



**HAL**  
open science

## Enrichir les catalogues des CRB : l'exemple des collections microbiennes des Centres de ressources biologiques du CIRM

Anne Favel, Emmanuelle Helloin, Jean-Luc Legras, Perrine Portier, Florence Valence, Michel-Yves Mistou

### ► To cite this version:

Anne Favel, Emmanuelle Helloin, Jean-Luc Legras, Perrine Portier, Florence Valence, et al.. Enrichir les catalogues des CRB : l'exemple des collections microbiennes des Centres de ressources biologiques du CIRM. NOV'AE, 2022, Numéro Spécial 02, RARE, pp.28-33. 10.17180/novae-2022-NS02-art04 . hal-03735538

**HAL Id: hal-03735538**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03735538v1>**

Submitted on 6 Sep 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

## FOCUS

# Enrichir les catalogues des CRB : l'exemple des collections microbiennes des Centres de ressources biologiques du CIRM

Anne FAVEL<sup>1</sup>  
Emmanuelle HELLOIN<sup>2</sup>  
Jean-Luc LEGRAS<sup>3</sup>  
Perrine PORTIER<sup>4</sup>  
Florence VALENCE<sup>5</sup>  
Michel-Yves MISTOU<sup>6</sup>

### CORRESPONDANCE

[michel-yves.mistou@inrae.fr](mailto:michel-yves.mistou@inrae.fr)

Les missions des Centres de ressources biologiques (CRB), quels que soient leurs objets d'intérêt, sont de collecter, authentifier, conserver et distribuer des ressources biologiques. Ici nous nous intéressons à la mission de collecte, à travers l'exemple du CIRM (Centre international de ressources microbiennes), dont les catalogues de micro-organismes rassemblent des collections spécialisées, si précieuses pour la recherche.

Mais pourquoi et comment enrichir les collections ? Nous apportons quelques réponses à cette question, à l'appui d'exemples tirés de récentes expériences des CRB du CIRM.

---

1 Unité Biologie et biodiversité fongique, CIRM Champignons filamenteux, Marseille.

2 Infectiologie et santé publique, CIRM-BP, Nouzilly.

3 Sciences pour l'œnologie, CIRM-levures, Montpellier.

4 Institut de recherche en horticulture et semences, CIRM-CFBP, Angers.

5 Sciences des technologies du lait et de l'œuf, CIRM-BIA, Rennes.

6 Mathématiques et Informatiques appliquées du génome à l'environnement, Coordination du CIRM, Jouy-en-Josas.

## Intégrer de nouvelles espèces et augmenter la diversité interspécifique

L'activité des CRB s'insère dans le tissu de la recherche et doit servir et accompagner cette dernière ; or, la science évolue, et la diversité des objets biologiques, notamment dans le domaine de la microbiologie, ne se découvre que peu à peu. Les équipes de chercheurs travaillant sur différents environnements, matrices et tissus isolent régulièrement de nouveaux microorganismes ; les CRB doivent donc maintenir une veille pour identifier les échantillons qui enrichiront leurs collections. Par ailleurs, les développements dans les sciences de l'évolution conduisent à de fréquentes révisions de la classification taxonomique, susceptibles de révéler des lacunes dans les collections ; lacunes qui doivent alors être comblées pour assurer la représentativité de la diversité de ces collections. Les CRB spécialisés, comme ceux du CIRM, vont également souhaiter améliorer l'offre de diversité génétique au sein d'espèces connues, quelques variations géniques pouvant conduire à des différences importantes dans leurs propriétés biologiques ou technologiques.

### Accroître la diversité pour des espèces à fort potentiel pour supporter l'innovation

Une part importante de l'accroissement des collections vise donc à accroître l'offre de diversité des espèces qui ont un

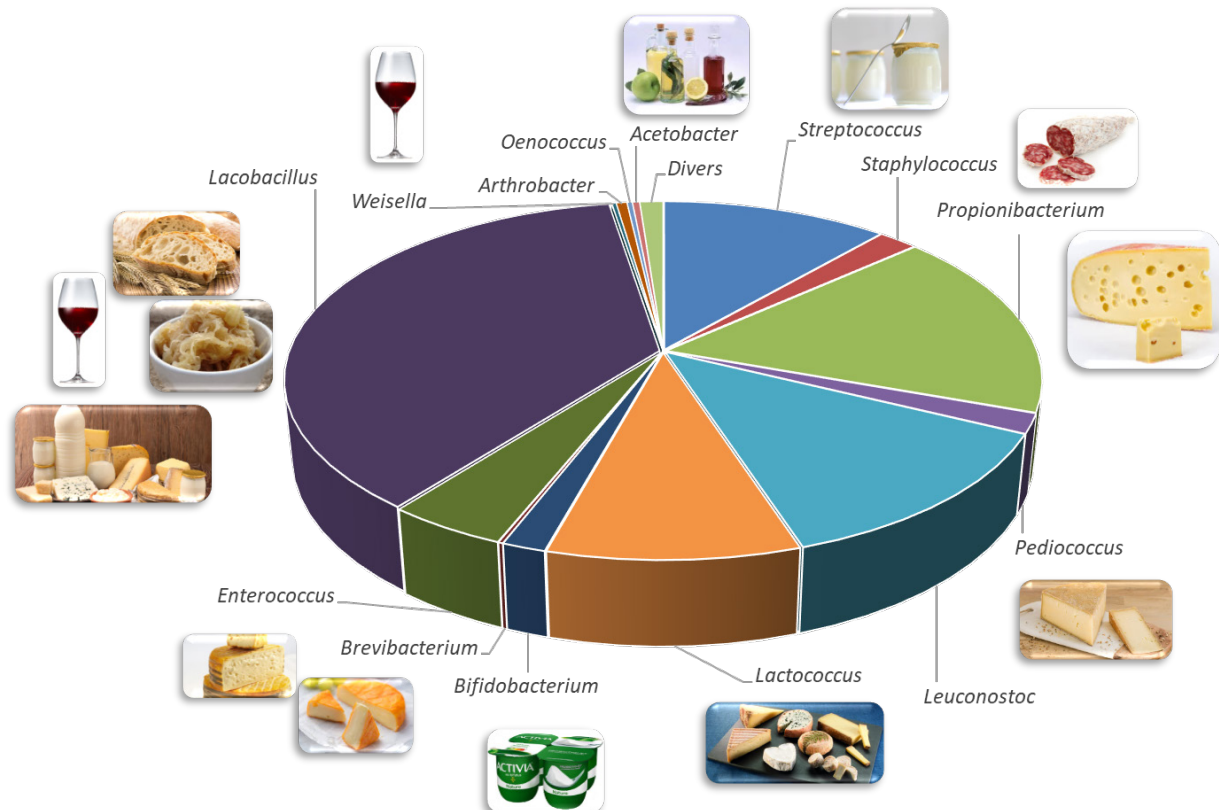
fort potentiel dans des applications traditionnelles ou innovantes. Citons deux exemples issus du catalogue du CIRM-BIA (Figure 1).

D'abord, le cas de l'espèce bactérienne *Streptococcus thermophilus* d'intérêt pour la fabrication de laits fermentés, dont les yaourts. *S. thermophilus* a la capacité de produire des exopolysaccharides qui peuvent modifier la texture des laits fermentés. Il s'avère que cette propriété technologique importante est extrêmement souche dépendante. Dès lors, le fait de disposer d'un panel de souches varié pour cette espèce permet aux industriels de sélectionner celle qui leur permettra d'obtenir un lait fermenté avec la texture désirée.

Sur le même principe, l'espèce bactérienne emblématique de l'Emmental (*Propionibacterium freudenreichii*) a la capacité de produire des composés d'arômes variés, cette capacité étant, là encore, assujettie à la souche. Le fait de pouvoir disposer d'un grand choix de souches pour cette espèce permettrait de moduler l'arôme final des productions d'Emmental.

C'est pour répondre à ce type de besoins que le CIRM-BIA propose, aujourd'hui, à son catalogue, pour ces deux espèces, respectivement 223 et 236 souches les plus variées possibles en termes de biotope et d'origine géographique.

Figure 1. Exemple de la diversité intraspécifique au sein d'un catalogue du CIRM. Le catalogue du CIRM-BIA (bactéries d'intérêt agro-alimentaire) propose quelques 4 000 souches au sein de 160 espèces, mais une douzaine d'espèces clés rassemblent la quasi-totalité du catalogue.



## Aller au-delà des souches types pour alimenter la recherche sur les espèces pathogènes

L'étude de la diversité intraspécifique est également importante dans le cas de pathologies émergentes. Il est alors nécessaire d'acquérir des connaissances sur la diversité génétique des souches, d'établir la variabilité des caractéristiques phénotypiques, afin de mieux comprendre les risques associés.

Le projet CecoType, piloté par Pascal Serror (UMR Micalis) a constitué une première étape vers l'élucidation de la pathogenèse d'*Enterococcus Cecorum*, un pathogène aviaire émergent et à fort impact économique, responsable de troubles squelettiques chez les poulets de chair à croissance rapide. Pour cela, une collection de 118 isolats d'*E. Cecorum* a été rassemblée, en collaboration avec le CIRM-BP et des partenaires privés ou académiques français et étrangers. Cette collection comporte principalement des isolats cliniques collectés au cours des dix dernières années dans une quinzaine d'élevages de poulets de chair français ainsi que des isolats commensaux aviaires et des isolats d'origine humaine. L'ensemble des isolats a été ré-identifié, validé au niveau de la pureté et caractérisé en termes de morphotype, puis conservé au CIRM-BP, associé à une collection d'ADN génomiques. Le tout a été mis à disposition de l'ensemble des partenaires du projet. Le séquençage des génomes entiers de l'ensemble des isolats et la génomique comparative ont été utilisés pour rechercher les gènes spécifiques de métabolisme et de virulence. Les capacités de formation de biofilm et d'adhésion au collagène ont été quantifiées afin d'investiguer les caractéristiques d'aptitude et de virulence. Un modèle d'œuf embryonné a également été utilisé pour caractériser la virulence d'une sélection d'isolats. Le projet CecoType fournira le premier ensemble de données sur la diversité génétique des souches d'*E. Cecorum* circulant entre et au sein des élevages.

## Positionner les CRB en amont dans les projets de recherche d'exploration de la diversité microbienne pour enrichir leurs catalogues

L'association d'un CRB à des projets de recherche comportant un volet d'exploration de la diversité microbienne présente dans un environnement donné permet la prise en charge de la caractérisation taxonomique des isolats et leur conservation.

Nous décrivons ci-après deux exemples récents de projets de recherche achevés ou en cours ayant conduit à l'isolement de souches qui ont rejoint les collections du CIRM.

## Projet ANR PeakYeast (Unité SPO, coord. J.-L. Legras)

Exploration du potentiel adaptatif de population de levures *S. cerevisiae* dans le moût de raisin en prenant compte son microbiote.

Ce projet comprenait un volet d'exploration de la diversité microbienne fongique et bactérienne de moûts de raisins. Les deux CRB impliqués dans le projet, le CIRM-Levures et le CIRM-BIA, ont pris en charge l'isolement et l'identification taxonomique des espèces présentes dans ces moûts avec le souci de maximiser la diversité collectée. Après avoir caractérisé la cohorte de souches de bactéries et levures isolées à l'aide de méthodes moléculaires, un sous ensemble des souches représentant les espèces collectées a été retenu, en limitant les risques de doublons issus d'un même échantillon. Ainsi, 52 souches de bactéries et 180 de levures ont été introduites en collection ; cela a permis d'enrichir les catalogues en souches caractéristiques du moût de raisin et, ainsi, de mieux répondre aux besoins des œnologues et de la communauté scientifique.

## Projet de recherche participative Flegme (Unité STLO, coord. Florence Valence)

Analyser la composition des consortia microbiens associés à la lactofermentation des légumes, afin de favoriser la maîtrise des processus fermentaires et encourager ainsi la production d'aliments aux qualités organoleptiques nouvelles.

Dans ce contexte il s'agissait de constituer une collection de référence représentative de la diversité bactérienne associée aux légumes lactofermentés. Pour ce faire, le CIRM-BIA a isolé et identifié 310 isolats, à partir d'échantillons fournis par des citoyens, en optimisant leur diversité, et mené en parallèle la caractérisation de l'écosystème microbien dans son intégralité par des méthodes de metabarcoding (métagénomique ciblée). Les souches isolées dans le cadre de ce projet et les métadonnées associées, dans un contexte d'open science, ont intégré la collection « ouverte » du CIRM-BIA pour être mises à disposition de l'ensemble de la communauté scientifique qui s'intéresse aux fermentations végétales.

## Découvrir de nouvelles espèces en menant des campagnes de collecte

Les CRB peuvent également être à l'origine de campagnes de collectes dans des environnements encore peu étudiés ou dans des zones géographiques où une forte biodiversité

té est anticipée. Dans le cadre de l'ANR BioEnergie PNRB E-TriCel (Exploration de la biodiversité enzymatique pour la complémentation du sécrétome de *Trichoderma reesei* afin d'améliorer l'hydrolyse des lignocelluloses), le CIRM-CF a organisé trois campagnes de collectes (2008-2010). Ces campagnes, destinées à explorer la biodiversité fongique naturelle de Guyane, ont été initiées avec les scientifiques de l'UMR Écologie des Forêts de Guyane (EcoFoG) partenaires du projet et, pour certains lieux de collecte, elles ont fait l'objet d'autorisation de la part des autorités locales (Photo 1). Il faut noter que la mise en œuvre, aujourd'hui, du Protocole de Nagoya à travers le dispositif APA (2016) nécessite une déclaration préalable auprès du Ministère de la transition écologique et solidaire. Ces missions ont été effectuées en collaboration avec des mycologues de terrain, spécialistes de la zone Antilles-Guyane, appartenant à la Société Mycologique de France. Au final, elles ont permis une diversification de la collection du CIRM-CF, qui s'est enrichie de 146 souches authentifiées appartenant à des taxons jusque-là non représentés dans la collection, et qui ont été mises à disposition du projet. Les données associées aux souches, en particulier tout ce qui concerne leur origine géographique, sont bien sûr répertoriées dans la base de données du CIRM-CF, et accessibles via le catalogue de la collection. Le CIRM-Levures (Montpellier) a été associé à ces missions et a participé à l'isolement de souches de levures qui ont également rejoint ces collections. Sur 276 souches de levure isolées, 210 correspondaient à 82 espèces connues, tandis que 54 autres étaient réparties dans 51 nouvelles espèces potentielles, dont 8 ont été nouvellement décrites (Amoikon et al., 2018 ; Jacques et al., 2016 ; Jacques et al., 2019). Cet exemple illustre le potentiel que



Photo 1. Mission de terrain en Guyane (de gauche à droite : Pr. R. Courtecuisse, Faculté de Pharmacie de Lille ; Ch. Lechat, SMF ; S. Grisel, INRA, UMR 1163, Marseille ; N. Jacques, INRA/Agroparis Tech ; A. Favel, INRA, UMR 1163, Marseille, Responsable du CIRM-CF.)

recèlent les environnements naturels pour isoler de nouvelles espèces.

Ce type de missions, à caractère naturaliste, qui visent à caractériser la biodiversité microbienne dans les environnements naturels restent rares ; en effet, le financement des expéditions doit se concevoir dans le cadre de projets ayant des objectifs scientifiques précis, et nécessitent de co-construire des questions de recherche avec les équipes. Le CIRM avec son expérience et son expertise permet de construire ces volets biodiversité des projets dans leurs dimensions techniques, mais également réglementaires, devenues essentielles dans le contexte du protocole de Nagoya<sup>1</sup>.

### Sauvegarder les collections d'intérêt agronomique menacées pour préserver l'avenir

Les priorités des équipes de recherche évoluent dans le temps, et certaines collections ne peuvent plus être conservées dans de bonnes conditions lors du départ de chercheurs ou de changements dans les priorités thématiques des unités. Certaines de ces collections, qui ont parfois été constituées sur plusieurs décennies et qui sont associées à des données de collecte de qualité et caractérisées dans des publications, constituent un patrimoine scientifique de grande valeur. Leur disparition peut donc s'avérer très dommageable pour la communauté scientifique ; le rôle des CRB est alors d'évaluer, sur des critères de complétude des collections et des intérêts de la communauté dans son ensemble, si leur sauvegarde présente un intérêt et de proposer, en accord avec les départements concernés, des rapatriements pour assurer leur sauvegarde.

D'autres situations peuvent également conduire au transfert de collections dans les CRB, alors même que la thématique reste pleinement active au sein d'un collectif de recherche. Ainsi, il arrive que la maintenance de la collection excède les ressources humaines disponibles de sorte que son transfert apparaît comme la meilleure solution pour préserver et distribuer les souches. De telles opérations sont menées régulièrement au sein des CRB du CIRM, en voici, ci-après, quelques exemples récents.

### Rapatriement de la collection de souches de *Fusarium* de l'UR MycSA

En 2013, le CIRM-CF a été sollicité par les chercheurs de l'UR MycSA (Villenave d'Ornon) pour rapatrier une collection de plus de 400 souches de *Fusarium sp.*, réparties sur plus

1 Le protocole de Nagoya sur l'accès aux ressources génétiques et le partage juste et équitable des avantages découlant de leur utilisation (APA) est entré en vigueur le 12 octobre 2014.

de 25 espèces représentatives des populations françaises inféodées au blé et au maïs. La pérennisation de cette collection de souches bien identifiées et caractérisées, notamment pour leur capacité de production de mycotoxines, était vitale pour la thématique de recherche de l'unité, mais son transfert inévitable en raison des ressources humaines insuffisantes. Après accord du département MICA, à la fois concerné par la collection et par le CIRM-CF, le rapatriement a fait l'objet d'un cahier des charges établi par le CRB en concertation avec l'UR, stipulant entre autres les conditions d'accès aux souches par l'UR MycSA et par un tiers. Au final, cela a donné lieu à la signature d'une Fiche de dépôt entre unités INRAE. Dans le respect du système Qualité du CIRM-CF, certifié ISO 9001, et en accord avec les principes des Centres de Ressources Biologiques, l'intégration des souches à la collection a fait l'objet d'un travail préalable d'authentification des souches par le CRB.

### Sauver la collection de souches d'Agaric de l'UR MycSA

Dans un contexte un peu différent, à savoir un départ en retraite associé à une réorientation thématique, le CIRM-CF a procédé, en 2017, au rapatriement d'une collection de près de 800 souches de champignon de Paris (*Agaricus bisporus* en majorité) constituée sur plus de 20 années par l'UR MycSA (Villenave d'Ormon). L'intérêt scientifique de la pérennisation de cette collection du champignon le plus consommé au monde (40 % de la production mondiale) ayant été établi, et après accord des deux départements concernés (SPE pour la collection et MICA pour le CIRM-CF), la procédure de rapatriement s'est déroulée de la même façon que pour la collection de *Fusarium*. L'incontournable étape d'authentification des souches a bénéficié d'un soutien financier des deux départements concernés (CDD, consommables).

### La collection de levures de Rhum, UMR QUALITROP Antilles-Guyane

Pour la collection de l'UMR QUALITROP, la restructuration de l'unité et l'arrêt de l'activité de recherche sur les fermentations de produits tropicaux ont posé la question du devenir de cette collection de levures, construite au cours des 40 dernières années. Après prise de contact avec l'ancien responsable de la collection, les souches encore présentes et les informations associées ont été transférées auprès du CIRM-Levures. Du fait des changements importants dans la taxonomie des levures, ces souches ont été systématiquement ré-identifiées avant d'être mises en collection.

### Sécuriser la collection de bactéries pathogènes des poissons de la VIM (Jouy-en-Josas) au CIRM-BP

Dans le contexte du proche départ en retraite de Jean-François Bernardet qui avait assemblé, sur plusieurs décennies, une formidable collection de bactéries pathogènes de poissons collectées sur cinq continents, l'équipe Infection et Immunité des Poissons (Éric Duchaud) a sollicité le CIRM-BP. Afin de garantir la conservation d'une sélection représentative de ces souches, des critères de choix ont été établis, comme l'usage fréquent des souches par l'équipe d'origine, la disponibilité de leurs séquences génomiques, l'implication des souches dans des publications et leur caractère unique car non disponibles ailleurs. L'obtention des autorisations de la part des personnes ou instituts ayant initialement transmis les souches à l'équipe de la VIM a également été prise en compte. Après une transmission de savoir-faire de la part du futur retraité, une collection de 295 souches appartenant à 3 espèces du genre *Flavobacterium* et 6 espèces du genre *Tenacibaculum*, isolées entre 1969 et 2016 dans le monde, a ainsi été transférée au CIRM-BP en 2021. Les souches sont actuellement en cours de mise en collection après une procédure d'authentification et de mise en conformité de leur statut vis-à-vis de l'APA/Protocole de Nagoya.

### Préserver les intérêts des chercheurs et des unités

Dans de telles situations les CIRM privilégient les contrats de dépôt ouverts qui permettent d'exposer les souches conservées et de les rendre disponibles auprès de la communauté scientifique, tout en maintenant la propriété intellectuelle au déposant original en cas d'exploitation industrielle ou financière de la ressource. Cette solution permet donc, en exposant à travers le catalogue du CIRM les résultats de la recherche, d'optimiser les possibilités de valorisation et les opportunités de collaboration pour les équipes ; ces dernières sont ainsi dispensées des tâches lourdes de conservation et de distribution des ressources, mais gardent le contrôle sur leur utilisation à travers les MTA.

Il est néanmoins possible, aux équipes qui le souhaitent, de déposer, moyennant des frais de garde, leurs collections sous forme de dépôts fermés qui restent confidentiels. Il existe donc de multiples modalités pour faire évoluer les catalogues des CRB microbiens, qui ont toutes leur utilité, selon les circonstances. Un message important à faire passer, auprès des équipes de recherche, est qu'il est généralement judicieux d'associer des CRB lors de la conception de projets de recherche qui comportent un volet d'exploration de la biodiversité ; cela permet que soient pris en compte,

dès la genèse du projet, tous les aspects techniques et réglementaires liés à la construction de collections originales.

### Microbiotes, métagénomique et culturomique : de nouveaux défis pour les catalogues des CRB microbiens

Ces dernières années, les apports de la métagénomique ont permis de mesurer l'étendue des espèces microbiennes qui échappent encore à nos techniques de culture. Ainsi, sont apparus des ensembles taxonomiques de microorganismes totalement inconnus des microbiologistes, car trop difficiles à cultiver, trop rares ou présents dans des environnements peu étudiés jusqu'alors (Castelle et Banfield, 2018). À l'heure actuelle, beaucoup des taxons microbiens décrits restent inaccessibles aux approches expérimentales microbiologiques classiques. La recherche doit encore progresser pour manipuler et isoler ces microorganismes, notamment à travers des approches culturomiques.

Les CRB microbiens doivent donc rester à l'affût des développements sur ces fronts de la science, afin de compléter leurs collections et de continuer à offrir à la communauté scientifique des ressources fiables pour les activités de recherche et de développement.

Plusieurs CRB du CIRM sont impliqués dans les projets d'analyse des microbiotes : Microstore (conservation des consortia associés aux plantes) pour le CIRM CFBP, Flegme (Microbiotes des légumes fermentés) pour le CIRM-BIA, Egg-to-meat (Flux bactériens chez le poulet) pour le CIRM-BP ; ils commencent donc à s'équiper dans une perspec-

tive d'analyse culturomique des microbiotes associés aux plantes et aux aliments.

Alors que les projets d'analyse des microbiotes et holobiontes se développent, il nous paraît important que le CIRM et, au-delà, le pilier microbien de RARe avec la bio-banque SAMBO, voire l'ensemble de l'infrastructure RARe, se saisissent des questions spécifiques posées par la manipulation et la conservation des échantillons de microbiotes et la constitution de collections issues de leur analyse culturomique. Il faut noter l'initiative du CIRM qui a rassemblé 5 CRB issus de 3 piliers de RARe (Microbien, Environnement, Animal), pour construire le projet HARMONY dédié à l'évaluation de protocoles d'extraction d'ADN issus de diverses matrices (sols, fèces, fientes, aliments) et d'approches de séquençage innovantes (shallow sequencing, SMRT) pour caractériser les microbiotes. Ce projet s'appuie sur des expertises bio-informatiques existantes au sein des CRB et sur la plateforme MetaQuant de MGP. Le projet, hyper-collaboratif, construit sur de nombreux ateliers pour discuter les protocoles envisagés, a deux objectifs principaux : proposer des procédures techniques standardisées pour les analyses microbiotes et faire monter en compétence les CRB moins rompus à ces analyses.

La réflexion sur le rôle et l'organisation des CRB et bio-banques INRAE dans les études de microbiotes doit se poursuivre, car la pierre angulaire d'une science ouverte et reproductible est de permettre l'accès des chercheurs à du matériel intègre d'un point de vue biologique et réglementaire. ■

## Références

Amoikon T.L.S., Grondin C., Djéni T.N., Jacques N., Casaregola S., 2018. *Starmerella reginensis* f.a., sp. nov. and *Starmerella kourouensis* f.a., sp. nov., isolated from flowers in French Guiana. *Int J Syst Evol Microbiol.* 68: 2299–2305. DOI: 10.1099/ijsem.0.002829.

Jacques N., Sarilar V., Urien C., Lopes M.R., Morais C.G., Uetanabaro A.P.T., et al. 2016. Three novel ascomycetous yeast species of the *Kazachstania* clade, *Kazachstania saulgeensis* sp. nov., *Kazachstania serrabonitensis* sp. nov. and *Kazachstania australis* sp. nov. Reassignment of *Candida humilis* to *Kazachstania humilis* f.a. comb. nov. and *Candida pseudohumilis* to *Kazachstania pseudohumilis* f.a. comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 66: 5192–5200. DOI: 10.1099/ijsem.0.001495.

Jacques N., Casaregola S., 2019. Large biodiversity of yeasts in French Guiana and the description of *Suhomyces coccinellae* f.a. sp. nov. and *Suhomyces faveliae* f.a. sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 69: 1634–1649. DOI: 10.1099/ijsem.0.003369.

Castelle C.J., Banfield J.F., 2018. Major New Microbial Groups Expand Diversity and Alter our Understanding of the Tree of Life. *Cell.* 172: 1181–1197. DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.016.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA). <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « NOV'AE », la date de sa publication et son URL.