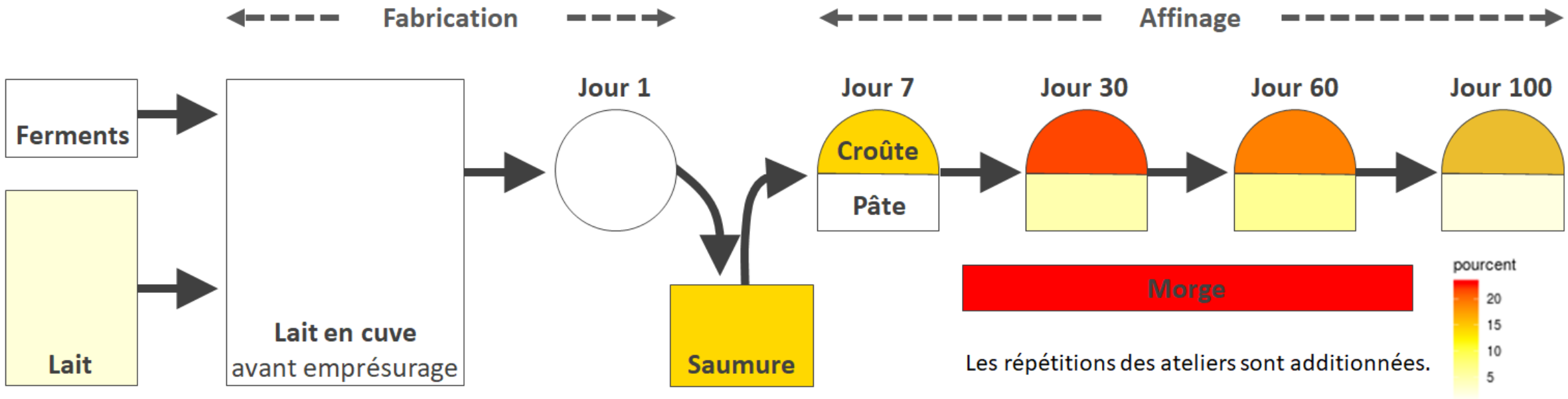
Du lait au fromage

Les microflores évoluent au cours de l'affinage

→ Les espèces présentes ne sont pas les même selon l'étape de fabrication

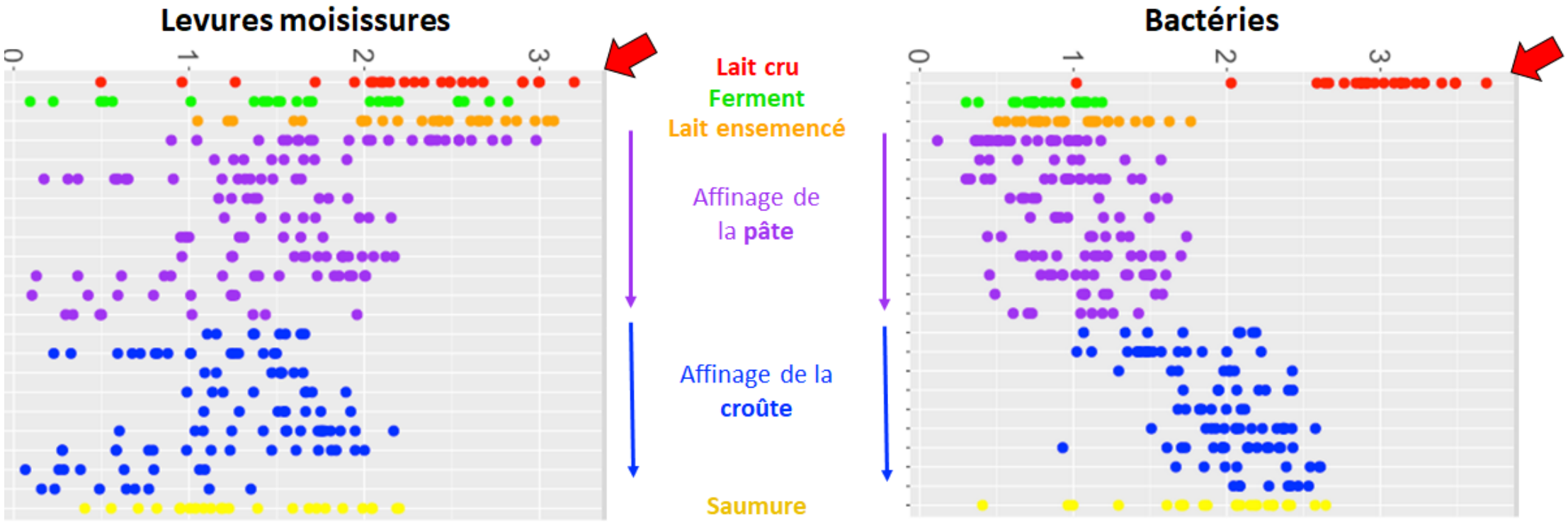
→ Les flores de la pâte et de la croûte peuvent être distinguées

Exemple : Les *Corynebaterium*



Du lait au fromage

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

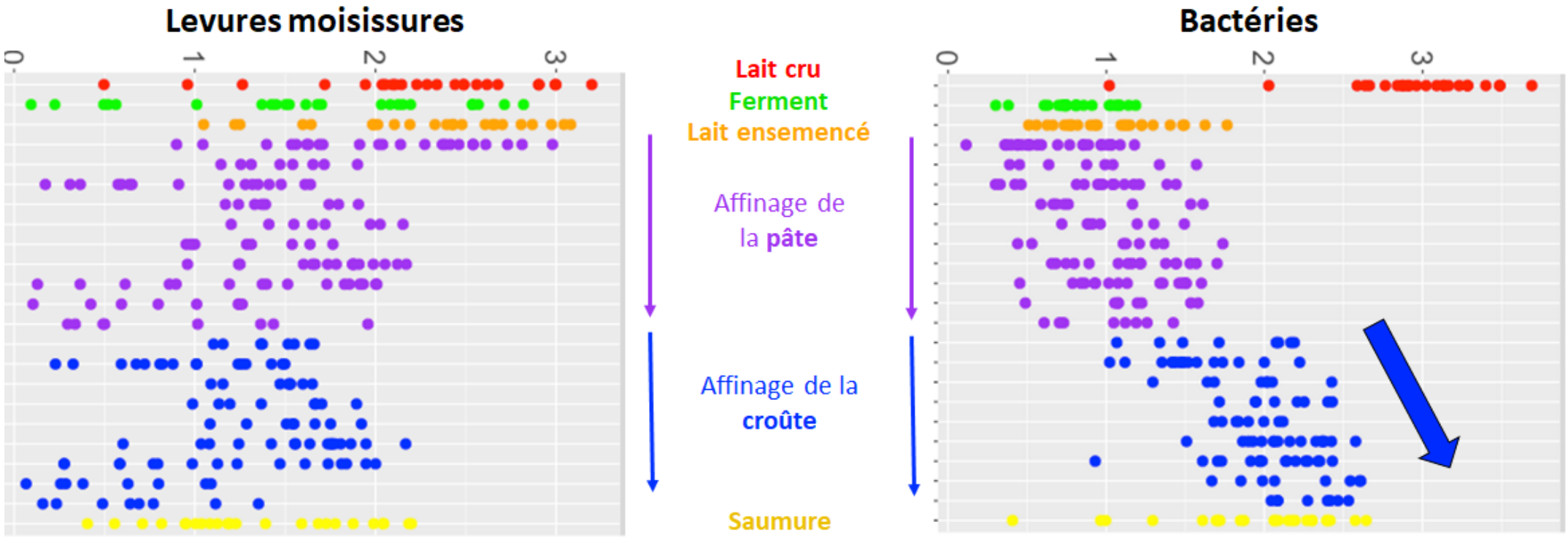


Biodiversité bactérienne ou fongique de tous les échantillons du projet ERASMO

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



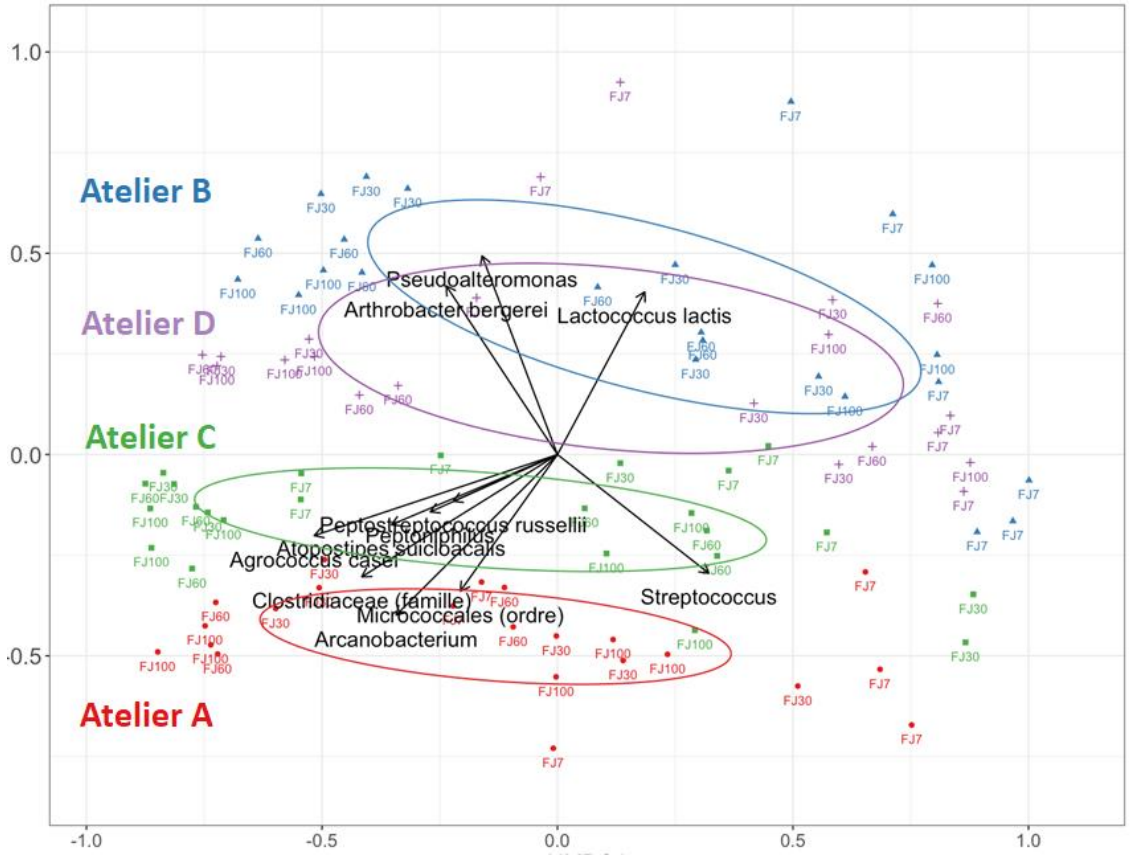
Biodiversité bactérienne ou fongique de tous les échantillons du projet ERASMO

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.

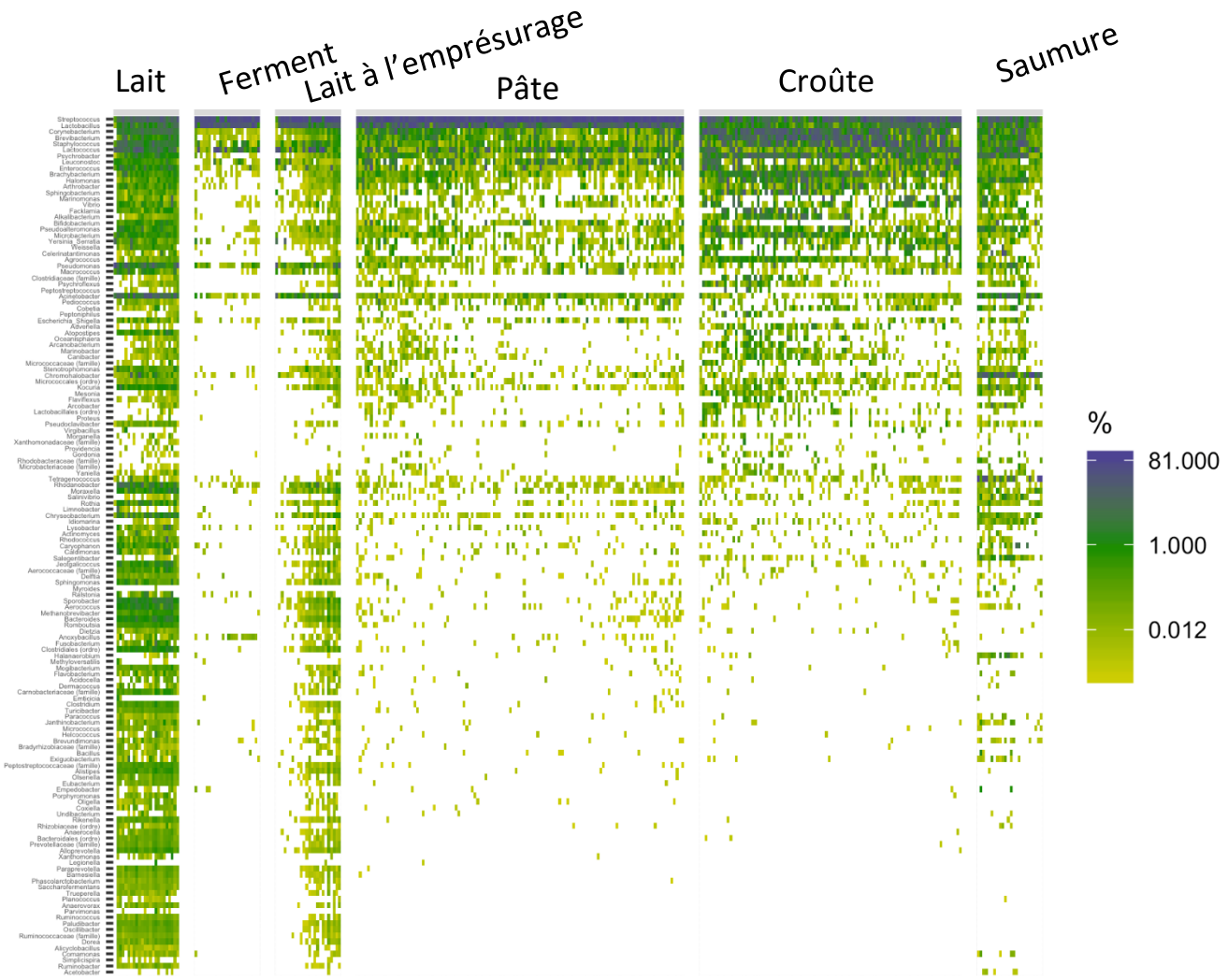


Représentation de la diversité entre échantillons selon les ateliers dans lesquels ils ont été prélevés (NMDS)

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

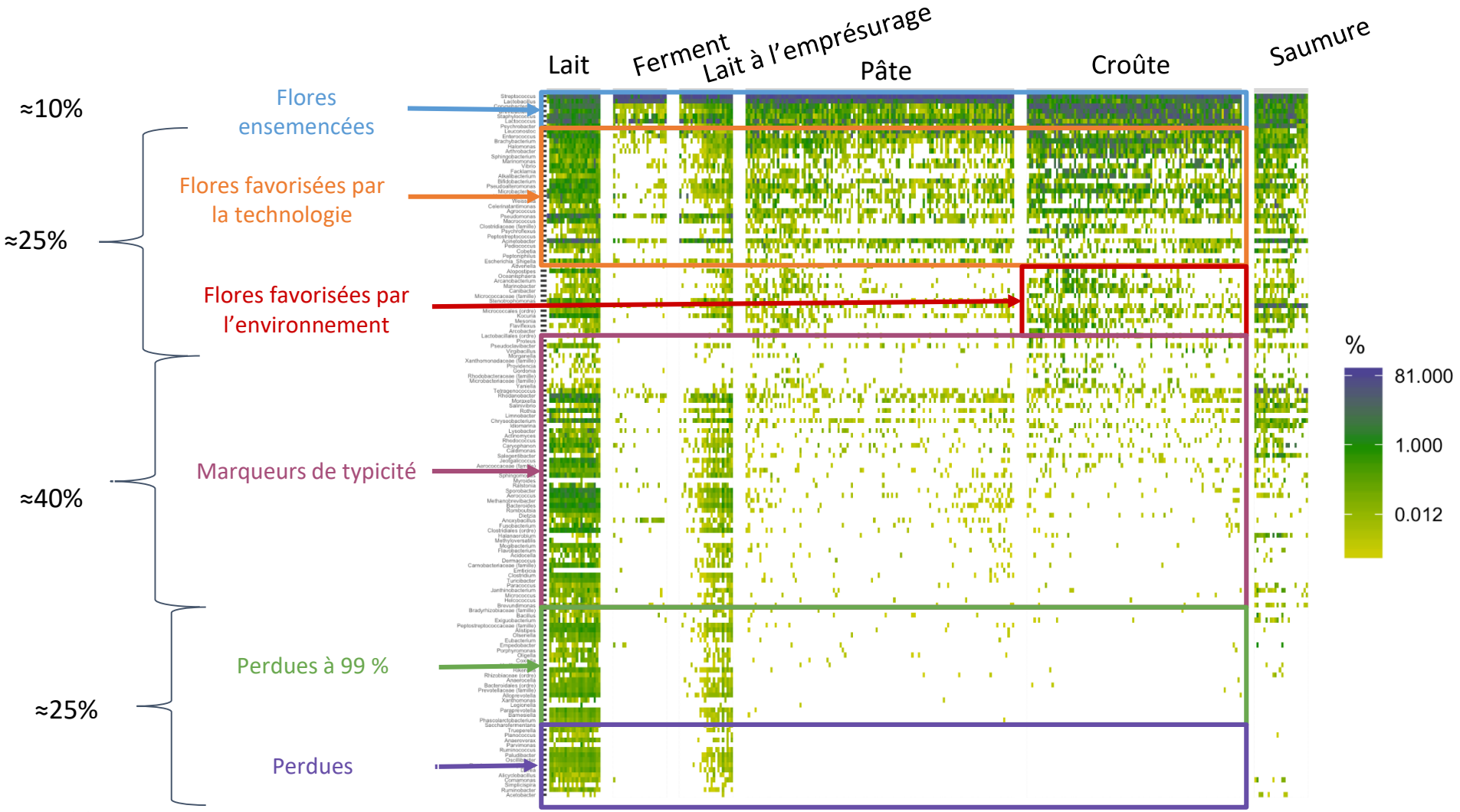
Du lait au fromage

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

Ferme

Fromage

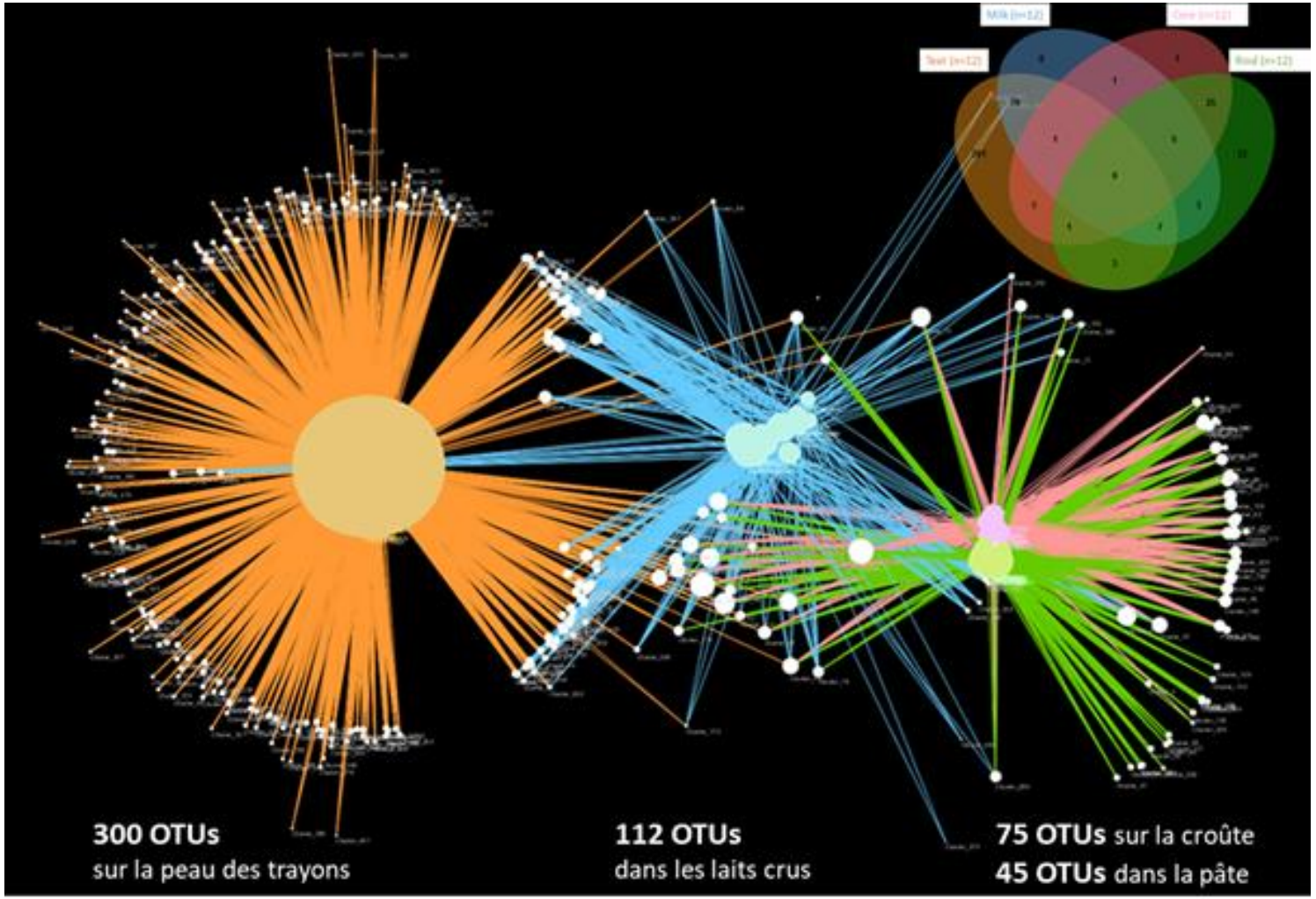
Lait

De la ferme au fromage

Thèse de Marie Fretin, INRA

soutenue en décembre 2016

Quels sont les réservoirs de biodiversité ?

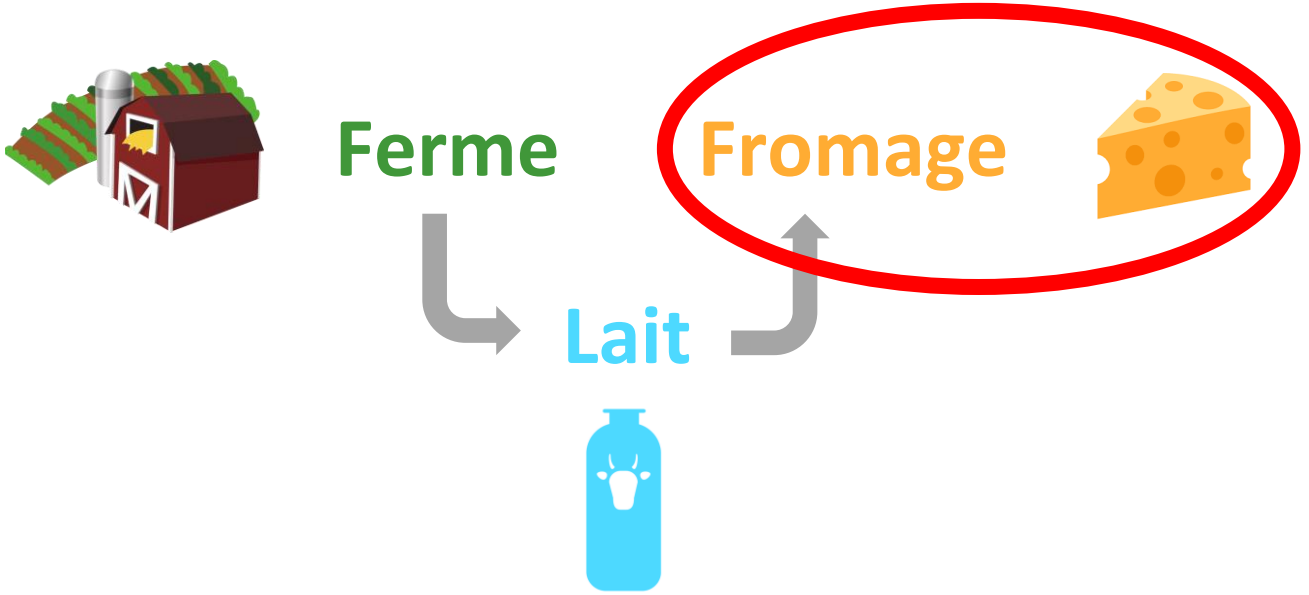


Représentation visuelle des 365 OTUs bactériens détectés sur la peau des trayons jusqu'au fromage affiné

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.

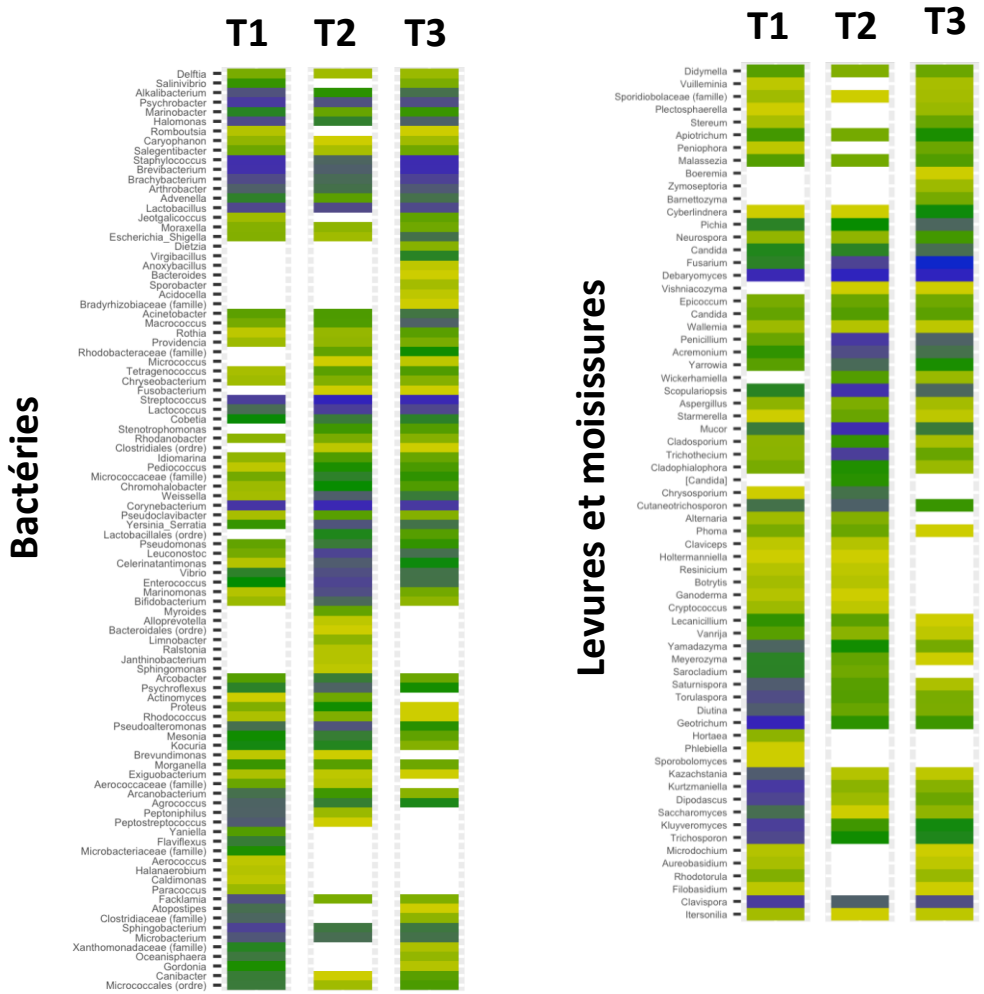
Thèse "Construction de la qualité sensorielle des fromages de type Cantal : rôle des interactions entre les communautés microbiennes et la composition de la matière grasse laitière des fromages", Marie Fretin, soutenue le 14 décembre 2016 (p.130)

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

Prairies

Ambiance de la cave

Saumure

Bouses

Ferme

Fromage

Morge

Pratiques

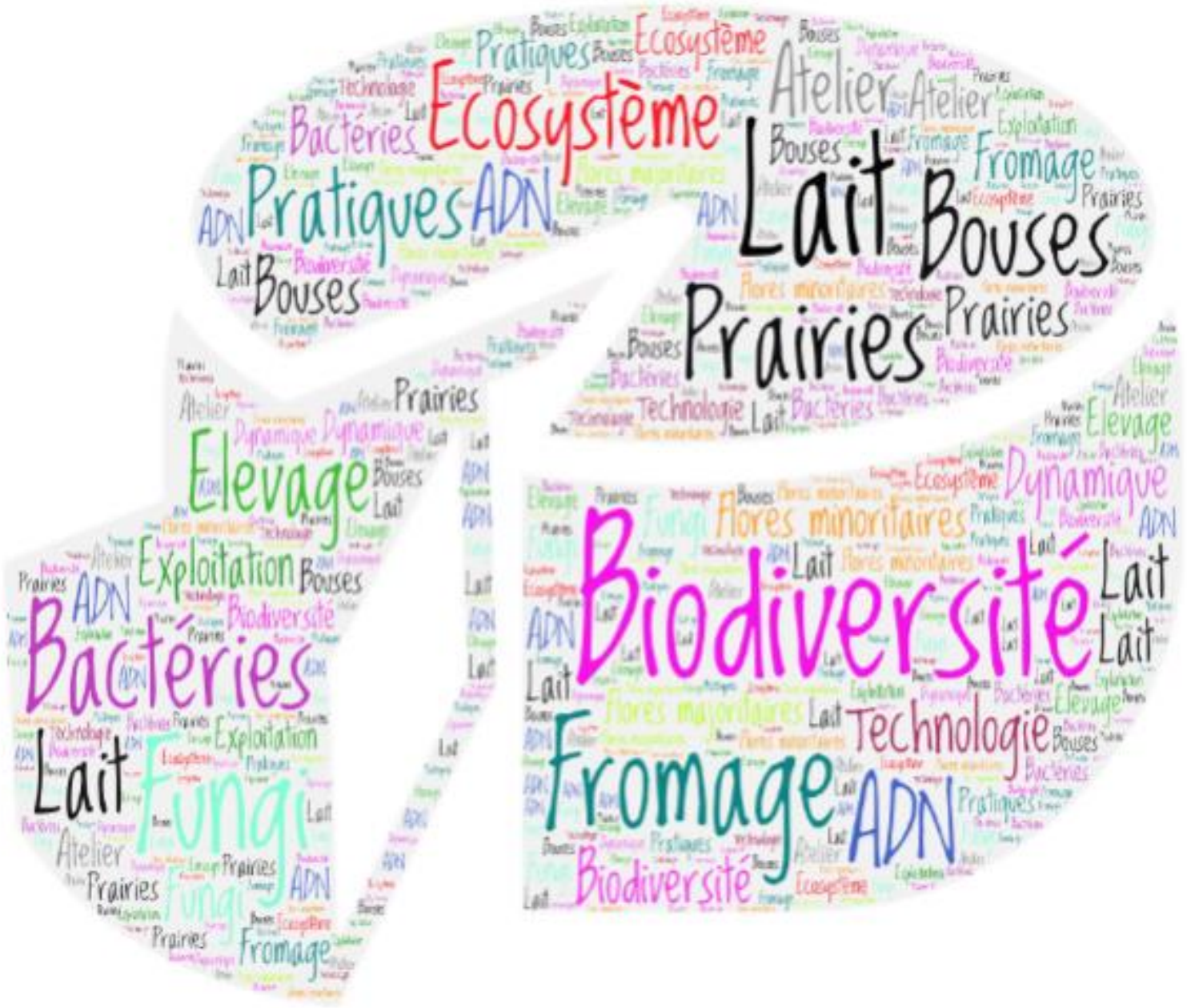
Lait

Ferments

Trayons

Ateliers

Conclusion


Ecosystème
Pratiques
Bactéries
ADN
Lait
Bouses
Prairies
Atelier
Fromage
Elevage
Exploitation
Fungi
Biodiversité
Technologie
Dynamique
Flores minoritaires
Flores majoritaires

Merci de votre attention !

Contacts :

Amont Saint-Nectaire - 2016-2018 — 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

MetaPDOCheese - 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