



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

VI. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2025eko maiatzaren 28, 29 eta 30a
Bilbo, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 4.0

ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Artisau-ingurunea, Idiazabal
gaztaren mikrobiotaren gakoa**

*Gorka Santamarina-Garcia,
Gustavo Amores Olazagirre eta
Mailo Virto Lekuona*

133-140 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.vi.05.16>

ANTOLATZAILEA



BABESLEAK



EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO



LAGUNTZAILEAK



Artisau-ingurunea, Idiazabal gaztaren mikrobiotaren gakoak

Gorka Santamarina-García¹, Gustavo Amores², Mailo Virto²

1 Laktiker Ikerketa Taldea - Animalia Jatorriko Elikagaien Kalitatea eta Segurtasuna, Elikagaien Teknologia arloa, Farmazia eta Elikagaien Zientziak saila, Farmazia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Unibertsitate ibilbidea 7, 01006 Vitoria-Gasteiz,

2 Laktiker Ikerketa Taldea - Animalia Jatorriko Elikagaien Kalitatea eta Segurtasuna, Biokimika eta Biologia Molekularra saila, Farmazia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Unibertsitate ibilbidea 7, 01006 Vitoria-Gasteiz

gorka.santamarina@ehu.eus

Laburpena

Ikerketa ugari frogatu dute bakterio-komunitateek ardi-esne gordinen gazten kalitatean eta segurtasunean duten eragina, baina ez dira zehatz-mehatz ebaluatu tartean dauden mikrobio-iturri guztiak. Ikerketa honek, Idiazabal gazta adibide gisa erabiliz, esne gordinaren, gazuraren eta gaztaren mikrobiota artisau-gaztandegien inguruak eta praktikek duten eragina aztertu zuen metagenomika bidez. Emaitzek 1.300 bakterio-genero eta 3.400 espezie baino gehiago erakutsi zituzten. Hala ere, pentsu komertziala eta titiburuaren gainazala izan ziren esne gordinaren mikrobiotaren iturri nagusiak; eta gatzagia, berriz, gazuraren eta gaztaren mikrobiotaren iturri nagusia zen. Ondorioz, artisau-inguruneak gaztaren mikrobiota, kalitatean eta segurtasunean funtsezko papera jokatzen duela ondorioztatu zen.

Hitz gakoak: Ardi-esne gordinen gazta; mikrobiota; metagenomika

Abstract

Numerous studies have demonstrated the influence of bacterial communities on the quality and safety of raw ewe milk cheeses, but not all microbial sources involved have been thoroughly assessed. This study, using Idiazabal cheese as an example, analysed through metagenomics the influence of the environment and practices of artisanal dairies on the microbiota of raw milk, whey, and cheese. The results revealed over 1,300 bacterial genera and more than 3,400 species. However, commercial feed and teat surface were the main sources of the raw milk microbiota, while rennet was the primary source of the whey and cheese microbiota. Consequently, it was concluded that the artisanal environment plays a key role in the microbiota, quality, and safety of the cheese.

Keywords: raw ewe milk cheese; microbiota, metagenomics

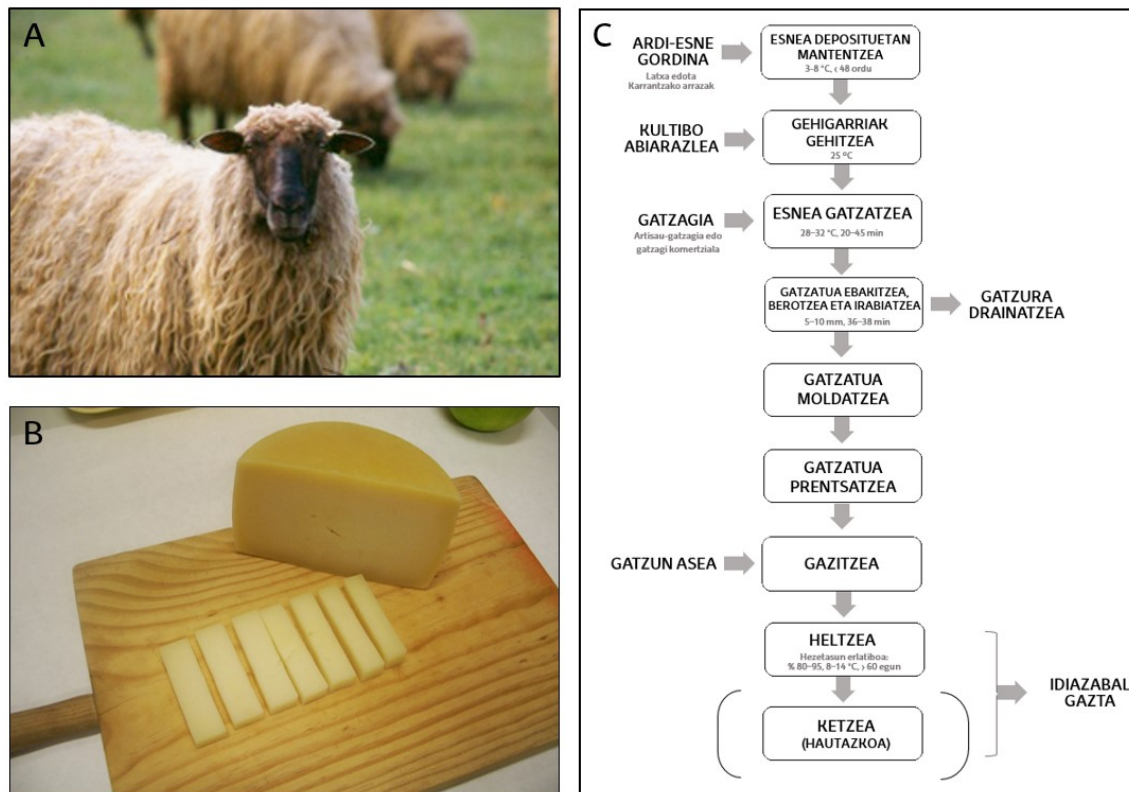
1. Sarrera

Idiazabal gazta Euskal Herrian ekoizten den gazta gogorra da. Latxa edota Karrantzako ardi esne gordinarekin ekoizten da eta horregatik, gutxienez, 60 eguneko heltze denbora du (1. irudia). 1987. urtetik Idiazabal Gazta Jatorri Deiturak (JD) bere ekoizpena arautzen du eta 1996. urtetik Europar Batasunak babesten du, Europako Jatorri Deitura Babestu (JDB) gisa (EEAO, 1996).

Oro har, Idiazabal gazta nazioartean ezagutzen den gazta da, besteak beste, bere zaporeagatik. Esne gordinarekin ekoizten diren beste gazta batzuek bezala, Idiazabal gaztak, profil aromatiko biziagoa eta aberatsagoa du, pasteurizatutako esnearekin egindako gaztekin alderatuta (Barron et al., 2007). Oro har, esan daiteke bakterioak direla ezaugarri sentorial horien erantzule nagusiak (Ballesteros et al., 2006; Madrau et al., 2006; Ortigosa et al., 2004; Rehman et al., 2000). Idiazabal gaztaren bakterio-multzoa edo mikrobiota duela gutxi deskribatu dugu lehen aldiz (Santamarina-García et al., 2022a). Emaitzek erakutsi zuten, bakterio azido-laktikoak (BAL) nagusitzen ziren, hain zuzen *Lactococcus* generoa, gazta egiterakoan kultibo abiarazle gisa gehitutakoa, eta BAL autoktonoak, hain zuzen, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* eta *Enterococcus* generoak. Bestalde, ingurumen-bakterio eta bakterio ez-desiragarri (osasu arazoekin edo gaztaren narriadurarekin erlazionaturakoak) batzuk topatu ziren, hots,

Obesumbacterium, *Hafnia* edo *Staphylococcus*. Hala ere, orokorrean, bakterio hauen ugaritasuna txikia izan zen amaierako gaztetan. Edozein modutan ere, ondorio nagusia izan zen mikrobiota, bai BALen kasuan, bai inguruko bakterioen edo bakterio ez-desiragarrien kasuan, ekoizlearen arabera izan zela (Santamarina-García et al., 2022a).

1. **irudia.** Latxa arrazako ardia (A), Idiazabal gazta (B) eta Idiazabal gaztaren elaborazio prozesua laburbiltzen duen fluxu-diagrama (C).



Bakterioek zaporean duten eraginari dagokionez, aipatu behar da mikrobiotak heltze-prozesuan ematen diren zenbait erreakzio biokimikotan parte hartzen duela, hala nola lipolisian edo proteolisian, eta, ondorioz, zaporeari eragiten dioten konposatuak sortzen direla, hala nola konposatu lurrunkorrak edo gantz-azido askeak (Fox et al., 2017; Le Quéré et al., 2022). Oro har, BAL autoktonoak, hau da, *Lactobacillus*, *Streptococcus* eta *Enterococcus*, zaporean eragin positiboa duten konposatuen sintesiarekin erlazionatu izan dira, eta ingurumeneko bakterioak eta bakterio ez-desiragarriak, berriz, eragin negatiboa dutenekin lotu dira (Santamarina-García et al., 2022b, 2023). Era berean, mikrobiotak gaztaren kaltegabetasuna baldintza dezake, konposatu toxikoen sintesiagatik, esaterako amina biogenikoak, edo antibiotikoekiko erresistentzia geneak aurkezteagatik (Ruiz-Capillas eta Herrero, 2019; Santamarina-García et al., 2022b, 2024; Spano et al., 2010). Horregatik, bere ikerketak berebiziko garrantzia du.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Aurretik aipatutakoa kontuan hartuta, logikoa dirudi desiragarriak diren bakterioen presentzia faboratu behar dela, eta, aldiz, ez-desiragarriena ekidin. Gazta moten artean mikrobio-konposizioan desberdintasun handiak daudela adierazi da (Dimov et al., 2021; Ramezani et al., 2017), baita gazta mota bereko ekoizleen artean ere (Cardinali et al., 2021), Idiazabal kasu (Santamarina-García et al., 2022a). Bakterio-iturriak askotarikoak eta konplexuak dira (Quigley et al., 2013), eta barnean hartzen dituzte kokapen geografikoa (Zheng et al., 2018), artaldearen maneia eta elikadura (Frétin et al., 2018), titiburuaren kutsadura (Frétin et al., 2018) edo gaztandegian erabiltzen diren praktikak, materialak eta osagaiak (Bokulich et al., 2013; Coelho et al., 2022; Cruciata et al., 2014). Faktore horietako batzuek beste gazta batzuetan duten eragina ikertu den arren (Bokulich et al., 2013; Coelho et al., 2022; Cruciata

et al., 2014; Frétin et al., 2018; Quigley et al., 2013), ez da balizko faktore guztiak barne hartzen dituen azterketa osorik egin.

Beraz, ikerketa honen helburua izan zen artisau-gaztandegietako inguruneetan dagoen mikrobiota ikertzea (adibidez, artaldearen elikaduran, osagaietan eta materialetan) eta faktore horiek ardi-esne gordinaren eta eratorritako Idiazabal gazten mikrobiota zer neurritan eragiten duten identifikatzea.

3. Ikerketaren muina

3.1 Metodologia

Aipatutako helburuak betetzeko, Idiazabal jatorri-deitura babestua duten bi gaztandegi (A eta B) aukeratu ziren, bata bestetik gertu kokatuak, faktore geografikoek mikrobiotan duten eragina saihesteko edo minimizatzeko (altitudea, longitudea, latitudea, tenperatura, prezipitazioa, hezetasuna, etab.). Ekoizle bakoitzaren hainbat lagin mota jaso ziren, gaztandegien barruan egon zitezkeen mikrobio-gordailu guztiak identifikatzeko. Artaldearen maneiari eta elikadurari dagokionez, bi ekoizleen larre freskoetatik lortutako belarra (~ 250 g) eta pentsu komertziala (~ 500 g) jaso zen. Gainera, A ekoizletik, lastoa (~ 150 g) eta etxeko pentsua (~ 500 g) lagindu ziren. Jetzi aurreko egunean, 30 isipu ere jaso ziren ardien titiburuaren gainazaletatik (isipu bakoitza 10-15 arditatik zetorrena), gazak erabiliz (7,5 cm × 7,5 cm) (Medrull, Dortmund, Alemania), % 0,9ko NaCl-disoluzio esteril batekin bustita (m/b) (Scharlab, Bartzelona, Espainia). Goizeko jeztearen ondoren, esne gordina ere jaso zen (~ 1 L). Gaztandegietatik, elikagaiak ukitzen dituzten gainazalen (adibidez, erretiluak, apalak, ekipoak, materialak, etab.) 30 isipu ere hartu ziren eta elikagaiak ukitzen ez dituzten gainazalen 30 isipu (adibidez, zoruak, hormak, etab.). Gazta egiteko prozesuan, gatzagi artisanalaren (~ 50 g) eta gatzunaren (~ 1 L) laginak bildu ziren. Gazta egin ondoren, sortutako gazura jaso zen (~ 1 L). Gaztak 60 egunez heldu ziren, ekoizle bakoitzaren 2 gazta (~ 1,5 kg) hartu aurretik. Lagin guztiak bikoiztuta jaso ziren eta lagin multzo bakoitza sorta berekoa izan zen. Laginak hotzean (3 ± 1 °C) laborategira eraman ziren eta analisi guztiak lagin freskoetan egin ziren.

Laborategian, DNA genomikoa lagin freskoetatik erauzi zen aurretik deskribatutako metodoa jarraituz (Santamarina-García et al. 2022a), aldaketa batzuekin. Gazta-laginei dagokienez, 10 g 90 mL sodio zitrato esterilarekin (% 2, m/b) nahastu ziren, eta Stomacher batean (Masticator Basic 400) homogeneizatu ziren. Ondoriozko esekidura 6.500 × g-tan zentrifugatu zen 8 minutuz 4 °C-tan, ur-gainazaleko gantza baztertu zen eta jalkina 50 mL sodio zitratorekin berreseki zen eta berriro zentrifugatu zen (6.500 × g-tan 8 minutuz 4 °C-tan). Jalkina 800 µL sodio zitratorekin berreseki zen, eta hiru aldiz zentrifugatu zen (6.500 × g-tan 8 minutuz 4 °C-tan). Gainerako ingurumen laginen kasuan, metodoa egokitu zen hainbat lanetan oinarrituta (Allard et al., 2016; Mormile et al., 2009). Animalien elikagaietarako, 200 g pentsu komertzial 90 mL indargetutako peptona-uretan (IPU) nahastu ziren, 6 minutuz sonikatu ziren eta 100 x g-tan zentrifugatu ziren minutu batez 4 °C-tan. Gero, esekidura 15.000 x g-tan zentrifugatu zen 8 minutuz 4 °C-tan, eta ur-gainazala baztertu ondoren, jalkina 50 mL IPUrekin berreseki zen eta berriz zentrifugatu egin zen (15.000 x g-tan 8 minutuz 4 °C-tan). Ondoren, jalkina 800 µL IPUrekin berreseki zen eta hiru aldiz zentrifugatu zen (15.000 x g-tan 8 minutuz 4 °C-tan). Prozedura bera aplikatu zitzaion etxeko pentsuari, belarrari eta lastoari, 200 g, 100 g eta 50 g izanda hasierako pisua, hurrenez hurren. Titiburuaren gainazalaren, elikagaiak ukitzen dituzten gainazalen eta elikagaiak ukitzen ez dituzten gainazalen kasuan, lagin mota bakoitzerako zazpi-zortzi isipuko taldeak 90 mL IPUtan murgildu ziren, eta gogor astindu ziren minutu batez, prozesu hori hiru aldiz errepikatu zen mikrobio-komunitateak askatzeko. Esekidura 100 × g-tan zentrifugatu zen minutu batez 4 °C-tan, ezpurutasun solidoak kentzeko, eta animalien elikagaien laginetarako erabilitako prozedurari jarraitu zitzaion. Gatzagi-laginen kasuan, 10 g gatzagi 90 mL IPUrekin nahastu zen, sei aldiz homogeneizatu zen (20 s piztuta eta 10 s itzalita) Stomacher batean (Masticator Basic 400), eta 100 x g-tan minutu batez 4 °C-tan zentrifugatu zen. Ondoren, laginak animalien elikagaiak bezala prozesatu ziren. Gatzunen kasuan, 300 mL 600 mL IPUrekin nahastu ziren eta gatzagi-laginak bezala prozesatu ziren, baina homogeneizatu gabe. Lagin guztietarako, DNA erauzketa QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit-a erabiliz egin zen, fabrikatzailearen jarraibideei jarraituz eta DNA erauzketaren errendimenduak hobetzeko, C6 disoluzioaren 25 µL-ko eluzio-urrats bikoitz bat gauzatu zen. DNA -80 °C-tan mantendu zen sekuentziatu arte.

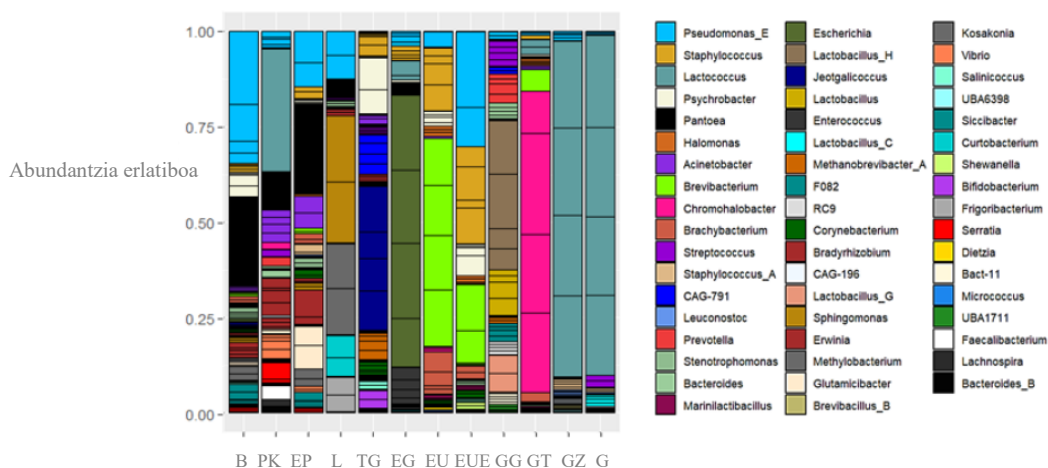
Liburutegiak prestatu aurretik, DNAREN kuantifikazio zehatza egin zen Qubit® fluorimetro bat erabiliz Qubit double-stranded DNA (dsDNA) high-sensitivity (HS) and broad-range (BR) assay kit-ekin (Bio-Sciences, Dublin, Irlanda). Illuminaren DNA prep kit-a (Illumina, Inc.) erabili zen 150 bp-ko mutur-parekatuko sekuentziazio-liburutegiak eraikitzeke. Multiplexaziorako indize bikoitz bakarrak (IBB) (Integrated DNA Technologies, Coralville, Iowa, Estatu Batuak) gehitu ziren. Indexatu eta garbitu ostean, kuantifikatzeko eta kalitatea egiaztatzeke, Qubit® fluorimetro bat eta Agilent 2100 BioAnalyzer sistema bat HS DNA kit batekin (Agilent Technologies, Inc.) erabili ziren, hurrenez hurren. Liburutegiak modu ekimolarrean batu ziren, eta garbiketa-etapa bat egin zen AMPure XP beads perlak (0,8Xperla:produktua, Beckman Coulter, Inc., Pasadena, Kalifornia, Estatu Batuak) erabiliz. Sekuentziazioa Illumina NextSeq 2000 plataforma batean egin zen, P1 300 zikloko kartutxo batekin (Illumina, Inc.), eta Illuminaren sekuentziazio estandarreko protokoloak jarraituz Teagasc-eko DNA sekuentziazio-instalazioetan (Moorepark, Cork, Irlanda).

Analisi bioinformatikoei dagokienez, fitxategi gordinen kalitate-kontrola (kalitate txikiko irakurketak baztertzea, ostalariaren irakurketak ezabatzea etab.) Cutadapt (1.18 bertsioa), FastQC (0.11.8 bertsioa), Bowtie2 (2.4.4 bertsioa), samtools (1.9 bertsioa) eta bedtools-en bamtofastq (2.27.1 bertsioa) erabiliz egin zen. Sailkapen taxonomikoa Kraken2 erabiliz egin zen, genome taxonomy database (GTDB) (89. argitalpena) erabiliz. Esne gordinaren, gazuraren eta gaztaren populazioen bakterio-jatorriak aztertzeke, SourceTracker2 (2.0.1 bertsioa) erabili zen. Esne gordinaren mikrobiota eragina izan zezaketen bakterio-iturriak honako hauek ziren: animalien elikagaiak, titiburuaren gainazala, elikagaiak ukitzen dituzten gainazalak eta elikagaiak ukitzen ez dituzten gainazalak. Horiez gain, gazurarentzat ere gatzagia zegoen, eta gatzarentzat gatzuna gehitu zen. Lehenetsitako konfigurazioa erabili zen.

3.2 Emaizak

Taxonomikoki, 56 bakterio-filum, 370 familia, 1.312 genero eta 3.467 espezie identifikatu ziren lagin guztien artean. Oro har, 53 generok % 1etik gorako batez besteko ugaritasun erlatiboak zituzten, eta 14 generok % 5etik gorakoa. Horien artean, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Brevibacterium*, *Pseudomonas_E*, *Chromohalobacter*, *Escherichia*, *Lactobacillus_H*, *Psychrobacter*, *Brachybacterium*, *Pantoea*, *Jeotgalicoccus*, *Lactobacillus_G* eta *Streptococcus* zeuden (2. irudia). Alde esanguratsuak ikusi ziren lagin moten artean ($P \leq 0,01$) (2. irudia).

2. irudia. Esne gordinaren, gazuraren, Idiazabal gaztaren eta gatzandegiaren inguruko laginen mikrobiotaren barra-diagrama (bakterio-genero mailan, % 1,00tik gorako ugaritasun erlatiboarekin gutxienez). Laburdurak: B: belarra, PK: pentsu komertziala, EP: etxeko pentsua, L: lastoa, TG: titiburuaren gainazala, EG: esne gordina, EU: elikagaiak ukitzen dituzten gainazalak, EUE: elikagaiak ukitzen ez dituzten gainazalak, GG: gatzagia, GT: gatzuna, GZ: gazura, G: gazta.

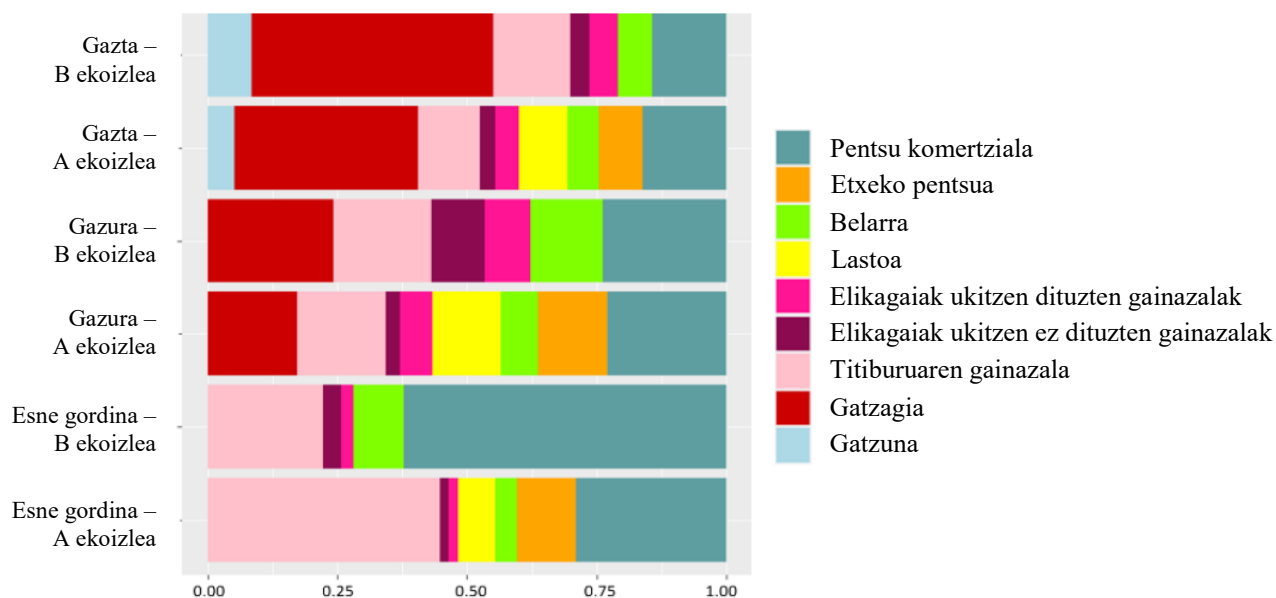


Lactococcus pentsu komertzialean nagusitu zen, *Sphingomonas* eta *Methylobacterium* lastoan, eta *Pantoea* eta *Pseudomonas_E* belarretan eta etxeko pentsuan. Titiburuaren gainazalean *Jeotgalicoccus* eta *Psychrobacter* nagusi ziren, eta elikagaiak ukitzen dituzten gainazaletan, aldiz, *Brevibacterium*, *Staphylococcus* edo *Brachybacterium*. Elikagaiak ukitzen ez dituzten gainazaletan, *Pseudomonas_E*,

Staphylococcus, *Brevibacterium* edo *Psychrobacter* nagusi ziren. Esne gordinaren mikrobiota, batez ere, *Escherichiak* osatzen zuen, eta, ondoren, *Enterococcusek* eta *Lactococcusek*. Gatzagian, batez ere, *Lactobacillus_H*, *Lactobacillus*, *Lactobacillus_G*, *Prevotella*, eta *Streptococcus* topatzen ziren. Gatzunlaginetan *Chromohalobacter* nagusitu zen, ondoren *Brevibacterium* eta *Lactococcus* zeudelarik. Azkenik, *Lactococcus* eta *Staphylococcus_A* nagusi ziren gazuran, eta *Lactococcus*, *Streptococcus* eta *Lactobacillus_C*, berriz, gaztan.

Oro har, esnearen eta gaztaren mikrobiotaren emaitzak bat datoz aurreko lanetako emaitzekin, baina desberdintasunak daude identifikatutako bakterioetan eta horien ugaritasunean (Santamarina-García et al., 2022a). Gazurari dagokionez, bakterio ez-desiragarriak ugariagoak izan ziren gaztarekin konparatuta, orain arte jakinarazi ez dena. Gazuran edo gaztan ugariak ziren bakterio asko ez zeuden esne gordinan, adibidez, *Lactobacillus_C*, *Leuconostoc* edo *Staphylococcus_A*. Beraz, horrek adierazten du artisau-gaztandegietan beste mikrobio-iturri batzuk zeudela (Bokulich et al., 2013; Coelho et al., 2022; Cruciat et al., 2014; Fréti et al., 2018; Quigley et al., 2013; Zheng et al., 2018), lehenago espekulatu zen bezala (Santamarina-García et al., 2022a).

3. irudia. SourceTracker analisiaren emaitzen barra-diagrama, bakterio-iturri bakoitzak esne gordinan, gazuran eta gaztan duen eragina adieraziz (ez da proportzio ezezagunik agertzen).



SourceTracker analisiari erreparatuz, pentsu komertziala eta titiburuaren gainazala izan ziren esne gordinaren bakterio-iturri nagusiak (% 45,6 $\pm$ 21,6 eta % 33,5 $\pm$ 14,2, hurrenez hurren) (3. irudia). Pentsu komertziala *Lactococcus* eta *Pantoea*ren iturria zen, *Bradyrhizobium*ekin edo *Acinetobacter*ekin batera, besteak beste. Titiburuaren gainazala, aldiz, *Staphylococcus*, *Jeotgalicoccus*, *Psychrobacter*, *CAG-791*, *Methanobrevibacter_A* edo *Bifidobacterium* generoen iturria zen, adibidez. Gazta egin ondoren, gatzagia zen gaztaren bakterio-iturri nagusia (% 41,0 $\pm$ 7,58), pentsu komertzialak (% 15,3 $\pm$ 2,47) eta titiburuaren gainazalak (% 13,4 $\pm$ 2,74) ere ekarpen handia egin zutelarik. Gazurarentzat antzeko emaitzak jaso ziren, pentsu komertziala bakterio-iturri nagusia izanda (% 20,2 $\pm$ 4,18), eta ondoren, gatzagia (% 17,4 $\pm$ 2,59) eta titiburuaren gainazala (% 15,4 $\pm$ 2,80) (3. irudia). Gatzagia, besteak beste, *Streptococcus*, *Pseudomonas_E*, *Lactobacillus_H*, *Lactobacillus* edo *Lactobacillus_G* generoen iturria zen. Gainerako laginak ere (artaldeentzako gainerako elikagaiak, elikagaiak ukitzen dituzten eta ez dituzten gainazalak, eta gatzuna) esne gordinaren eta gaztaren mikrobiotaren bakterio-iturri ziren, nahiz eta neurri txikiagoan (3. irudia). Adibidez, elikagaiak ukitzen dituzten eta ez dituzten gainazalak *Brevibacterium*, *Staphylococcus* eta *Pseudomonas_E* generoen iturri esanguratsuak ziren, eta gatzuna, berriz, *Chromohalobacter* generoaren iturria. Beraz, baieztatu zen ingurumen lagin guztiek bakterio gordailu nabarmena suposatzen dutela (Santamarina-García et al., 2022a).

Jakina da artaldearekin erabilitako elikagaiek esne gordinaren eta gazta eratorrien konposizioan eta kalitatean eragiten dutela. Hala ere, horien inpaktua esne gordinaren mikrobiotan ez da asko ezagutzen (Tzora et al., 2022), eta ez dago gaztari buruzko ikerketarik. Titiburuaren gainazalaren kasuan, esne gordinaren mikroorganismoen iturri garrantzitsutzat hartzen da, eta hori animalien elikaduraren eta estabulazio-baldintzen arabera da, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Mannheimia*, *Jeotgalicoccus* edo *Methanobrevibacter* nagusi direlarik (Fretin et al., 2018). Hala ere, azterketa horiek behiekin egin dira eta ardien titiburuaren gainazalei buruzko informazioa urria da, *Bacteroides* eta *Prevotella* nagusi direlarik (Bi et al., 2019). Artisau-gatzagiak gaztaren mikrobiotan duen eraginari buruzko informazioa urria da (Etayo et al., 2006). Besteak beste, BALen iturri garrantzitsua izan daitekeela jakinarazi da, hala nola *Streptococcus* eta *Lactobacillus* (Cruciata et al., 2014), bai eta beste bakterioena, esaterako, *E. coli* edo *S. aureus* (Etayo et al., 2006). Hala ere, ikerketa bakar batek ere ez du aztertu bakterio-komunitateen transferentzia gatzagietatik esne gordineko gatzetara.

Gainerako laginei dagokienez, elikagaiak ukitzen dituzten eta ez dituzten gainazalako mikrobiota oso aztertua izan da, mikroorganismoen nitxo potentzialak baitira, biofilmak sortzeko duten gaitasunari esker (Alvarez-Molina et al., 2023). Gainera, gaztandegi bakoitzeko espezifikotzat deskribatzen dira (Bokulich et al., 2013). Besteak beste, *Pseudomonas* eta *Psychrobacter* deskribatu dira (Alvarez-Molina et al., 2023), *Brevibacterium*ekin eta *Halomonas*ekin batera (Bokulich et al., 2013). Hala ere, ez dago informaziorik ardi-esne gordinarekin gaztak ekoizten dituzten gatzandegiei buruz. Era berean, gatzunen mikrobiota ere prozesatze-instalazioetarako espezifikotzat jotzen da, BALen eta bakterio halofiloen (adibidez, *Lactococcus*, *Chromohalobacter*, *Halomonas* edo *Tetragenococcus*) nagusitasunarekin gatzagintzarako erabiltzen diren gatzunetan (Haastrup et al., 2018). Hala ere, ez dago informaziorik ardi-esne gordineko gaztak egiteko erabiltzen diren gatzunei buruz.

Orokorrean, informazio hau funtsezkoa da, gaztarentzat onuragarriak diren bakterioen jatorria ezagutzeko aukera ematen baitu, batez ere gaztaren konposizioari, zaporeari eta testurari dagokienez, hala nola *Lactococcus* edo *Lactobacillus* BALak (Santamarina-García et al., 2022a). Era berean, desiragarriak ez diren bakterioen iturria ezagutzeko aukera ere ematen du, hala nola osasun-arazoekin lotutako patogenoena (oportunistak edo emergenteak barne), bai eta gaztan narriadura eragiten dituztenak ere, esaterako *Staphylococcus*, *Jeotgalicoccus*, *Psychrobacter*, *Pseudomonas* eta *Brevibacterium* (Santamarina-García et al., 2022a). Azkenik, ingurumen-bakterioen (ez onuragarriak, ez desiragarriak) jatorria ere identifika daiteke, adibidez *Pantoea*, *Bradyrhizobium* eta *Chromohalobacter* (Santamarina-García et al., 2022a).

4. Ondorioak

Artisau-inguruneek eta praktikek eragin argia izan zuten Latxa ardiaren esne gordinaren eta eratorritako Idiazabal gaztaren mikrobiotan. Zehazki, pentsu komertziala eta titiburuaren gainazala izan ziren esne gordinaren mikrobiotari eragin zioten faktore nagusiak, gatzagiarekin batera gaztaren kasuan. Hala ere, gatzandegietatik jasotako lagin guztiek, hala nola gainazalek edo gatzunak, mikrobiotan eragina izan zuten, nahiz eta maila ezberdinetan izan. Ondorioz, baieztatu zen artisau-ingurunea eta praktikak direla mikrobio-komunitateetan ekoizleen arteko bereizketaren arrazoi nagusia, gaztaren kalitatea eta kaltegabetasuna baldintza dezaketenak.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizuneko azterketek bakterio-iturrietan eragiten duten faktoreak aztertu behar dituzte, hala nola, larrearen edo pentsuaren konposizioa, gatzagiaren elaborazio-prozesua edo gainazalen garbiketa, praktika egokienak zehazteko eta, hala, bakterio onuragarrien presentzia errazteko, hala nola gaztaren kalitatearekin lotutakoak, eta desiragarriak ez direnak saihesteko, hala nola patogenoak edo gaztaren narriadurarekin lotutakoak.

6. Erreferentziak

Allard, S.M., Walsh, C.S., Wallis, A.E., Ottesen, A.R., Brown, E.W., & Micallef, S.A. (2016). *Solanum lycopersicum* (tomato) hosts robust phyllosphere and rhizosphere bacterial communities when grown in

- soil amended with various organic and synthetic fertilizers. *Science of The Total Environment*, 573, 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.157>
- Alvarez-Molina, A., Cobo-Díaz, J.F., Alexa, E.A., Crispie, F., Prieto, M., López, M., Cotter, P.D. & Alvarez-Ordóñez, A. (2023). Sequencing-based analysis of the microbiomes of Spanish food processing facilities reveals environment-specific variation in the dominant taxa and antibiotic resistance genes. *Food Research International*, 173, 113442. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113442>
- Ballesteros, C., Poveda, J.M., González-Viñas, M.A., & Cabezas, L. (2006). Microbiological, biochemical and sensory characteristics of artisanal and industrial manchego cheeses. *Food Control*, 17, 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.008>
- Barron, L.J.R., Redondo, Y., Aramburu, M., Gil, P., Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M., Nájera, A.I., de Renobales, M., & Fernández-García, E. (2007). Volatile composition and sensory properties of industrially produced Idiazabal cheese. *International Dairy Journal*, 17, 1401–1414. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.04.001>
- Bi, Y., Cox, M.S., Zhang, F., Suen, G., Zhang, N., Tu, Y. & Diao, Q. (2019). Feeding modes shape the acquisition and structure of the initial gut microbiota in newborn lambs. *Environmental Microbiology*, 21, 2333–2346. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14614>
- Bokulich, N.A. & Mills, D.A. (2013). Facility-specific “house” microbiome drives microbial landscapes of artisan cheesemaking plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 5214–5223. <https://doi.org/10.1128/AEM.00934-13>
- Cardinali, F., Ferrocino, I., Milanović, V., Belleggia, L., Corvaglia, M. R., Garofalo, C., Foligni, R., Mannozi, C., Mozzon, M., Cocolin, L., Osimani, A., & Aquilanti, L. (2021). Microbial communities and volatile profile of Queijo de Azeitão PDO cheese, a traditional Mediterranean thistle-curdled cheese from Portugal. *Food Research International*, 147, 110537. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110537>
- Cruciata, M., Sannino, C., Ercolini, D., Scatassa, M.L., De Filippis, F., Mancuso, I., La Storia, A., Moschetti, G. & Settanni, L. (2014). Animal rennets as sources of dairy lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 2050–2061. <https://doi.org/10.1128/AEM.03837-13>
- Dimov, S.G., Gyurova, A., Zagorchev, L., Dimitrov, T., Georgieva-Miteva, D., & Peykov, S. (2021). NGS-based metagenomic study of four traditional bulgarian green cheeses from Tcherni Vit. *LWT-Food Science and Technology*, 152, 112278. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112278>
- EEAO. (1996). 1107/96 Erregelamendua, ekainaren 12koa, adierazpen geografikoen eta jatorri-deituren erregistroari buruzkoa, Kontseiluaren 2081/92 (EEE) Erregelamenduaren 17. artikuluan ezarritako prozeduraren arabera. *Europako Erkidegoen Aldizkari Ofiziala (EEAO)*, 148, 1-10. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A31996R1107>
- Etayo, I., Pérez-Elortondo, F.J., Gil, P.F., Albisu, M., Virto, M., Conde, S., Barron, L.J.R., Nájera, A.I., Gómez-Hidalgo, M.E., Delgado, C., Guerra, A. & De Renobales M. (2006). Hygienic quality, lipolysis and sensory properties of Spanish Protected Designation of Origin ewe’s milk cheeses manufactured with lamb rennet paste. *Lait*, 86, 415–434. <https://doi.org/10.1051/lait:2006021>
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., & McSweeney, P.L.H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science* (2. ed.). Springer US arg.
- Haastrup, M.K., Johansen, P., Malskær, A.H., Castro-Mejía, J.L., Kot, W., Krych, L., Arneborg, N. & Jespersen, L. (2018). Cheese brines from Danish dairies reveal a complex microbiota comprising several halotolerant bacteria and yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, 285, 173–187. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.015>
- Le Quéré, J.-L., & Buchin, S. (2022). Cheese flavor. In *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press arg.
- Madrau, M.A., Mangia, N.P., Murgia, M.A., Sanna, M.G., Garau, G., Leccis, L., Caredda, M., & Deiana, P. (2006). Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. *International Dairy Journal*, 16, 876–885. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.08.005>
- Mormile, M.R., Hong, B.Y., Benison, K.C. (2009). Molecular analysis of the microbial communities of Mars analog lakes in Western Australia. *Astrobiology*, 9, 919–30. <https://doi.org/10.1089/ast.2008.0293>
- Ortigosa, M., Arizcun, C., Oneca, M., Irigoyen, A., & Torre, P. (2004). Effects of pasteurisation on microorganisms and sensory attributes in Roncal type cheese from ewe’s milk. *Milchwissenschaft*, 59, 392–396.

- Ramezani, M., Hosseini, S.M., Ferrocino, I., Amoozegar, M.A., & Cocolin, L. (2017). Molecular investigation of bacterial communities during the manufacturing and ripening of semi-hard Iranian Liqvan cheese. *Food Microbiology*, 66, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.03.019>
- Rehman, S.U., Banks, J.M., Brechany, E.Y., Muir, D.D., McSweeney, P.L.H., & Fox, P.F. (2000). Influence of ripening temperature on the volatiles profile and flavour of Cheddar cheese made from raw or pasteurised milk. *International Dairy Journal*, 10, 55–65. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00019-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00019-4)
- Ruiz-Capillas, C., & Herrero, A. M. (2019). Impact of biogenic amines on food quality and safety. *Foods*, 8, 62. <https://doi.org/10.3390/FOODS8020062>
- Santamarina-García, G., Hernández, I., Amores, G., & Virto, M. (2022a). Characterization of microbial shifts during the production and ripening of raw ewe milk-derived Idiazabal cheese by high-throughput sequencing. *Biology*, 11, 769. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY11050769>
- Santamarina-García, G., Amores, G., López de Armentia, E., Hernández, I., & Virto, M. (2022b). Relationship between the dynamics of gross composition, free fatty acids and biogenic amines, and microbial shifts during the ripening of raw ewe milk-derived Idiazabal cheese. *Animals*, 12, 3224. <https://doi.org/10.3390/ani12223224>
- Santamarina-García, G., Amores, G., Hernández, I., Morán, L., Barrón, L.J.R., & Virto, M. (2023). Relationship between the dynamics of volatile aroma compounds and microbial succession during the ripening of raw ewe milk-derived Idiazabal cheese. *Current Research in Food Science*, 2023, 100425. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.100425>
- Santamarina-García, G., Amores, G., Llamazares, D., Hernández, I., Barron, L.J.R., & Virto, M. (2024). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistances reveals the effect of the production chain in reducing resistant lactic acid bacteria in an artisanal raw ewe milk PDO cheese. *Food Research International*, 187, 114308. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114308>
- Spano, G., Russo, P., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Alexandre, H., Grandvalet, C., Coton, E., Coton, M., Barnavon, L., Bach, B., Rattray, F., Bunte, A., Magni, C., Ladero, V., Alvarez, M., Fernández, M., Lopez, P., de Palencia, P. F., Corbi, A., ... & Lolkema, J. S. (2010). Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, S95–S100. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.218>
- Tzora, A., Nelli, A., Kritikou, A.S., Katsarou, D., Giannenas, I., Lagkouvardos, I., Thomaidis, N.S. & Skoufos, I. (2022). The “crosstalk” between microbiota and metabolomic profile of Kefalograviera cheese after the innovative feeding strategy of dairy sheep by omega-3 fatty acids. *Foods*, 11, 3164. <https://doi.org/10.3390/foods11203164>
- Zheng, X., Liu, F., Li, K., Shi, X., Ni, Y., Li, B., & Zhuge, B. (2018). Evaluating the microbial ecology and metabolite profile in Kazak artisanal cheeses from Xinjiang, China. *Food Research International*, 111, 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.019>

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau G. Santamarina-García defandatutako doktore-tesiaren parte da eta nazioartean garrantzia duen *Microbiome* aldizkarian argitaratu da. Egileek eskerrak eman nahi dizkiete Idiazabal JDBari atxikitako gaztagileei eta Teagasc Food Research Center-eko lankideei ikerketa honetan parte hartzeagatik. Ikerketa hau burutzeko dirulaguntza Eusko Jaurlaritzak eman zuen (Gasteiz, IT1568-22). Gorka Santamarina-García eskerrak eman nahi dizkio Euskal Herriko Unibertsitateari doktorego aurreko kontratuagatik.