

La biodiversité des ferments au service de l'innovation alimentaire

► Jeudi 25 juin 2015



Les Ressources microbiennes au service de nos aliments : une richesse préservée et explorée dans le réseau CIRM. La diversité fonctionnelle explorée grâce au criblage à haut débit

Florence Valence

Anne Thierry

INRA, UMR 1253 STLO, F-35042 Rennes, France



Micro-organismes d'intérêt alimentaire :

- ▶ une richesse préservée et explorée dans le réseau CIRM



Les microorganismes 1^{ère} source de gènes



Bactéries : 13 000 espèces
une nomenclature reconnue



Champignons :
70 000 espèces décrites



Gestion appropriée
des ressources

Valeur économique en lien
avec le potentiel
d'innovation

... 90 % de la
diversité
microbiologique
reste à explorer

(Mora *et al.*, 2011)

Un cadre légal au niveau international pour préserver la biodiversité

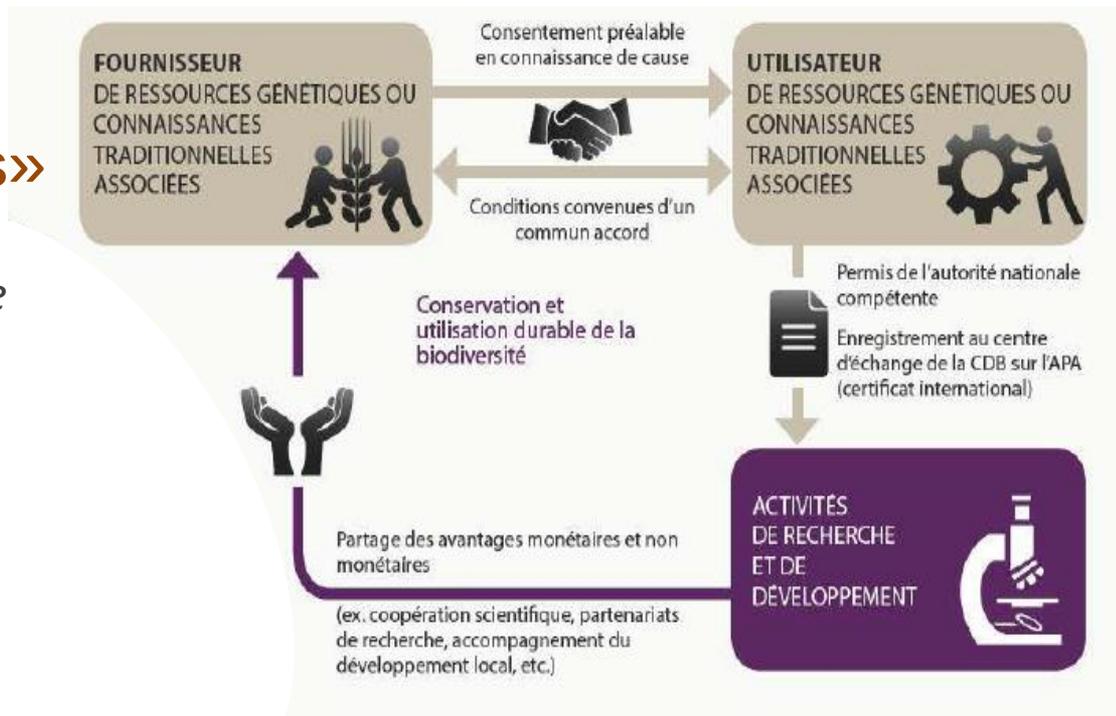


- Applicable à toute la biodiversité
 - Pour prélever / isoler les ressources
 - Pour les exploiter les ressources de manière « régulée »
-
- Convention de Rio 1992 : sur la **préservation de la biodiversité** (toutes les souches de microorganismes isolées à l'étranger après décembre 1993 ne sont pas « libres de droit »)
 - Protocole de Nagoya (2010-2014) sur **l'accès aux ressources et partage juste et équitables des avantages découlant de leur utilisation** : à termes 2 documents clés le **PIC** (autorisation préalable, accord du fournisseur) et le **MAT** (conditions du partage des avantages) seront nécessaires pour l'utilisation de ressources



Protocole de Nagoya et Collections «labéllisés»

Règlement européen → Vers « une demande de labellisation d'une collection et la déclaration de diligence nécessaire requise pour l'utilisation de ressources génétiques et de connaissances traditionnelles associées »



Les Centres de Ressources Biologiques

- **2002, OCDE : Instructions relatives aux bonnes pratiques des centres de ressources biologiques**

- Préserver la biodiversité
- Donner l'accès aux ressources
- Favoriser leur valorisation



- **Des exigences**

Qualité

« Les CRB doivent satisfaire à des critères élevés de qualité et d'expertise [...] ils devront mettre en place une dynamique volontaire de certification concernant le management de la qualité des CRB, s'appuyant sur des référentiels normatifs ou standardisés »

Recherche

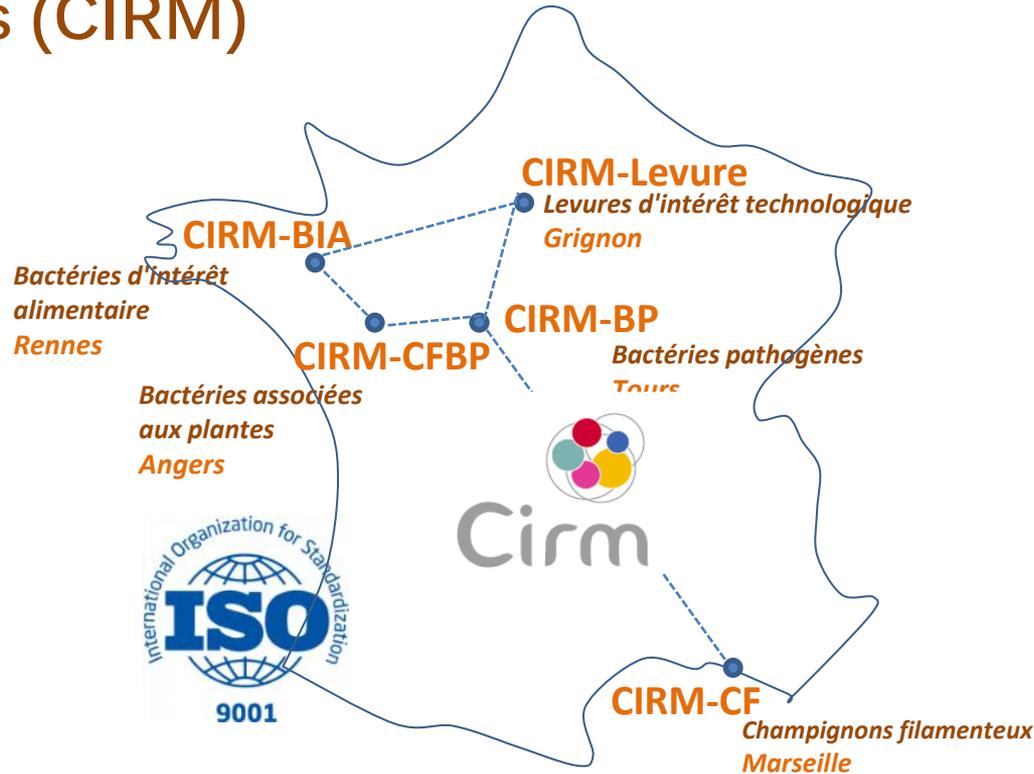
« les CRB doivent établir un équilibre entre activité R&D et les activités de services (conservation et mise à disposition) »

Traçabilité

« Les CRB doivent garantir la qualité et la cohérence de l'ensemble des données associées au MB...en garantissant la sécurité de l'information...la propriété intellectuelle et l'information des utilisateurs des ressources »

INRA 2005 : création du Centre International de Ressources Microbiennes (CIRM)

- 5 CRB microbiens thématiques organisés en réseau
- Outil collaboratif et transversal



Missions du CIRM



Programmes
de recherche

Prestations
de service

- Exploration et compréhension des mécanismes à l'origine de la biodiversité
- Génomique des populations
- Criblage de propriétés technologiques d'intérêt / pouvoir pathogène

- Typage moléculaire de souches
- Identification taxonomique
- Dépôt confidentiel de sécurité
- Construction d'hybrides par micromanipulation (levures)
- Criblage

20 000 souches dont 8 000 souches d'intérêt alimentaire (bactéries et levures)



Cirm

CIRM-BIA : Collection CNRZ, plus de 2500 souches de bactéries d'intérêt alimentaire isolées entre 1961 et 1999
Collection de bactéries propioniques et de bifidobactéries isolées entre 1990 et 2000



Très grande diversité géographique et de biotopes

CIRM-BP: Collection d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires Souches isolées de mammites bovines subcliniques

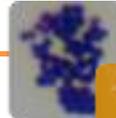
Collection CEUTM 56 genres et 166 espèces de souches isolées de l'animal, l'homme ou de l'environnement

CIRM-Levures : Souches de fromages français isolées avant l'utilisation massive des ferments
Levures cidricoles & œnologiques françaises



Milieux "extrêmes" Guyane, glaciers de l'Arctique

CIRM-CFBP : 6500 souches pathogènes de plantes & souches saprophytes, 1600 souches de 40^{aine}



Très grande diversité géographique

CIRM-CF : Plus de 1200 souches de champignons filamenteux d'intérêt biotechnologique *¼ régions tropicales*



Origines du matériel biologique



- ▶ Espèces sous représentées
- ▶ Programmes de recherche spécifiques
- ▶ biotopes ou origines géographiques (environnements extrêmes, biotopes spécifiques,....)



Un très grand nombre de souches pour chaque espèce

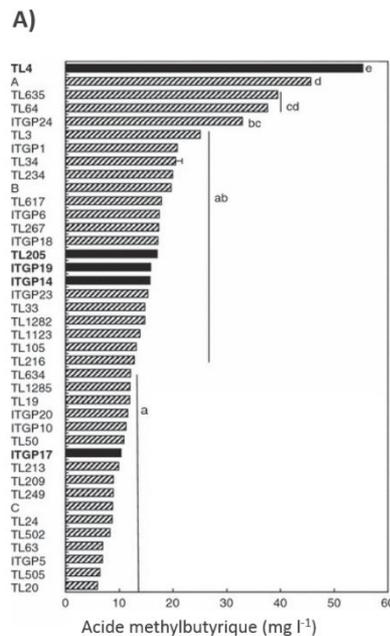
- La diversité fonctionnelle explorée grâce au criblage à haut débit



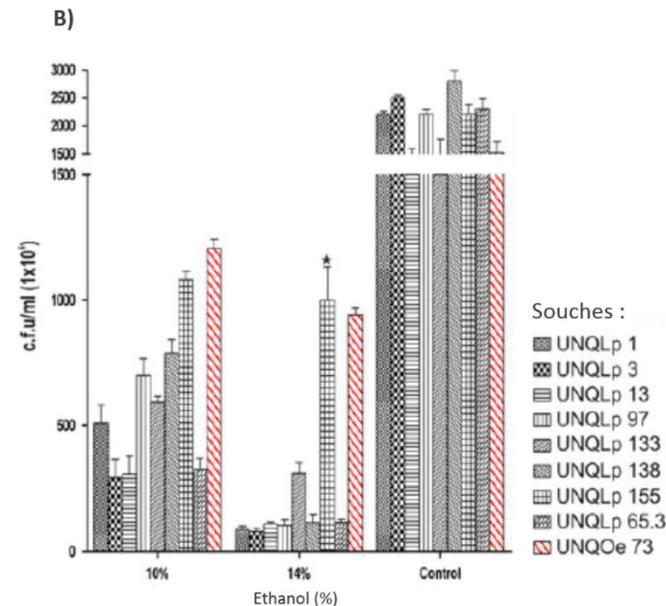
Souche dépendance des fonctionnalités

Capacité
de *P. freudenteichii* à produire un composé d'arôme de
l'emmental
Dherbécourt et al. 2008

- Dépendante de l'espèce
- Dépendante de la fonctionnalité visée (production d'EPS, d'arômes spécifiques, de bactériocine, capacité à croître sur certains substrats, à résister [sels], potentiel antifongique,...)



Capacité de *L. plantarum*
À croître en présence
d'éthanol
Bravo-Ferrada et al. 2013



Accéder à la diversité microbienne

- **Collections généralistes :**

Une très grande diversité de genre et d'espèces (CRBIP, DSMZ, CBS,...)

- **Collections spécialisées :**

Des collections thématiques centrées sur une application, une catégorie de microorganismes (CIRM)

Genre espèce	DSMZ	CRBIP	CBS	INRA & CIRM
<i>Lc. lactis</i>	8	12		121
<i>P. freudenreichii</i>	3	3		198
<i>L. sanfranciscensis</i>	2	2		> 200
<i>O. oeni</i>	3	3		NR
<i>Y. lipololytica</i>	6		20	120
<i>S. cerevisiae</i>	43		20	283

→ 2009 : 79% des nouvelles espèces décrites basées uniquement sur la souche type (*Stackebrandt 2010*)

Criblage haut débit et exploration de la diversité infraspécifique

Pharmacologie : de l'étude et l'identification de molécules aux propriétés nouvelles

Débit +++

Automatisation +++

Alimentation (ferments) : Criblage des souches pour leur aptitude à moduler les propriétés attendues du produit fini

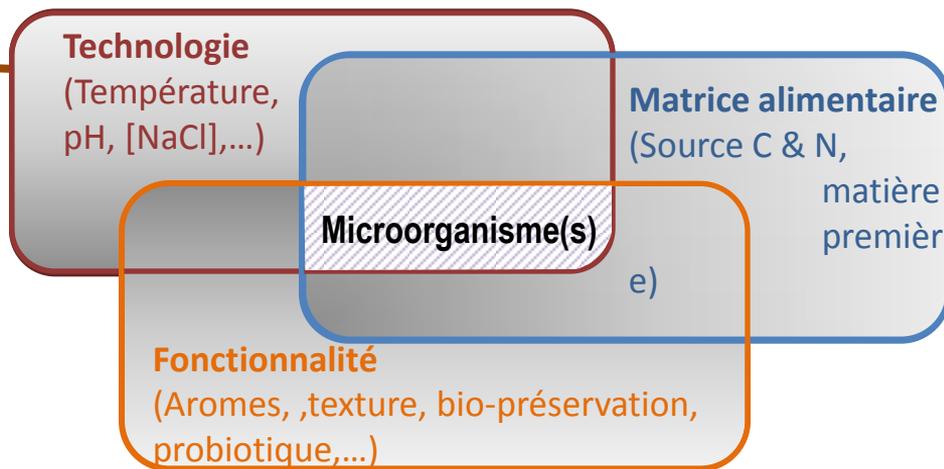
Débit +/- à +++

Automatisation +/- à +++



Comment cribler pour explorer la diversité fonctionnelle ?

- Quels microorganismes ?
- Quelle cible : gène, transcrit, enzyme, fonction ?
- Quel est l'environnement, le milieu, les levains associés ?
- Quelle est la fonctionnalité finale recherchée *in situ* ?
- Quelle est la disponibilité des ressources biologiques (diversité accessible) ?



Microorganisme(s) doué(s) de l'activité recherchée pour répondre à une fonctionnalité dans le cadre d'une technologie donnée pour une matrice alimentaire donnée

Approche de criblage ciblée vs non ciblée

Activité reposant sur la présence/absence d'un gène, le niveau d'expression d'un transcritt, d'activité d'une enzyme, de production d'un métabolite...

In silico,
in vitro,
(in situ)

Milieux optimal définis



Nombre de souches

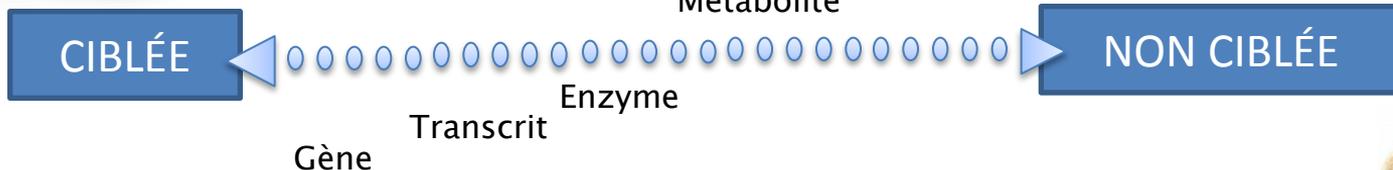
Liberté/Milieu

Facilité d'automatisation

La seule présence est une condition nécessaire mais pas suffisante. Nécessite que le phénotype s'exprime, activité multifactorielle

Milieux/matrice modèles complexes

Dispositif spécifique



Nombre de souches à cribler et rendement?

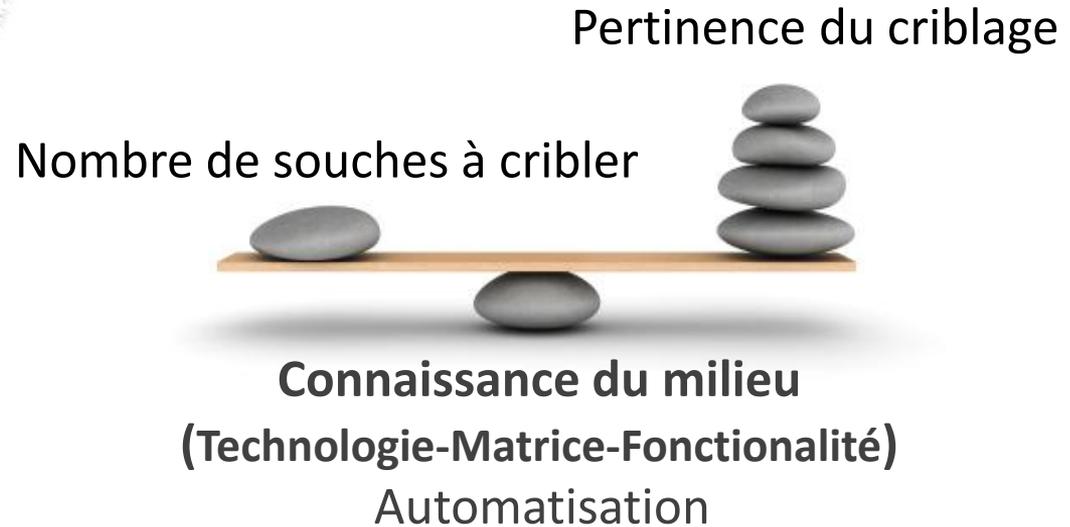
- Criblage d'activité antifongique (panification / technologie fromagère) **1200 souches** de bactéries lactiques criblées → **10 %** de souches présentant une activité notable contre *A. fumigatus* (*Magnusson et al., 2003*)
- Criblage de la capacité de **174 souches** isolées de céréales et de lait à produire des EPS → **6%** de souches d'intérêt (*van der Meulen et al., 2007*)
- Criblage de **504 souches** de bactéries lactiques pour une activité anti-Enterococcus → **13 %** de souches actives contre Enterococcus (*Inglin et al., 2015*)



Criblage haut débit des fonctionnalités et sélection des levains, pour conclure...



Des Centres de Ressources
biologiques «spécialisés»
Avec des collections ouvertes et
accessibles, adossées à une
expertise.



Pour contacter le CIRM

Coordinateur CIRM : Serge Casaregola
(<http://www6.inra.fr/cirm/>)

Food Associated Bacteria
INRA Rennes
Florence Valence
Tel.: 33 (0)2 23 48 70 32
cirm-bia@liste.inra.fr



CIRM-BIA

Plant Associated Bacteria
INRA Angers
Perrine Portier –
Tel.: 33 (0)2 41 22 57 19
Tel.: 33 (0)2 41 22 57 19
cfbp@angers.inra.fr



CIRM-CFBP

CIRM-BP



CIRM-Levure



Yeasts - INRA Grignon
Serge Casaregola
Tel.: 33 (0)1 30 81 52 94
www.inra.fr/cirmlevures



Pathogenic Bacteria - INRA Tours
Emmanuelle Helloin
Tel.: 33 (0)2 47 42 78 80
cirm_bp@tours.inra.fr



Filamentous Fungi - INRA Marseille
Anne Favel
Tel. : 33 (0)4 91 82 86 12
anne.favel@univ-amu.fr

CIRM-CF

Merci de votre attention

