

➤ Diversité botanique et bactérienne des prairies: quel lien avec la qualité sensorielle des fromages au lait cru de type Cantal ?

Elisa Manzocchi^{1,2*}, Bruno Martin², Cécile Bord¹, Matthieu Bouchon³, Joël Bérard⁴, Mauro Coppa^{2#},
Céline Delbès¹, et Isabelle Verdier-Metz¹

¹Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR Fromage, Aurillac, France

²Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR Herbivores, Saint-Genès-Champanelle, France

³INRAE, UE Herbipôle, Marcenat, France

⁴ Systèmes de Productions Animaux et Santé Animale, Agroscope, Posieux, Suisse

*Adresse actuelle: Nutrition et émissions des ruminants, Agroscope, Posieux, Suisse

#Adresse actuelle: Dipartimento Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università di Torino, Torino, Italie



➤ Contexte

- Influence de la composition botanique des prairies sur les caractéristiques sensorielles des fromages au lait cru:
 - Couleur du fromage ← caroténoïdes (Nozière *et al.*, 2006)
 - Texture du fromage ← profil des acides gras du lait (rapport AGMI:AGS) (Coppa *et al.*, 2011)
 - Odeurs et arômes ← ???
- Microbiote du lait et du fromage joue un rôle majeur dans la formation des arômes du fromage
- Microbiote du lait et du fromage est fortement influencé par les pratiques de traite, mais l'environnement de l'exploitation et le système de pâturage l'influencent également (Verdier-Metz *et al.*, 2012; Frétin *et al.*, 2018)

Quels sont les effets de la diversité botanique des pâturages sur l'assemblage des communautés bactériennes tout au long de la chaîne de production du fromage au lait cru et sur ses caractéristiques sensorielles ?



➤ Dispositif expérimental

- Ferme expérimentale INRAE Herbipôle, Marcenat, 1'100 m, Massif Central
- Deux systèmes contrastés, sur deux prairies adjacentes :
 - 1 mois sur les parcelles de pâturage respectives
 - Pâturage intégrale - aucun aliment concentré



Pâturage à haute biodiversité (HD)

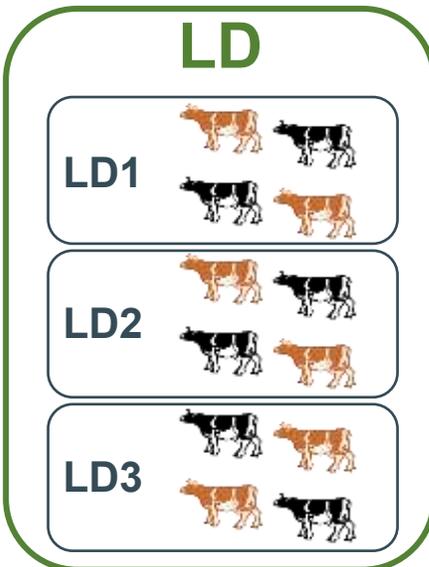
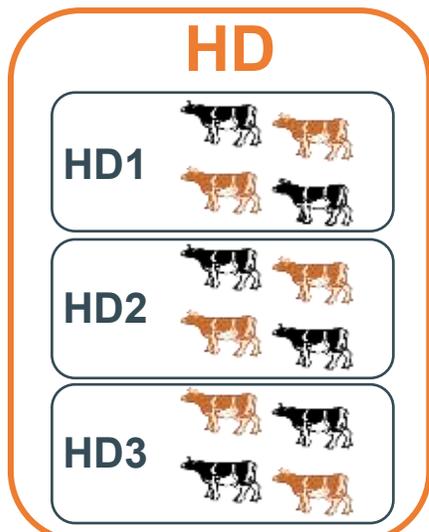
- Prairie permanente
- 74 espèces botaniques relevées
- Indice de diversité de Shannon: **H' 312**



Pâturage à faible biodiversité (LD)

- Ancienne prairie temporaire
- 31 espèces botaniques relevées
- Indice de diversité de Shannon: **H' 219**

Plan d'essai



Sem. 1 Sem. 2 Sem. 3



Atout
Vraie réplication
des traitements

Sous-lots

- 4 vaches chacun (2 Montbéliarde, 2 PrimHolstein)
- Équilibrés en fonction de:
 - Stade de lactation
 - Production laitière
 - Taux butyreux et protéique

Modèle de fromage

- Lait cru, type Cantal
- Lait de la traite du matin
- Ferments lactiques et d'affinage Cantal
- Fabrication simultanée/lot/jour
- 12 semaines d'affinage
- Poids: ~500 g/fromage

➤ Metabarcoding des communautés bactériennes le long de la chaîne de production des fromages

Bouchées simulées



Lait



Croûte des fromages



Pâte des fromages



Pour chacun des compartiments:

➔ **Nombre de variants de séquences d'amplicon (ASV)** (= séquences d'ADN individuelles et uniques)

➔ Identification des bactéries au niveau du genre

➔ **Calcul de l'indice de diversité de Shannon**

Échantillonnage

Extraction de l'ADN

Amplification de l'ADNr 16S

Séquençage de l'ADN à haut débit (Illumina MiSeq)

Traitement des données:
Package rANOMALY
(Theil et Rifa, 2021)

ASV

➤ Évaluation des profils sensoriels des fromages

- 10 experts formés
- 1 séance d'évaluation par fabrication, 6 séances
- présentation monadique séquentielle
- 25 descripteurs sensoriels évalués sur une échelle non structurée:



- Lexique:

Aspect et texture	Odeurs	Saveurs et arômes
Couleur de la pâte Exsudat de gras	Fruits secs Lactique Animal	Acide/Amère/Salée Fruits secs Végétal
Fermeté au toucher Fermeté en bouche Fondant	Ensilage	Lactique Animal Piquant Persistance globale



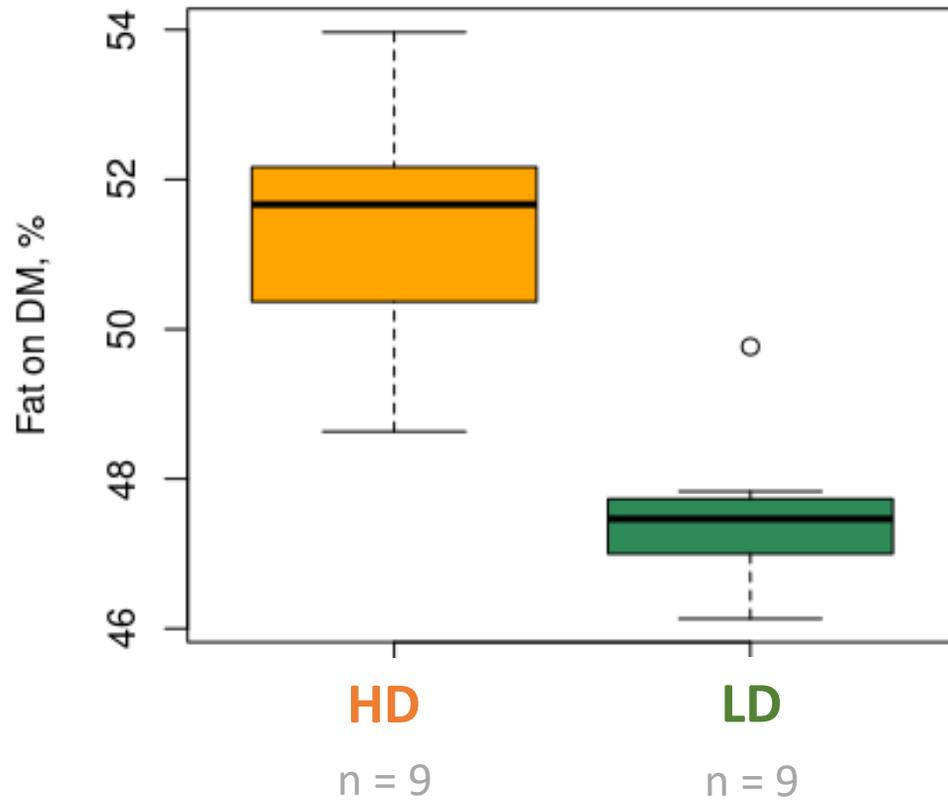
Laboratoire d'évaluation sensorielle, VetAgro Sup

- **Analyse des données:** modèles linéaires mixtes (procédure 'mixed' de SAS) avec séance d'évaluation et expert comme effets aléatoires

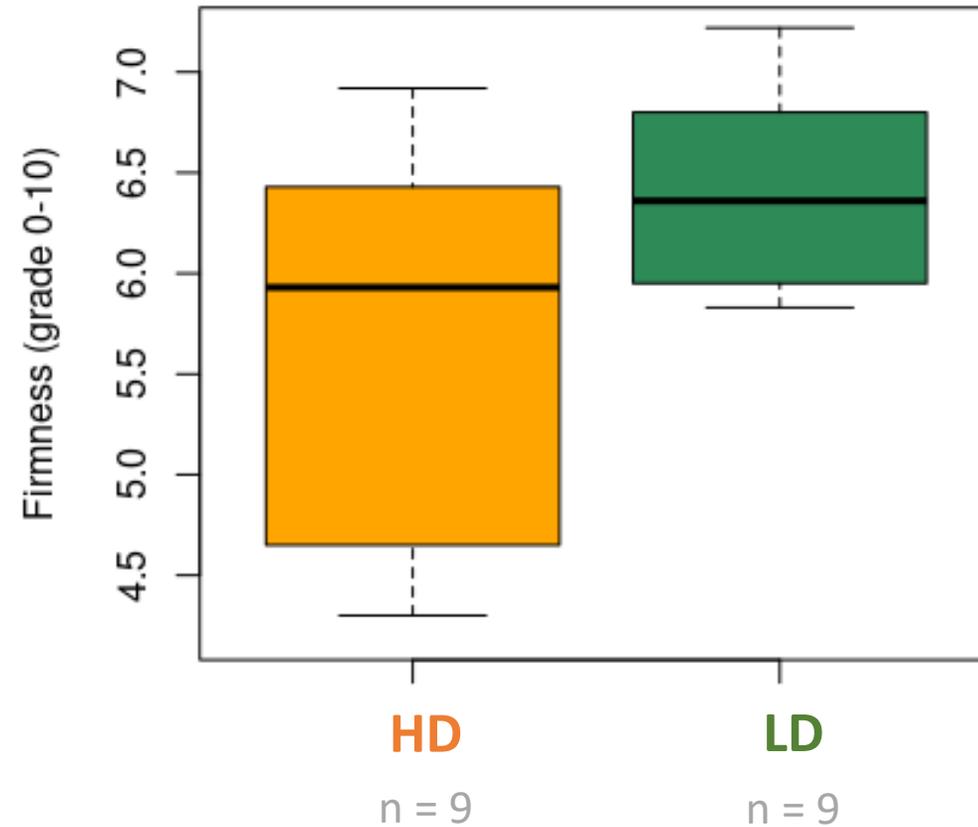
Texture des fromages HD et LD



Gras sur sec
($P < 0.001$)



Fermeté
($P = 0.092$)

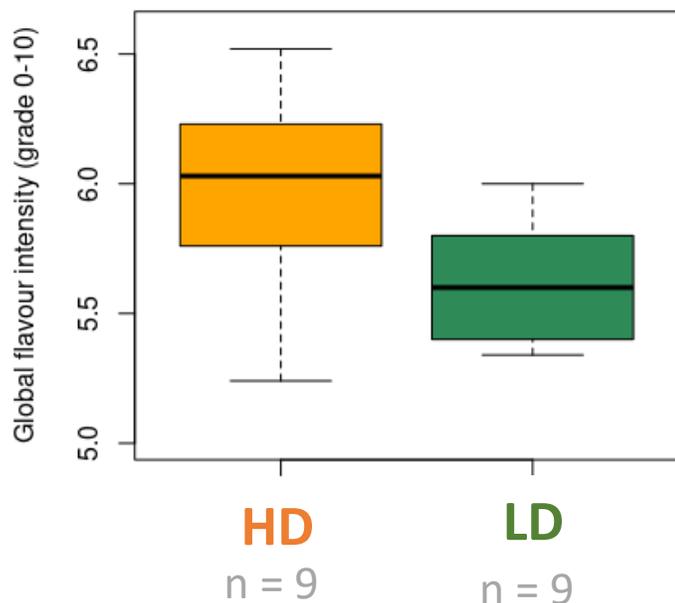


Manzocchi *et al.* (2022)

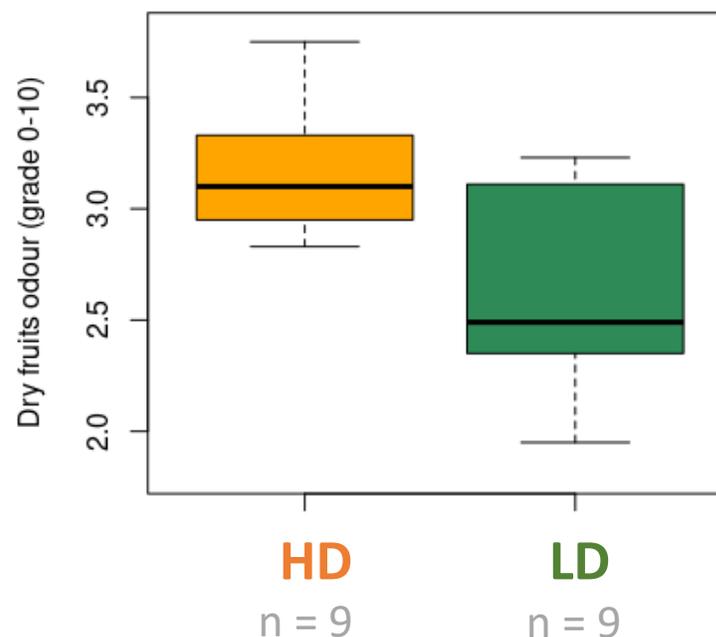
➤ Caractéristiques sensorielles des fromages HD et LD



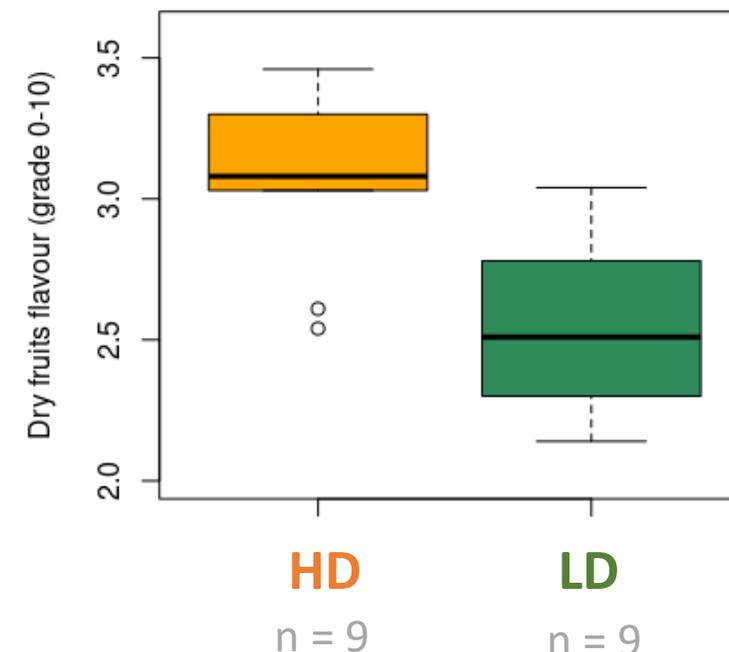
Arôme globale
($P = 0.128$)



Odeur de fruits secs
($P = 0.038$)



Arôme de fruits secs
($P = 0.004$)

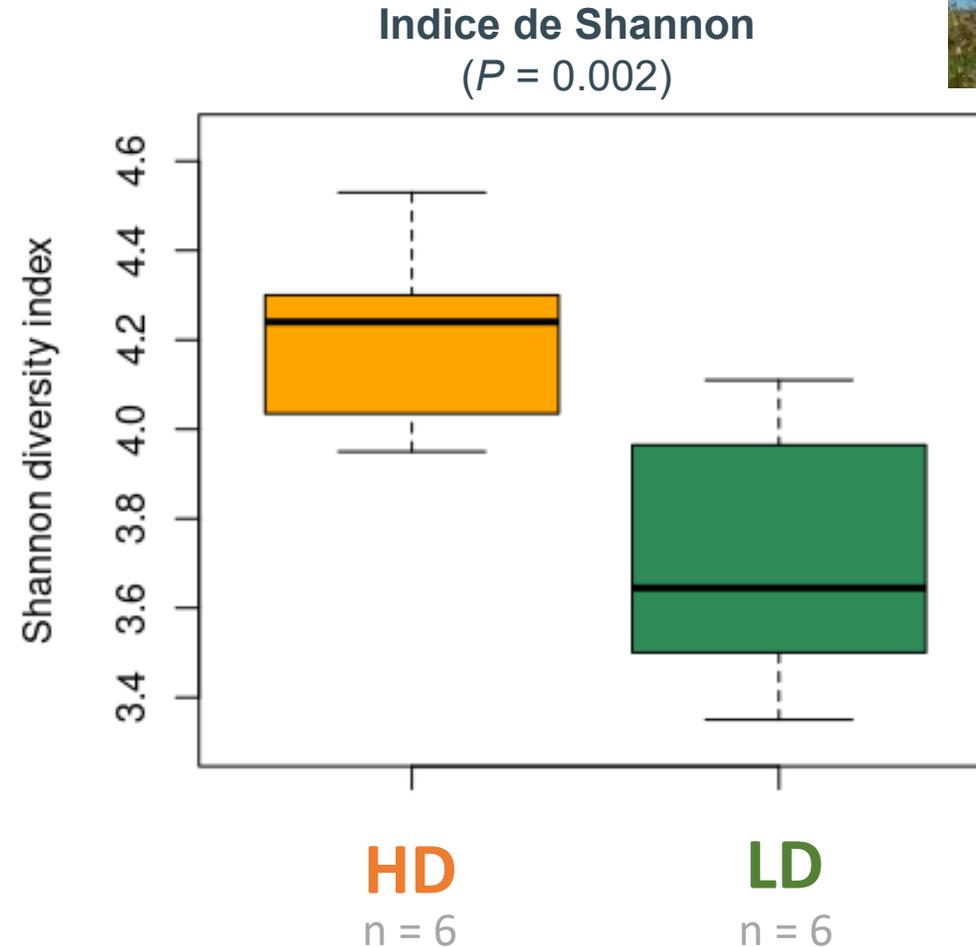
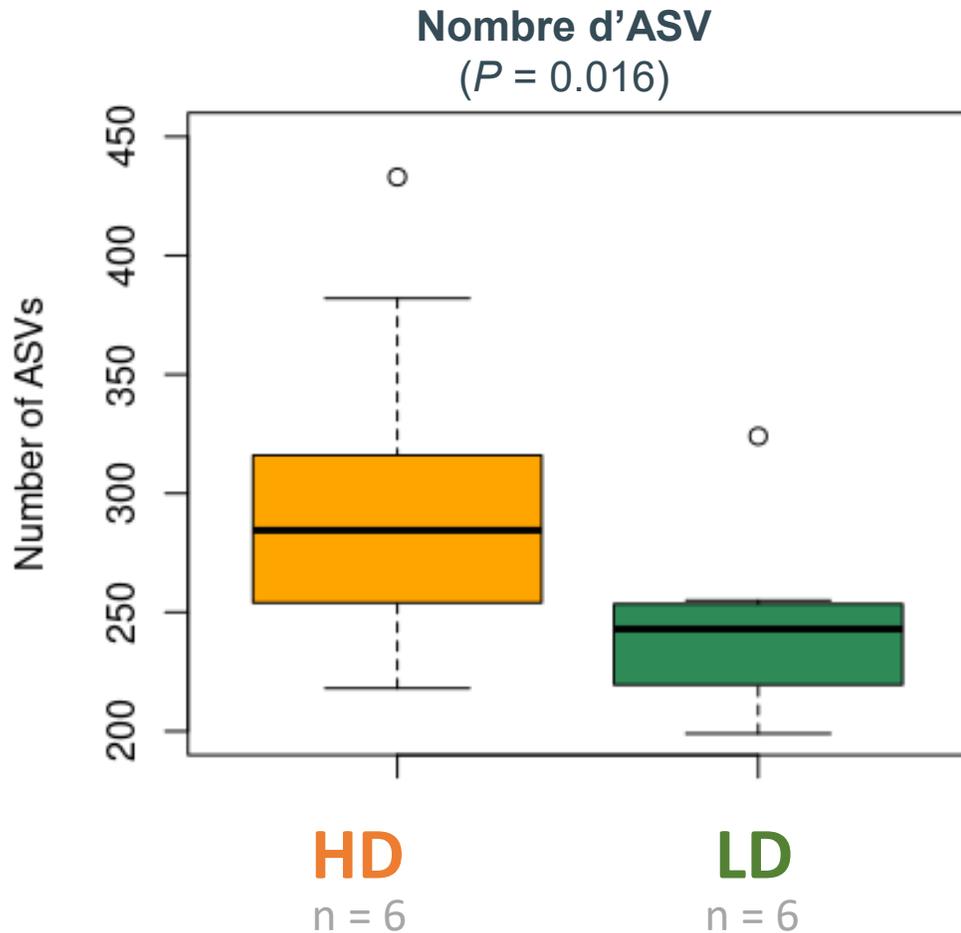


- Aucune différence significative des autres descripteurs sensoriels entre fromages issus de HD ou LD

Manzocchi *et al.* (2022)



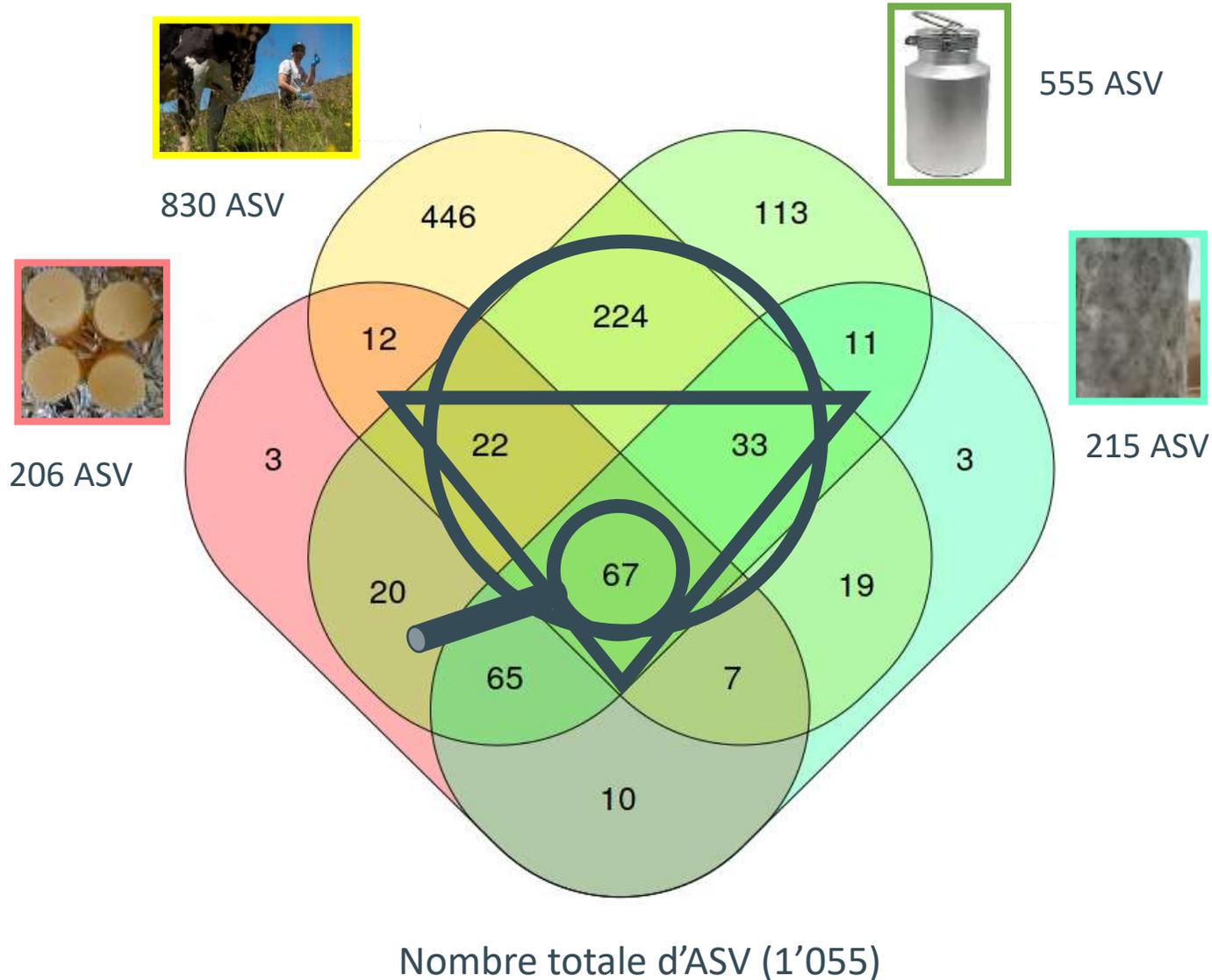
Un nombre et une diversité des ASV bactériens différents dans les bouchées simulées



- Le nombre total d'ASV et l'indice de Shannon ne diffèrent pas dans le lait, la pâte et la croûte du fromage des deux pâturage **HD** et **LD**

Manzocchi *et al.* (2022)

➤ Les communautés bactériennes partagent des ASV communs



- **62%** des ASV trouvés dans le lait sont partagés avec les bouchées simulées
- **46%** des ASV trouvés dans les fromages (croûte + pâte) sont partagés avec le lait et les bouchées simulées

Manzocchi *et al.* (2022)

➤ Parmi les 67 ASV partagés par toutes les communautés bactériennes...



ASV spécifiques au pâturage très diversifiés **HD**

ASV trouvés dans **HD** ou **LD**

Les ASV les plus abondants, communs à **HD** et à **LD**...

ASV name	Relative abundance in bacterial community (%)				Species
	Simulated bites	Milk	Cheese core	Cheese rind	
2535950da4f5ce2e05509946880e1912	0.20	5.94	93.03	49.40	<i>Lactococcus lactis</i>
4b7d82b0d94caafd265a16ec66ded57e	0.005	0.004	0.008	17.31	<i>Brachybacterium sp.</i>
17dfc19d75554282393e010d9c051027	0.018	0.0009	0.0061	8.20	<i>Brevibacterium aurantiacum</i>



Rôle reconnu dans l'affinage des fromages

➤ Conclusions

- Les fromages de type Cantal **HD** et **LD** se distinguent principalement par l'odeur et l'arôme de "fruits secs" ainsi que par leur fermeté
 - 46% des ASV trouvés dans les fromages (pâte et croûte) sont communs aux communautés des compartiments «lait» et «bouchées simulées»
 - Certains genres identifiés dans tout les compartiments ont un rôle reconnu dans l'affinage des fromages
 - Certains ASV sont spécifiques au type de pâture **HD** ou **LD**
- ➔ **La sélection et l'enrichissement des ressources bactériennes commencent dans les prairies et se poursuivent tout au long de la fabrication du fromage au lait cru**



Perspectives

- Analyses d'autres communautés microbiennes d'intérêt pour les fromages levures et moisissures en cours

➤ **Merci pour votre attention!**



Financements:

- INRAE Appel à projet MICA 2019
- Initiative IDEX-ISITE du Gouvernement français 16-IDEX-0001 (CAP 20-25)
- Accès transnational aux infrastructures de recherche dans le cadre du programme H2020 de la Commission européenne (Projet SmartCow, no. 730924)
- ETH Zürich (Prof. em. Dr. Kreuzer) et Schaumann Stiftung Hannover

Contacts: Elisa Manzocchi – elisa.manzocchi@agroscope.admin.ch

Isabelle Verdier-Metz – isabelle.verdier-metz@inrae.fr

➤ References

- Behrendt U., Müller T., and Seyfarth, W. (1997). The influence of extensification in grassland management on the populations of micro-organisms in the phyllosphere of grasses. *Microbiological Research* 152, 75–85.
- Coppa M., Feraly A., Monsallier F., Verdier-Metz I., Pradel P., Didienne R., Farruggia A., Montel M.C., Martin B. (2011). Milk fatty acid composition and cheese texture and appearance from cows fed hay or different grazing systems on upland pastures. *Journal of Dairy Science* 94, 1132–1145.
- Frétin M., Martin B., Rifa E., Verdier-Metz I., Pomiès D., Ferlay A., ... Delbès C. (2018). Bacterial community assembly from cow teat skin to ripened cheeses is influenced by grazing system. *Scientific Reports* 8, 200.
- Manzacchi E., Martin B., Bord C., Verdier-Metz I., Bouchon M., De Marchi M., ... Coppa M. (2021). Feeding cows with hay, silage, or fresh herbage on pasture or indoor affects sensory properties and chemical composition of milk and cheese. *Journal of Dairy Science* 104, 5285–5302.
- Manzacchi E., Martin B., Bord C., Bouchon M., Bérard J., Coppa M., Delbès C., Verdier-Metz I. (2022) Bacterial and botanical diversity of the pasture influence the raw milk cheese sensory properties. *Grassland Science in Europe Vol. 27 – Grassland at the heart of circular and sustainable food systems*, 659–661.
- Martin B., Verdier-Metz I., Buchin S., Hurtaud C., Coulon J.-B. (2005). How do the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products? *Animal Science* 81, 205–212.
- Nozière P., Graulet B., Lucas A., M-artin B., Grolier P., Doreau M. (2006). Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology* 131, 418–450.
- Theil S., and Rifa E. (2021) rANOMALY: Amplicon workflow for microbial community analysis. *F1000 Research* 10, 7.
- Verdier-Metz I., Michel V., Delbès C., Montel M.-C. (2009) Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? *Food Microbiology* 26, 305–310.
- Verdier-Metz I., Gagne G., Bornes S., Monsallier F., Veisseire P., Delbès-Paus C., Montel M.-C. 2012. Cow Teat Skin, a Potential Source of Diverse Microbial Populations for Cheese Production. *Applied and Environmental Microbiology* 78.