

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

Responsables : Dr. Fabien JOUX (UPMC) / Pr. Cécile BERNARD (MNHN)

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Mycologie – ISYEB UMR7205
Adresse : 12 rue Buffon, 75005 Paris
Responsable du Laboratoire / Entreprise :
Responsable de l'encadrement : Manuela Lopez Villavicencio
Téléphone : 0140793674
Fax :
E-mail : mlopez@mnhn.fr
Co-encadrant éventuel : Joëlle Dupont

Perspectives de poursuite de thèse :

- oui
- non

avec une bourse spécifique

- oui
- non

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

Titre :

Etude de la diversité des levures isolées de fromages bleus et de leur interaction avec *Penicillium roqueforti*

Description du sujet :

Le fromage est un aliment fermenté. Il héberge un microbiote procaryote et eucaryote complexe, les champignons filamenteux intervenant plutôt dans les phases finales de maturation et d'affinage (Ropars et al 2012). L'équipe de mycologie du Muséum étudie la domestication des champignons du fromage, en particulier de *Penicillium roqueforti*, en collaboration avec l'équipe ESE de l'université Paris Sud. Une grande diversité génétique des souches de *P. roqueforti* a été observée, sur la base du polymorphisme des microsattellites, en fonction des types de fromages et par rapport aux souches considérés comme contaminants alimentaires ou isolées d'autres environnements tels que l'ensilage et le bois (Ropars et al 2014, Gillot et al 2015). Du point de vue génomique, deux groupes se distinguent parmi les isolats du fromage, l'un ayant intégré deux régions génomiques (*Wallaby* et *CheesyTer*) par transfert horizontal (souches W+C+) alors que l'autre ne contient pas ces transferts (souches W-C-) (Cheeseman et al 2014, Ropars et al 2015). Ces régions contiennent des gènes ayant des fonctions dans l'utilisation des constituants lipidiques et protéiques spécifiques du fromage et des gènes potentiellement impliqués dans les interactions avec d'autres microorganismes. Les souches W+C+ ont une meilleure croissance sur

milieu fromage mais une croissance ralentie sur milieu minimal comparativement aux souches W-C-. De même, elles montrent un avantage compétitif vis-à-vis d'autres espèces de *Penicillium* et des souches de *P. roqueforti* W-C- (Ropars et al 2015).

Objectifs :

Lors de l'isolement de souches de *P. roqueforti*, il a été observé que certains fromages bleus hébergent des levures. Ces levures sont abondantes dans certains fromages mais absentes dans d'autres. Nous proposons d'étudier la diversité de ces levures et d'analyser leurs interactions avec *P. roqueforti*, porteur ou non des transferts, pour évaluer les éventuelles relations de facilitation ou d'inhibition entre les différentes espèces cohabitant dans le fromage. En fonction du temps un parallèle pourra être fait avec les souches de levures et de *P. roqueforti* isolées des environnements non fromagers, comme l'ensilage.

Approches utilisées :

Les échantillons de fromages utilisés pour constituer la collection de souches de *P. roqueforti* ont été congelés et seront utilisés pour isoler les levures. Nous disposerons ainsi de souches de levures et de souches de *P. roqueforti* cohabitant dans les mêmes fromages et qui pourront être étudiées en confrontation.

Le séquençage des ITS rDNA et de la partie 5' du 28S rDNA, recommandés comme marqueurs pour le barcoding des champignons, sera réalisé et les séquences seront comparées aux séquences de référence pour leur affiliation taxonomique.

L'étude des interactions se fera par des expériences de mesure de valeur adaptative des souches de levures et de *P. roqueforti* dans toutes les combinaisons possibles : souches des levures confrontées à des souches de *P. roqueforti* isolés ou non du même échantillon de fromage, porteuse ou non des transferts, ou par inoculation en point des levures sur tapis de *P. roqueforti* W+C+ ou W-C-, ou inversement.

Références bibliographiques :

Ropars J., Cruaud C., Lacoste S., Dupont J., 2012 - A taxonomic and ecological overview of cheese fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 155: 199-210.

Ropars J., López-Villavicencio M., Dupont J., Snirc A., Gillot G., Coton M., Jany J.-L., Coton E., Giraud T., 2014. Induction of sexual reproduction and genetic diversity in the cheese fungus *Penicillium roqueforti*. *Evolutionary Applications* 7 : 433-441. Doi:10.1111/eva.12140

Kevin Cheeseman, Jeanne Ropars, Pierre Renault, Joëlle Dupont, Jérôme Gouzy, Antoine Branca, Anne-Laure Abraham, Maurizio Ceppi, Emmanuel Conseiller, Robert Debuchy, Fabienne Malagnac, Anne Goarin, Philippe Silar, Sandrine Lacoste, Erika Sallet, Aaron Bensimon, Tatiana Giraud, Yves Brygoo, 2014. Multiple recent horizontal transfers of a large genomic region - over 500 kb - in cheese-making fungi. *Nature Communications* 5. Doi:10.1038/ncomms3876.

Gillot G., Jany J.L., Coton M., Le Floch G., Debaets S., Ropars J., López-Villavicencio M., Dupont J., Branca A., Giraud T., Coton E., 2015. Insights into *Penicillium roqueforti* morphological and genetic diversity. *PLoS One*. 10, e0129849.

Jeanne Ropars, Ricardo C Rodríguez de la Vega, Manuela López-Villavicencio, Jérôme Gouzy, Erika Sallet, Émilie Dumas, Sandrine Lacoste, Robert Debuchy, Joëlle Dupont, Antoine Branca and Tatiana Giraud, 2015. Adaptive genome remodeling in cheese-making fungi. *Current Biology* 25:2562-2569.