

Phytomicronutriments : de la plante au consommateur

► Mardi 16 décembre 2014



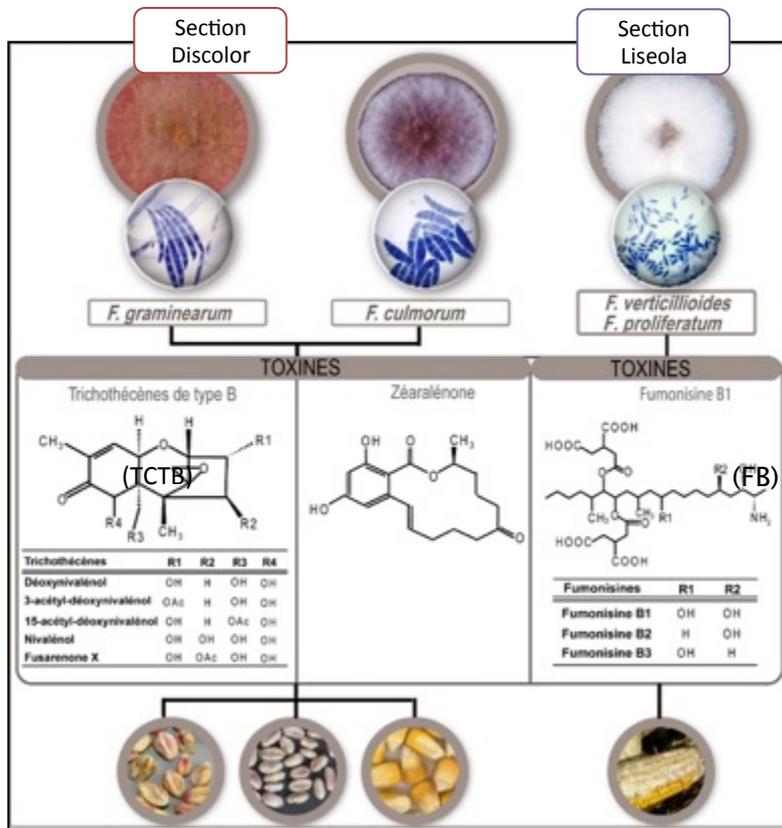


Les phytomicronutriments des céréales : un élément de résistance à la Fusariose et à l'accumulation de mycotoxines

Vessela ATANASOVA-PENICHON et Florence FORGET-RICHARD

*INRA UR 1264 MYCSA1264 -< Mycologie et Sécurité des Aliments
71, av. E. Bourlaux BP n°81 - 33883 Villenave d'Ornon
vatanaso@bordeaux.inra.fr*

Fusariose : principaux acteurs et enjeux



Accumulation dans les grains
"Années à fusariose"

Alimentation
animale



Alimentation
humaine



**Molécules stables
thermorésistantes**

Risque de toxicité chronique
Jeu sanitaire

Recommandation

**Réglementation
européenne**

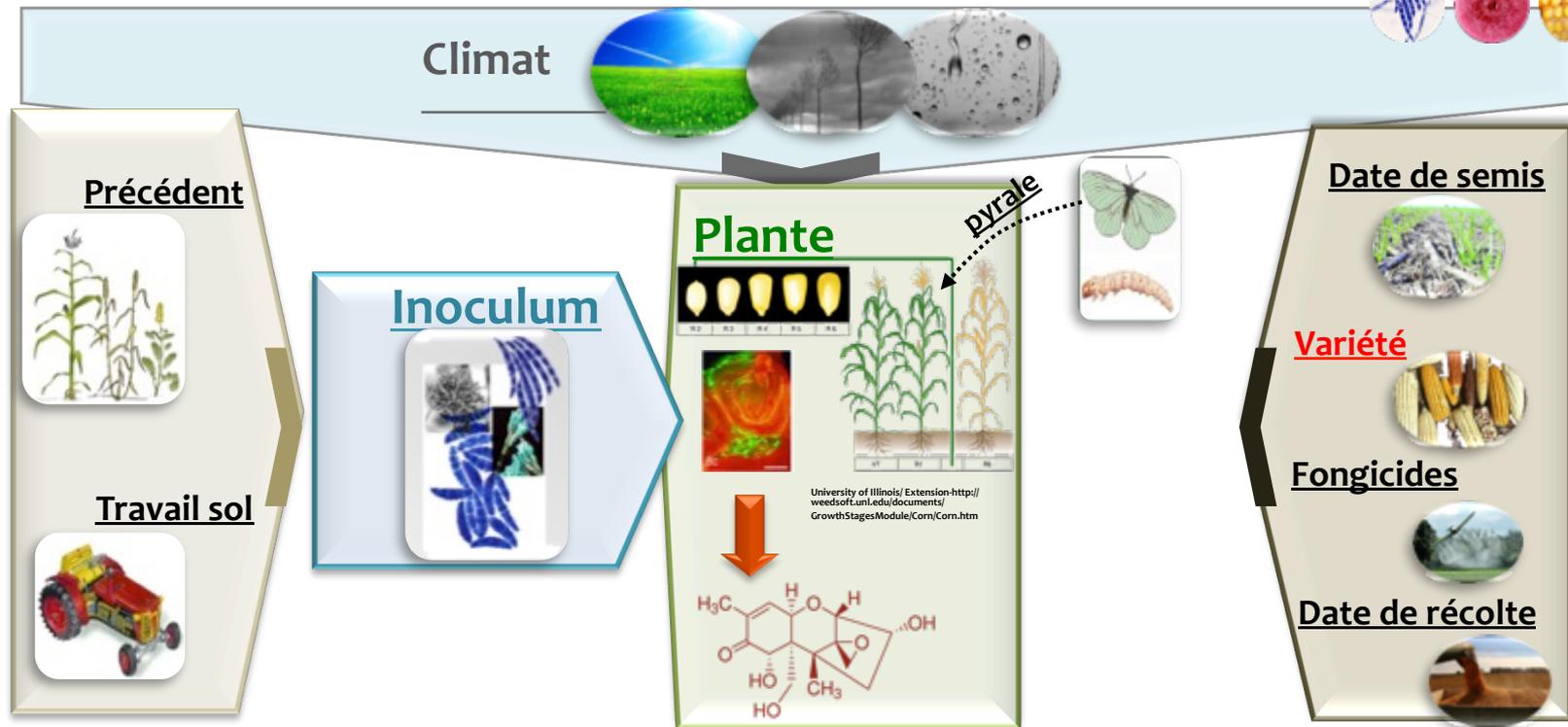
CE- N° 576/2006 du 17/08/2006

Règlement (CE) N° 856/2005 du 06/06/2005

Pertes économiques

Impératif: maîtrise biosynthèse au champ

Fusariose de l'épi & risque mycotoxique/ quels moyens de lutte?



- Progresser vers une meilleure connaissance du pathogène et de ses mécanismes de production de toxines
- Sélection variétale

Le facteur variétal: résistance à la Fusariose et à l'accumulation de mycotoxines



Résistance à l'accumulation de mycotoxines (Résistance de type V)



● TRANSFORMATION METABOLIQUE Activité enzymatique des plantes

- glycosylation
- formation sulfates
- dé-époxydation
- autres ?

Stress oxydant



● INHIBITION DE LA BIOSYNTHESE

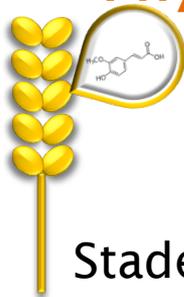
- Composés phénoliques
- Caroténoïdes
- Tocophérols
- Peptides
- Autres?

ANTIOXYDANTS

Toxines ↑

Quels sont les phytomicronutriments des céréales?

Phytomicronutriments des céréales / fusariose et biosynthèse des toxines ?



Composition des grains en antioxydants / modulation Fusariose / mycotoxinogénèse

Stade mature des grains → nombreuses études



Au cours du développement phénologique du grain, sa composition est susceptible d'évoluer

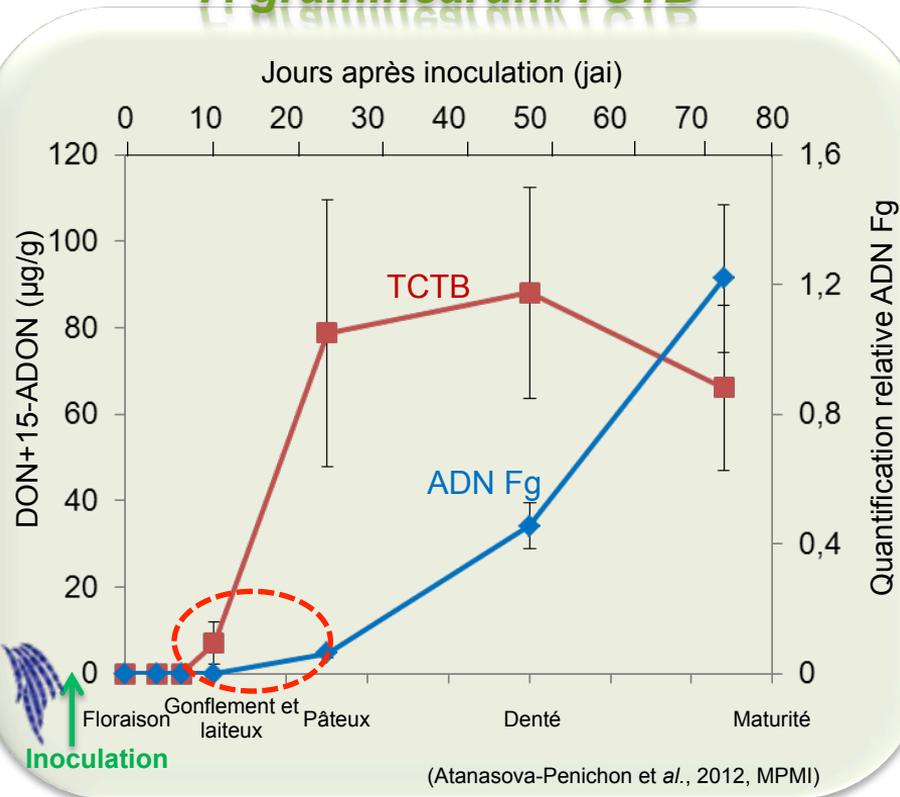


Quels sont les antioxydants rencontrés par Fusarium lors de sa progression dans l'épi ?

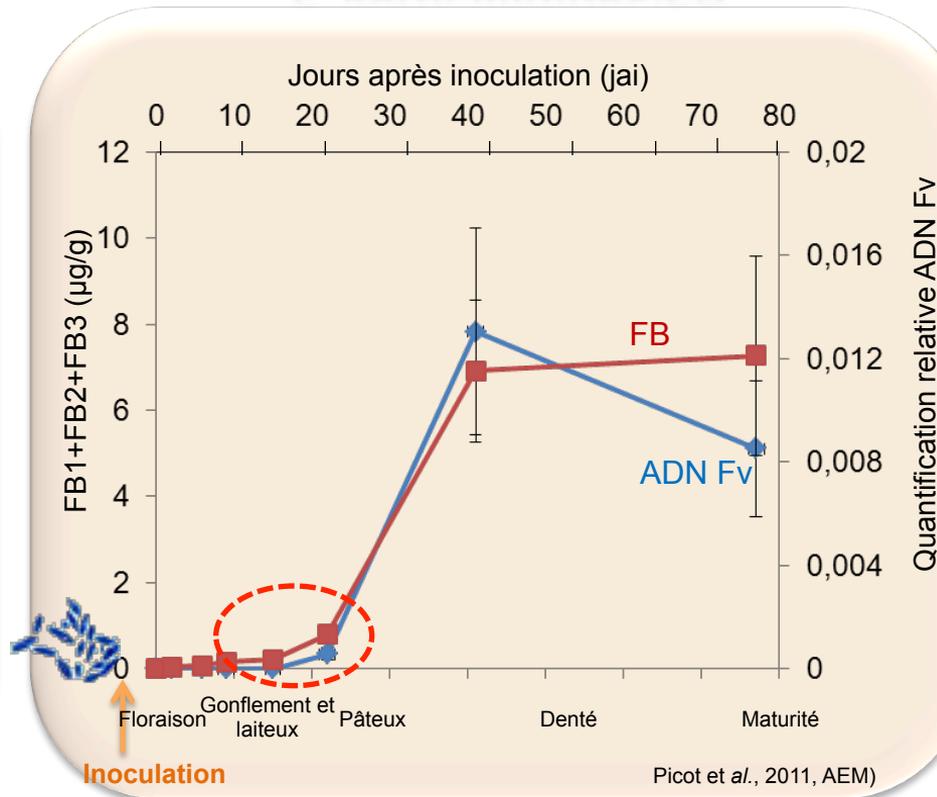
A quel moment du développement du grain s'initie la toxinogénèse ?

Cinétique d'infection et d'accumulation de toxines *in planta*

F. graminearum/TCTB



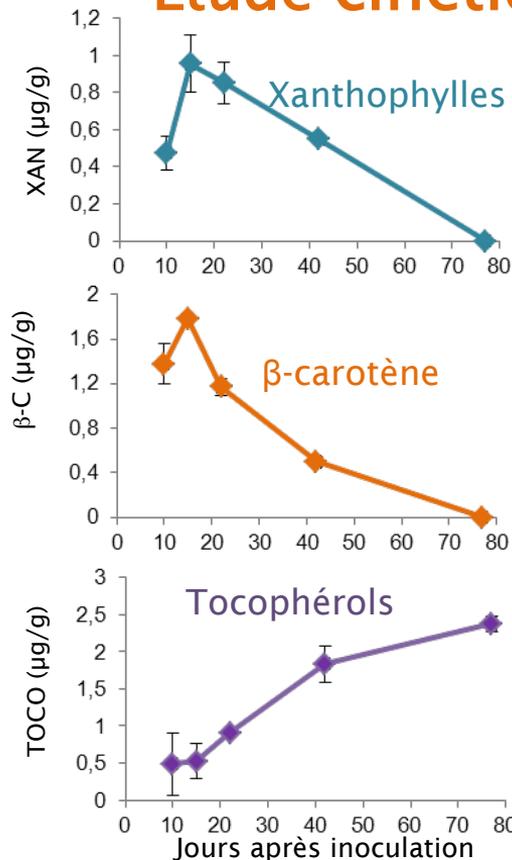
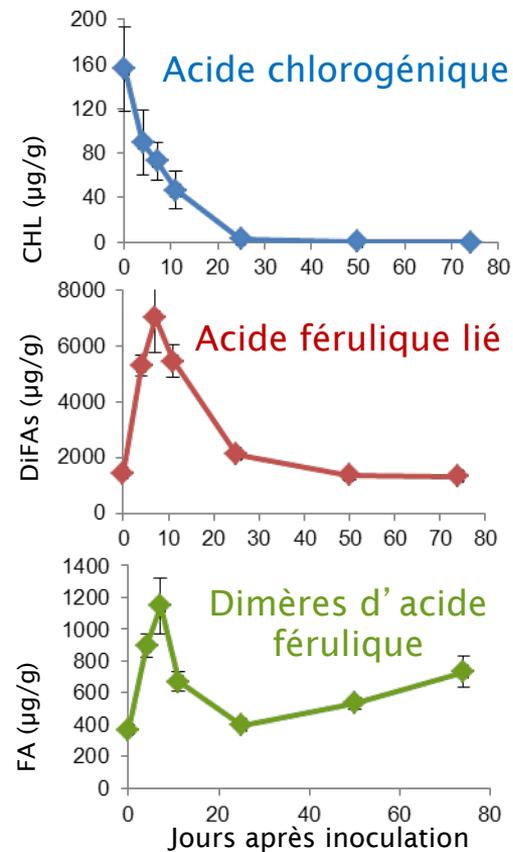
F. verticillioides/FB



● La toxinogénèse s'initie aux stades précoces : stades de gonflement et laiteux

Quels sont les antioxydants rencontrés par Fusarium lors de sa progression dans l'épi?

Etude cinétique au champ

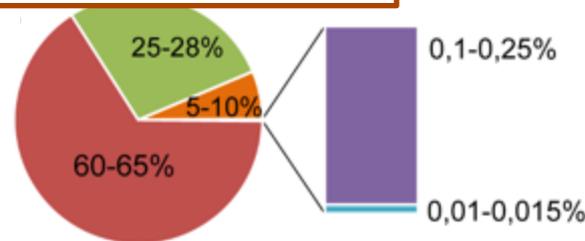
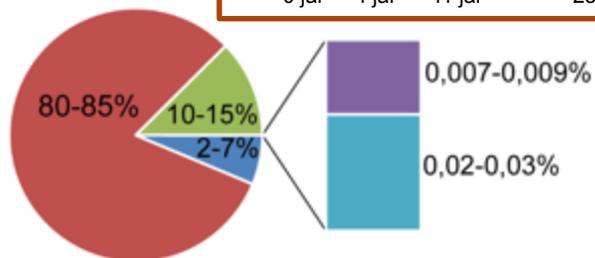


- Les teneurs max en phytomicronutriments sont quantifiées aux stades précoces, au moment où la toxinogénèse s'initie

- Exception : les teneurs en tocophérols augmentent au cours du remplissage du grain



Les principaux phytomicronutriments aux propriétés antioxydantes du maïs



Stade précoce

Stade mature

- Acide chlorogénique
- Acide férulique
- Dimères d'acide férulique
- CFP+DFP
- Tocophérols
- Caroténoïdes

- La composition en phytomicronutriments évolue au cours du remplissage des grains
- Les acides phénoliques sont les phytomicronutriments prédominants

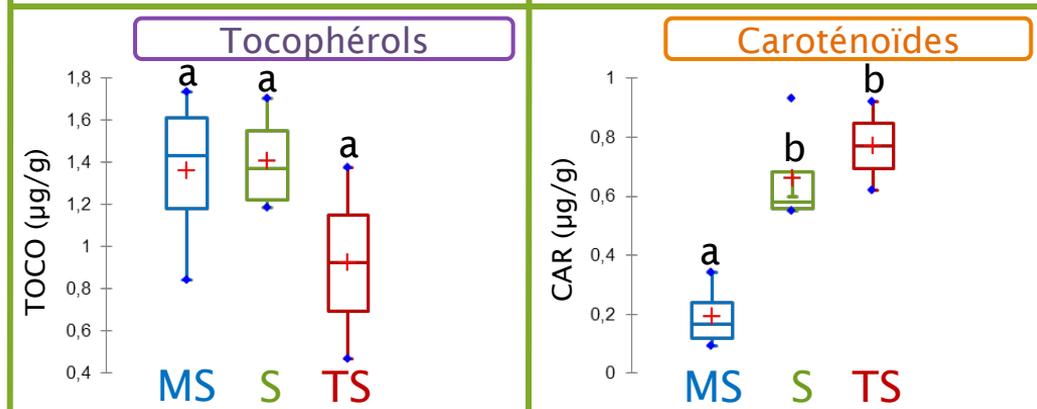
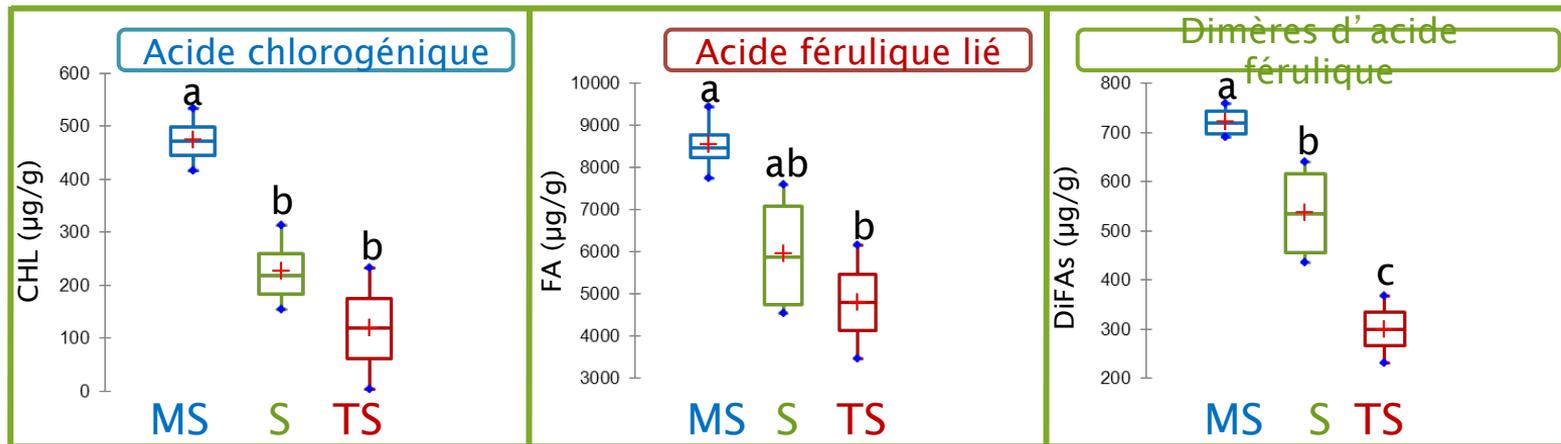
Relation entre niveau de résistance et teneurs en phytomicronutriments des grains de maïs aux stades précoces?

Relation entre résistance à la Fusariose

et teneurs en phytomicronutriments au stade précoce du maïs



➔ *Gibberella Ear Rot Resistance (F. graminearum/TCTB)*



❖ Géotypes : 10

- Très sensible (TS)
- Sensible (S)
- Moyennement sensible (MS)

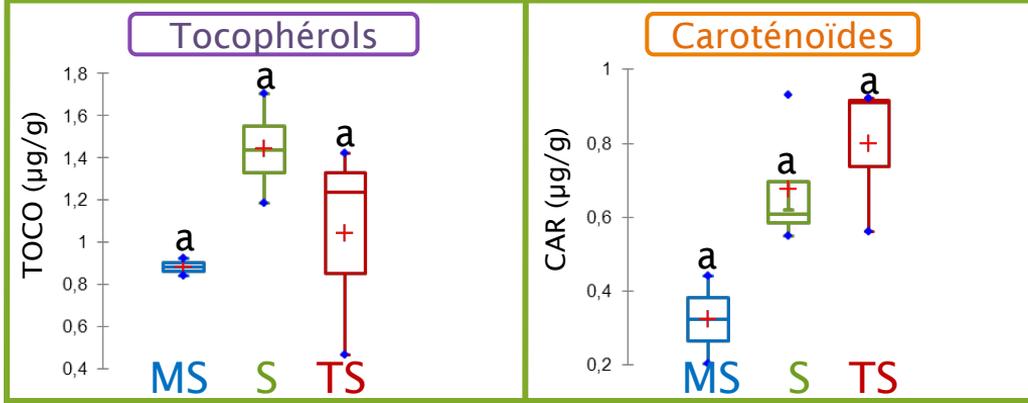
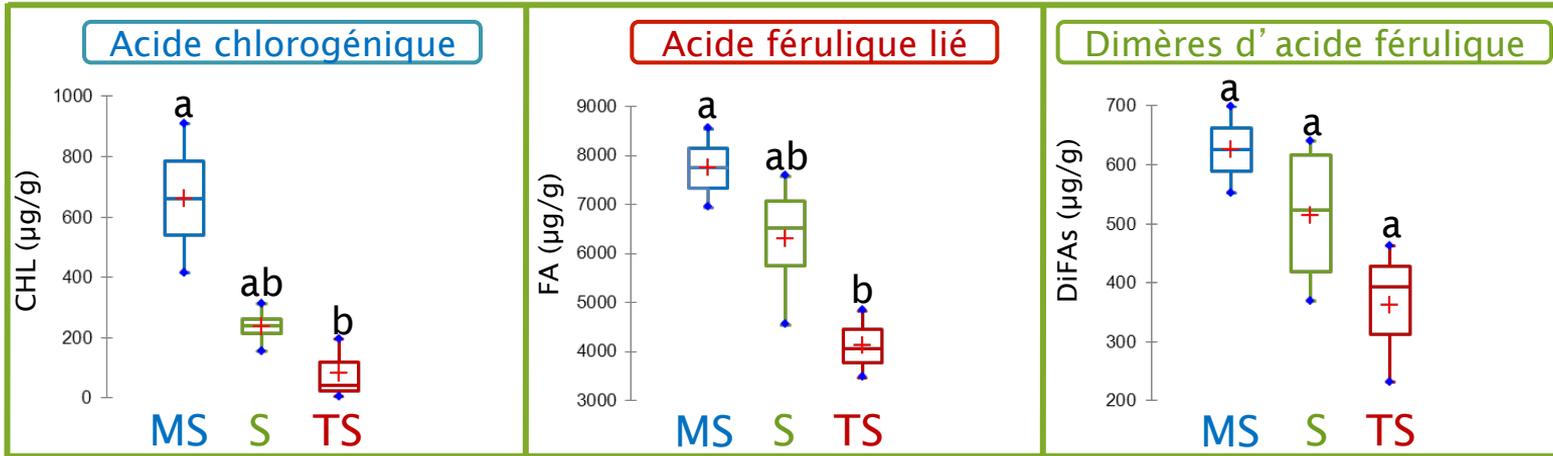
❖ Stade: laiteux

Relation entre résistance à la Fusariose



et teneurs en phytomicronutriments au stade précoce du maïs

→ *Fusarium Ear Rot Resistance (F. verticillioides/FB)*



❖ Génotypes : 9

- Très sensible (TS)
- Sensible (S)
- Moyennement sensible (MS)

❖ Stade: laiteux

(Picot et al., 2013, JAFC)

Relation entre résistance à la Fusariose



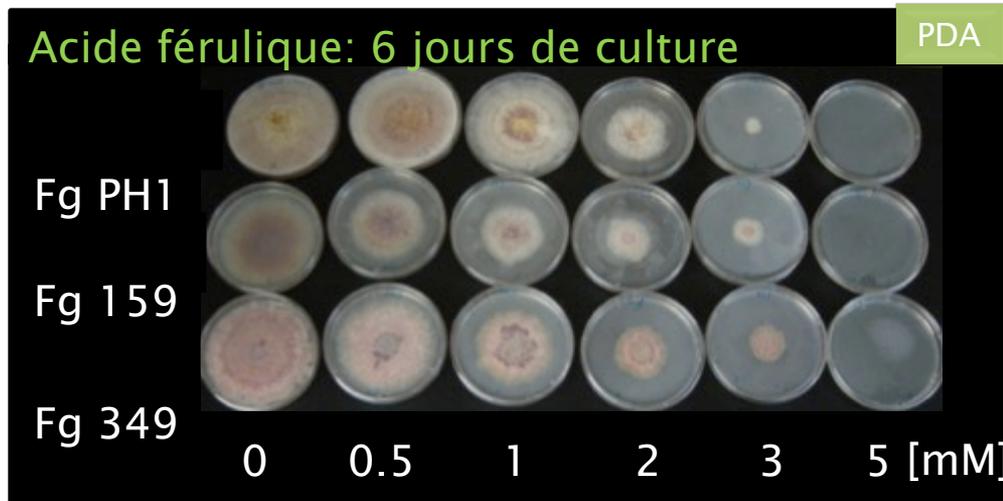
et teneurs en phytomicronutriments au stade précoce du maïs

Une des premières études qui se focalise sur les stades précoces du développement des grains de maïs

- Les acides chlorogénique, férulique et les dimères d'acide férulique : marqueurs potentiels de résistance à la Fusariose?
- Rôle des caroténoïdes dans la résistance à la Fusariose?
- Pour aller plus loin *in vitro* :
 - + Etudes des activités inhibitrices des phytomicronutriments
 - + Etudes des mécanismes d'action des phytomicronutriments

— Les phytomicronutriments des céréales modulateurs: *in vitro* du développement fongique

- Composés phénoliques testés: acide férulique, acide caféique, acide chlorogénique
- 10 souches *F. graminearum* & 10 souches *F. culmorum*



L'acide férulique est la molécule la plus active

- CMI varie entre 0 et 2 mM
- CI50 varie entre 1 et 5.3 mM

F. culmorum est moins sensible que *F. graminearum*

- Souches Fc : CI50 varie entre 1.6 et 5.3 mM
- Souches Fg : CI50 varie entre 1 et 3 mM

— Les phytomicronutriments des céréales modulateurs: *in vitro* de la toxinogénèse



Chémotype	Souche	Acide caféique	Acide chlorogénique	Acide férulique
		0,5 mM	0,5 mM	0,5 mM
DON/15ADON	Fg 349	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
DON/15ADON	Fg 156	Light Red	Light Blue	Light Blue
DON/15ADON	Fg PH1	Dark Blue	Light Blue	Dark Blue
DON/15ADON	Fg 214	White	White	White
DON/3ADON	Fc 117	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
DON/3ADON	Fc 124	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
DON/3ADON	Fc 233	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
DON/3ADON	Fc 134	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
DON/3ADON	Fc 305	Dark Blue	Dark Blue	White
NIV/FX	Fg 91	Dark Blue	Dark Blue	White
NIV/FX	Fc 319	White	White	White
NIV/FX	Fc 130	Dark Blue	Light Blue	Dark Blue
NIV/FX	Fc 337	Dark Blue	Dark Blue	White

- Les concentrations testées n'affectent pas la croissance fongique
- Les acides caféique et chlorogénique sont les meilleurs inhibiteurs de la toxinogénèse
- L'effet des molécules testées est souche dépendant



Les phytomicronutriments des céréales modulateurs: *in vitro* de la toxinogénèse



- Les concentrations testées n'affectent pas la croissance fongique

GAYEP



Souche	CAF	CHL	FER	COUM	LUT	ZEA	β -C	α -TOCO
	1 mM	0,5 mM	1 ou 0,5 mM	1 ou 0,5 mM	0,7 μ M	0,7 μ M	0,4 μ M	0,1 mM
Fv 62					NT	NT	NT	NT
Fv 63								
Fv 64								
Fv 444	NT		NT	NT				

Inhibition  Pas d'effet Activation

NT – Non testé

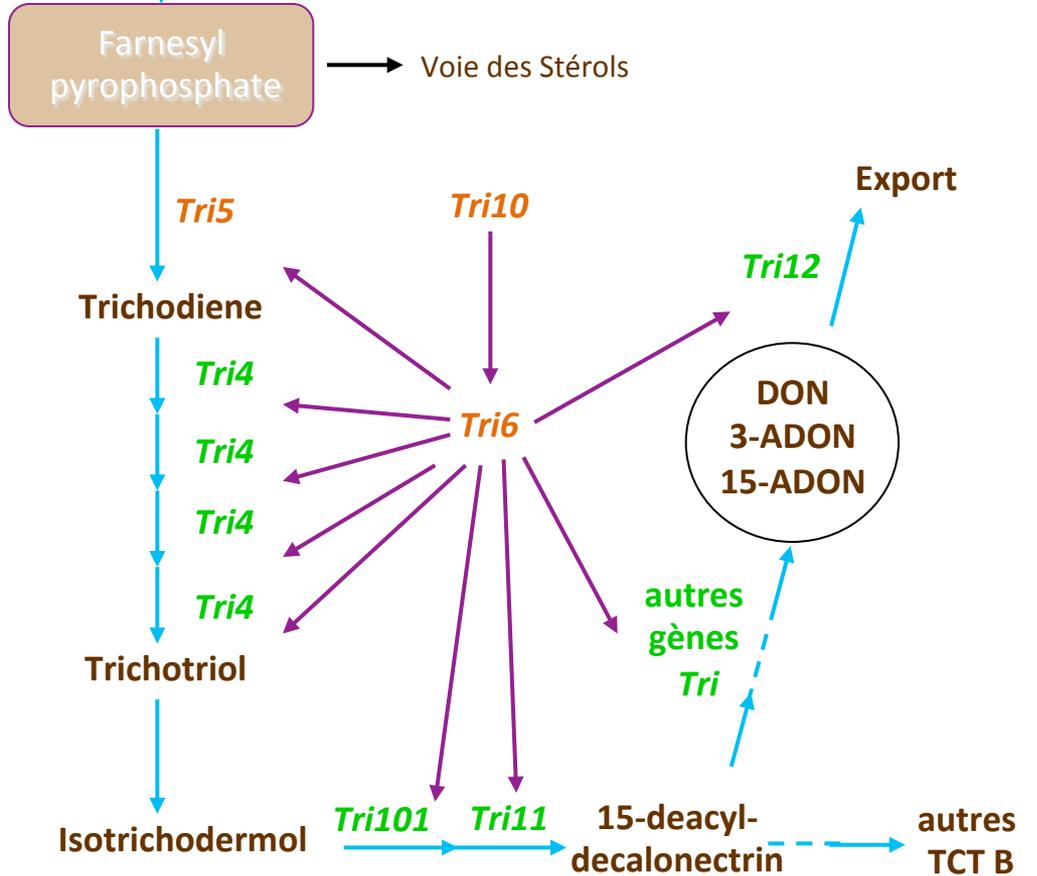
- CAF, CHL, FER, COUM & α -TOCO sont les meilleurs inhibiteurs de la biosynthèse des fumonisines
- L'effet des molécules testées est souche dépendant

Voies de biosynthèse



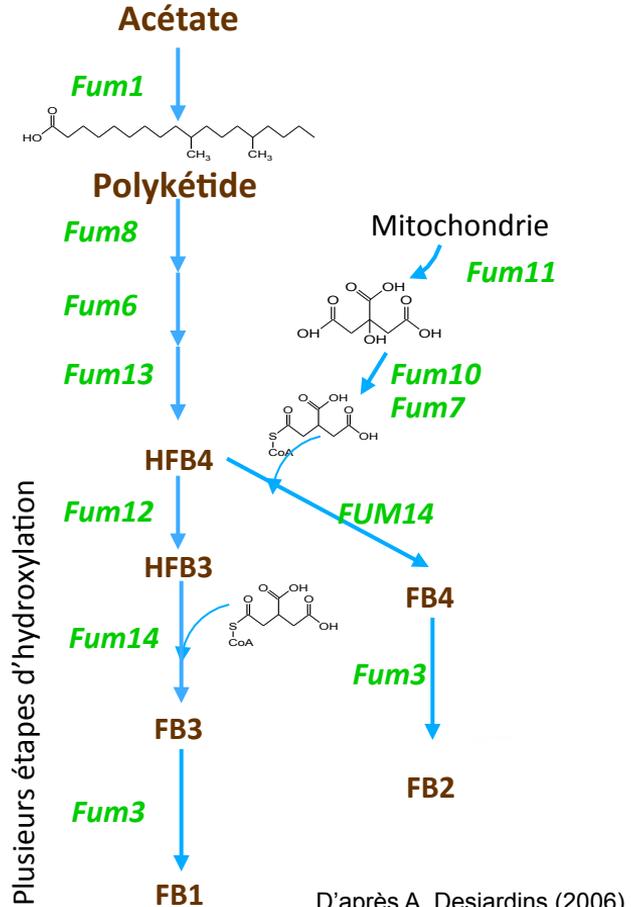
Voie des isoprénoïdes

Trichothécènes



D'après Tag *et al.* (2001)

Fumonisines B



D'après A. Desjardins (2006)

Mécanisme de modulation de la toxino-génèse par les phytomicronutriments



Les acides phénoliques modulent l'expression des gènes

Molécules candidates

FA (0,5 mM)
CAF (0,5 mM)
FA (0,25 mM) + CAF (0,25 mM)
Témoin



Souches :

Fg 91 (NIV/FX)

Fc 117 (DON/3-ADON)

régulation de
l'expression des gènes
TRI et **FUM**

Molécules candidates

FA (0,5 mM)
CAF (0,5 mM)
CHL (0,5 mM)
Témoin



Souche: Fv 63 (FB)

Expression du gène *Tri5* (7 jours)

	CAF	FER	CAF+FER
Fg 91	↘↘	-	-
Fc 117	↘↘	-	-

Expression du gène *Fum1* (7 jours)

	CAF	FER	CHL
Fv 63	↘↘	↘	↘

Mécanisme de modulation de la toxino-génèse par les phytomicro-nutriments



L'effet des acides phénoliques est lié à leurs propriétés antioxydantes?

DON/ADON

NIV/FX

Régulation globale de l'expression

	CAF	FER
<i>Catalase</i>	↗	↗
<i>MnSOD</i>	↘↘	↘
<i>Catéchol-dioxygénase</i>	↗↗	↗↗

- L'expression des gènes qui codent pour les enzymes de détoxification est affectée par le traitement avec les acides caféique et férulique

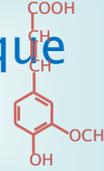
L'ajout des acides phénoliques modifie la réponse au stress oxydant

Conclusion



Entités modulatrices

Acide chlorogénique
Acide férulique
DiFAs



?

Etape suivante :
mécanismes d'inhibition de la
toxinogénèse (transcriptome)

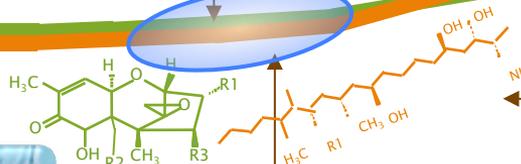
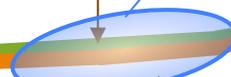
Biomarqueurs pour
sélection variétale?

Etape suivante :
approche métabolomique

Infection des grains par
Fg ou *Fv*



Passage par les
canaux des soies



Biosynthèse des
toxines

Fort niveau de toxines

inoculation



Floraison



Stades de
gonflement et laiteux



Pâteux



Denté

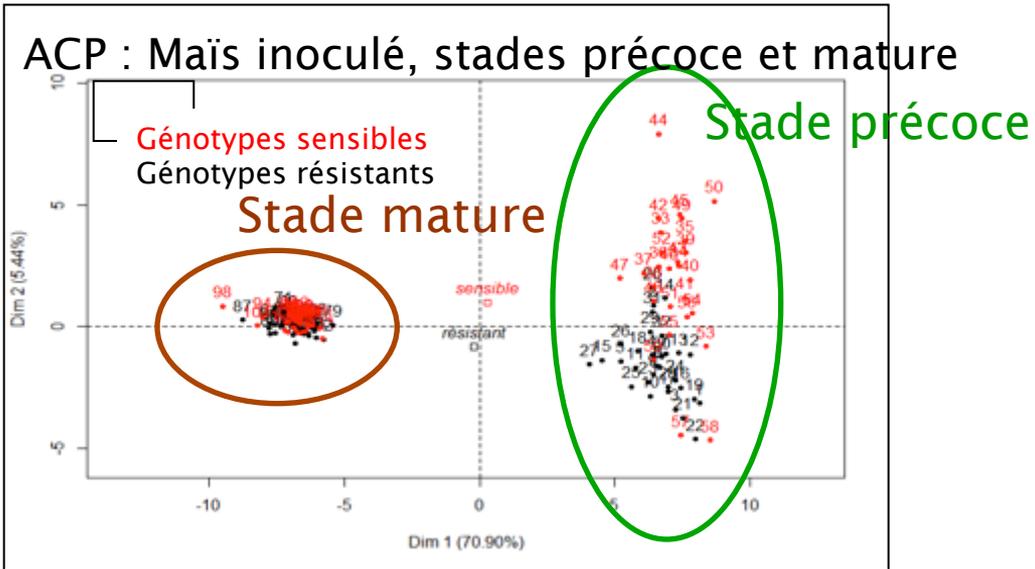


Maturité

Recherche de marqueurs de résistance à la fusariose: approche métabolomique

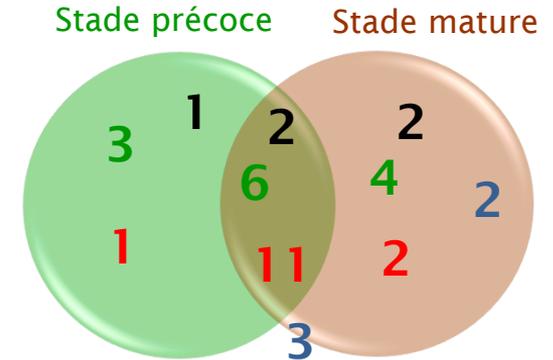


Analyse par RMN ^1H



Séparation selon le stade

Stade précoce : séparation selon niveau de résistance



Métabolites identifiés

- Sucres
- Acides organiques
- Acides aminés
- Autres



- ❖ Christian BARREAU
- ❖ Florence RICHARD-FORGET
- ❖ Laëtitia PINSON-GADAIS
- ❖ Nadia PONTS
- ❖ Gisèle MARCHEGAY
- ❖ Marie-Noëlle VERDAL-BONNIN
- ❖ Christine DUCOS
- ❖ Françoise TURTAUT
- ❖ Enric ZEHRAOUI
- ❖ Et le reste de l'équipe

Merci pour votre attention



- ❖ Nadia Pons
- ❖ Anne-Laure Boutigny
- ❖ Sébastien Pons
- ❖ Jawad Merhej
- ❖ Adeline Picot
- ❖ Denis Dalié
- ❖ Mathilde Montibus
- ❖ Léa Gauthier



ARVALIS
Institut du végétal



MONSANTO
imagine

GRUPE
EURALIS

