

Approche multicontaminants :

Impact d'une contamination des sols en Cadmium sur la sensibilité des grains de blé à la contamination en mycotoxines

L. PINSON-GADAIS⁽¹⁾, S. CLAUDE⁽¹⁾, M. BERNARD⁽¹⁾, V. ATANASOVA-PENICHON⁽¹⁾, C. DUCOS⁽¹⁾,
M-N. VERDAL-BONNIN⁽¹⁾, L. DENAIX⁽²⁾, J-Y. CORNU⁽²⁾, F. RICHARD-FORGET⁽¹⁾



(1) INRA UR 1264 MYCSA - Mycologie et Sécurité des Aliments – 71, av. E. Bourlaux BP n°81 - 33883 Villenave d'Ornon

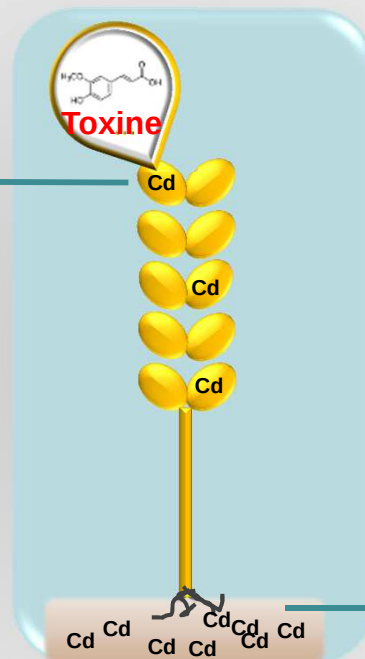


(2) INRA UMR 1391 ISPA - Interaction Sol Plante Atmosphère, "Biogéochimie des Éléments Traces" - 71, av. E. Bourlaux BP n°81 - 33883 Villenave d'Ornon

HYPOTHÈSE I

Métaux dans les grains → un facteur modulateur de la production de mycotoxines:

- Mg^{2+} → l'expression des gènes de biosynthèse des trichothécènes (Pinson-Gadais et al., 2008)
- Induction d'un stress oxydant dans les cellules fongiques, induction de la biosynthèse de toxines par un stress oxydant (Ponts et al., 2007)

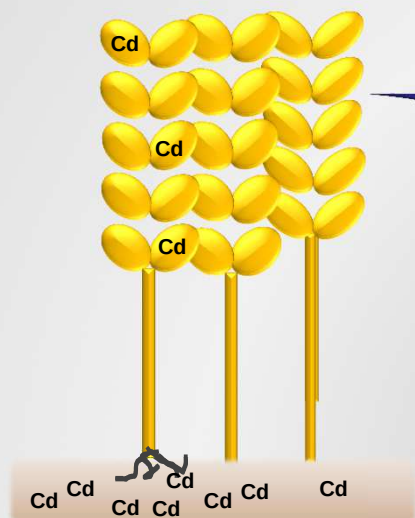


HYPOTHÈSE II

Métaux dans le sol induit un stress oxydant dans les tissus végétaux et en particulier des niveaux supérieurs en H_2O_2 , élément démontré comme « activateur » de la biosynthèse de trichothécènes

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION SUR GRAINS

blé dur



Placettes de sols sableux

Cd (de 0,2 à 25 mg/kg)



Blé Dur
≠ [Cd]^o



Inoculation des blés récoltés

F. graminearum

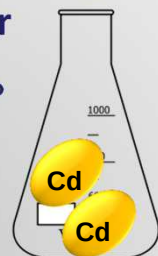
INRA 215

DON/15ADON

F. culmorum

INRA 337

NIV/FX



25°C
obscurité
pendant 21 jrs

Quantification:

- Développement fongique (Ergostérol)
- Toxines

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION SUR GRAINS

Parcelle	Cd mg/kg (sol)	Cd mg/kg (grain)
Ambares 20T	0.28	0.42
Ambares 6T	0.85	0.52
Ambares P5 B10	1.6	0.62
Ambares P18 B10	1.97	0.50
Ambares P7 B100	6.7	0.64

[Cd][°] = 7 mg/kg

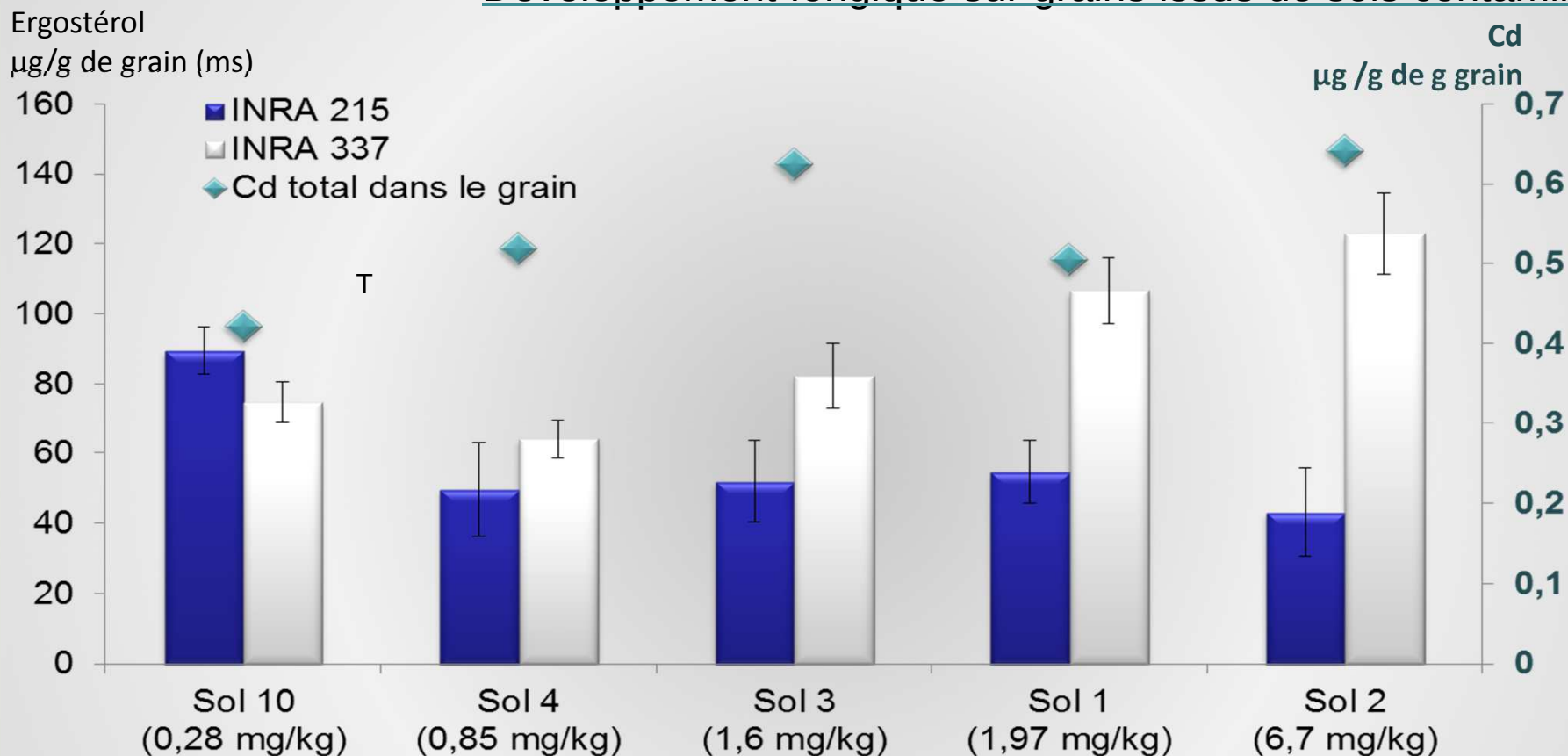


[Cd][°] = 23,6 mg/kg



HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION SUR GRAINS

Développement fongique sur grains issus de sols contaminés



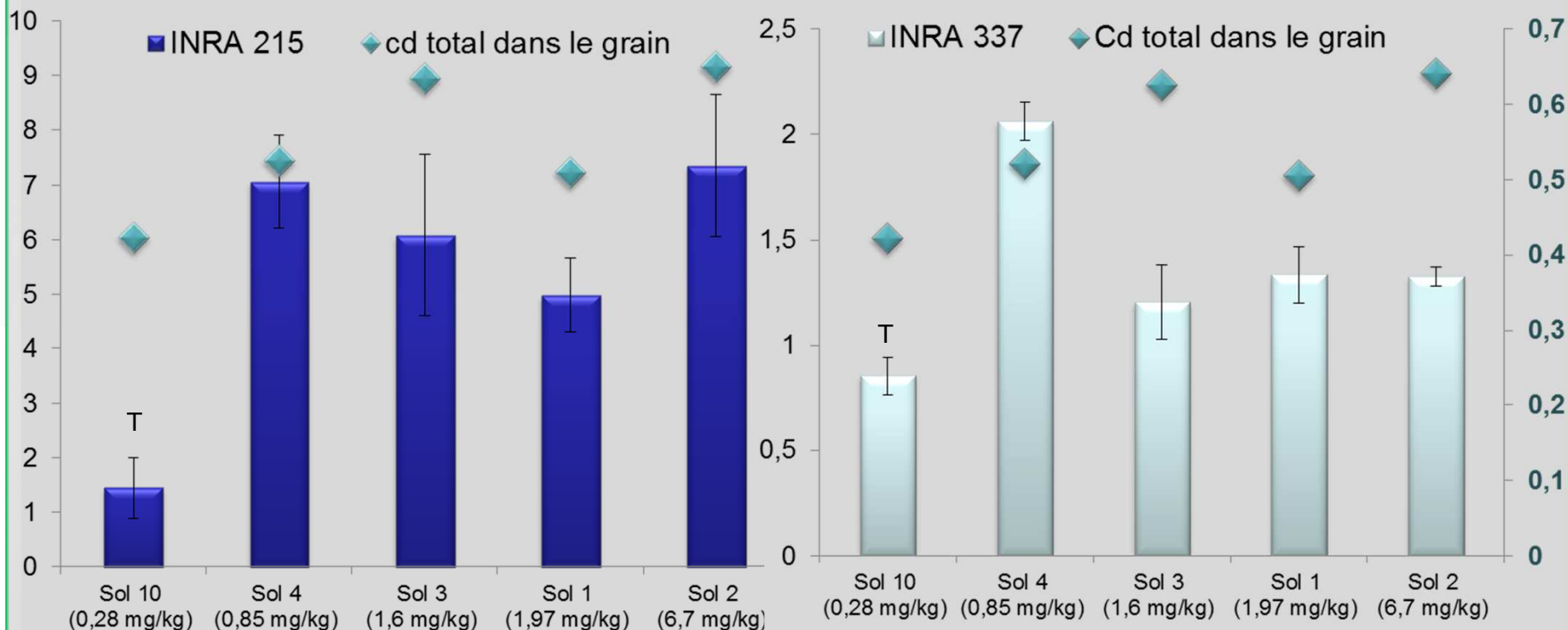
- Développement fongique $\neq$ selon le lot de grain et la souche.
- ↘ (/ lot témoin) pour la souche DON/ADON (INRA 215)
- ↗ sur lots issus de sols très contaminés pour la souche NIV/FX (INRA 337)
- Pas de corrélation biomasse /Cd grain.

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION SUR GRAINS

Productivité en toxines (toxines/u de biomasse) sur grains issus de sols contaminés

Productivité:
TCTB/Ergosterol

Cd µg/g de grain



- Productivité en toxines / Témoin pour la souche DON/ ADON
- Pas de corrélation avec les teneurs en Cd des grains

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION SUR GRAINS

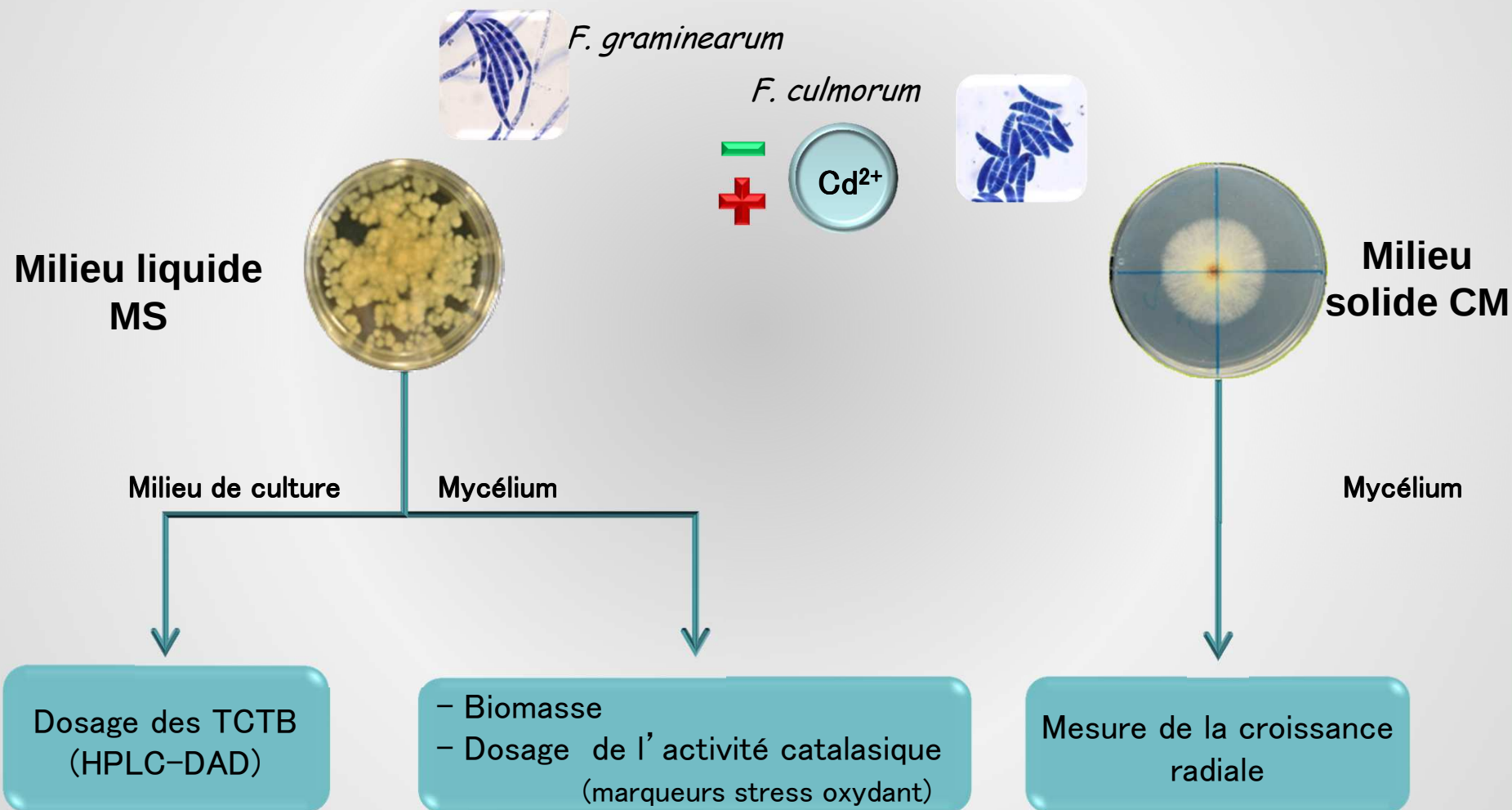
Conclusion des expérimentations sur grains

L'inoculation de *F. graminearum* sur des grains issus de sols contaminés conduit à des développements et productions de toxines différents selon le lots de grains et la souche considérée :

- On observe au niveau du développement fongique :
 - pour la souche NIV/FX,
 - pour la souche DON/ADON sur les grains issus de sols très contaminés.
- La comparaison des teneurs en toxines du lot témoin et autres lots indique une ➤ de la productivité, significative pour le DON, plus faible pour la NIV .
- Les effets observés ne sont pas corrélés aux teneurs en Cd des grains
 - Effet des autres éléments traces?
 - Modifications du grain induites par le Cd dans le sol?

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Etude *in vitro*: effet du cadmium sur la croissance fongique et production de TCTB



HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Effet Cd sur la croissance de *F. graminearum* et *F. culmorum* en milieu solide

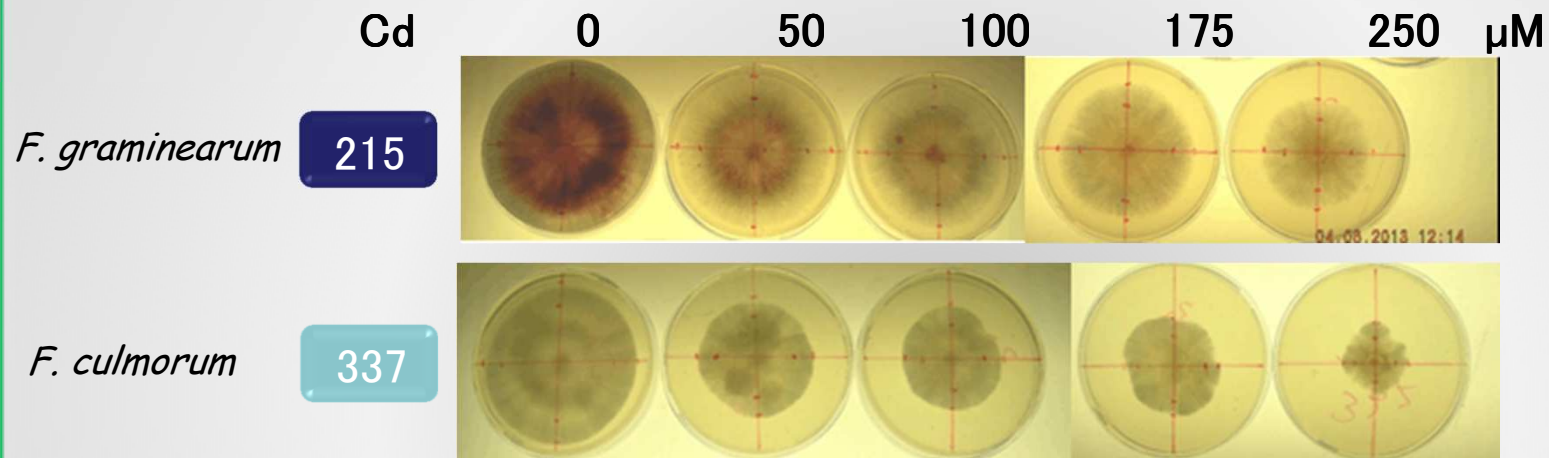
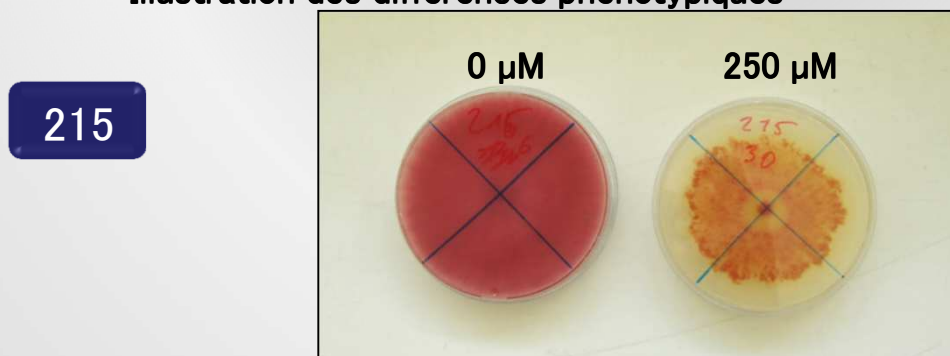


Illustration des différences phénotypiques



HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Effet Cd sur la croissance de *F. graminearum* et *F.culmorum* en milieu solide

En milieu solide

Résultats de CI_{50} pour deux types d'inoculum

Souche	Type d'inoculation	CI_{50} (μM)
INRA 215 (DON/15ADON)	Implant	229±16.5
	Spores	>250
INRA 337 (NIV/FX)	Implant	53.2±14.3
	Spores	172.2±20.7



Réalisation d'implant de milieu PDA

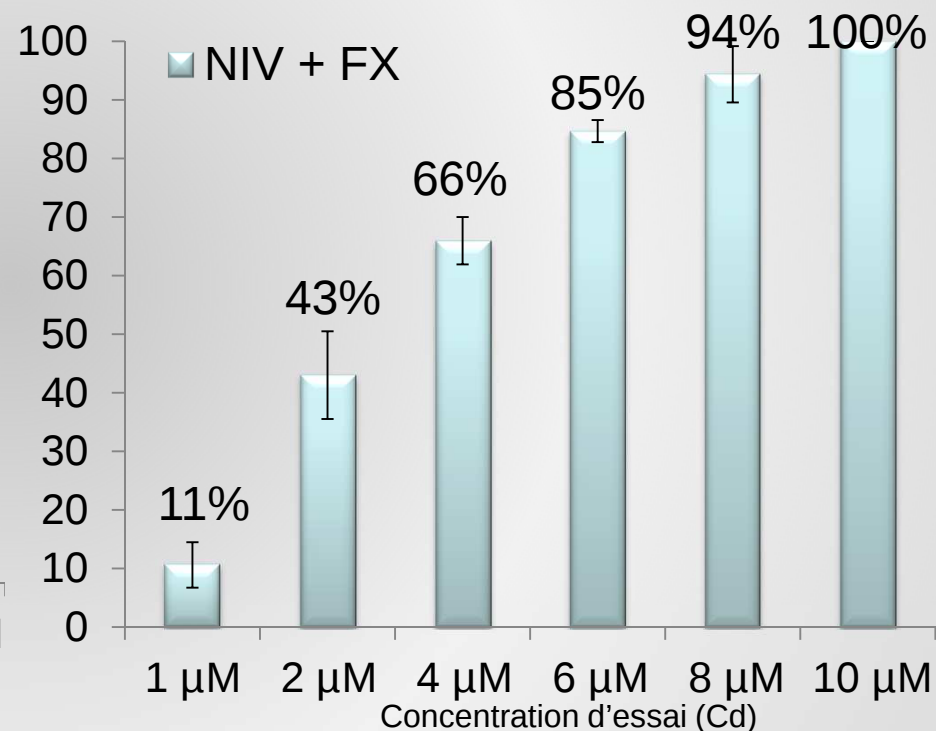
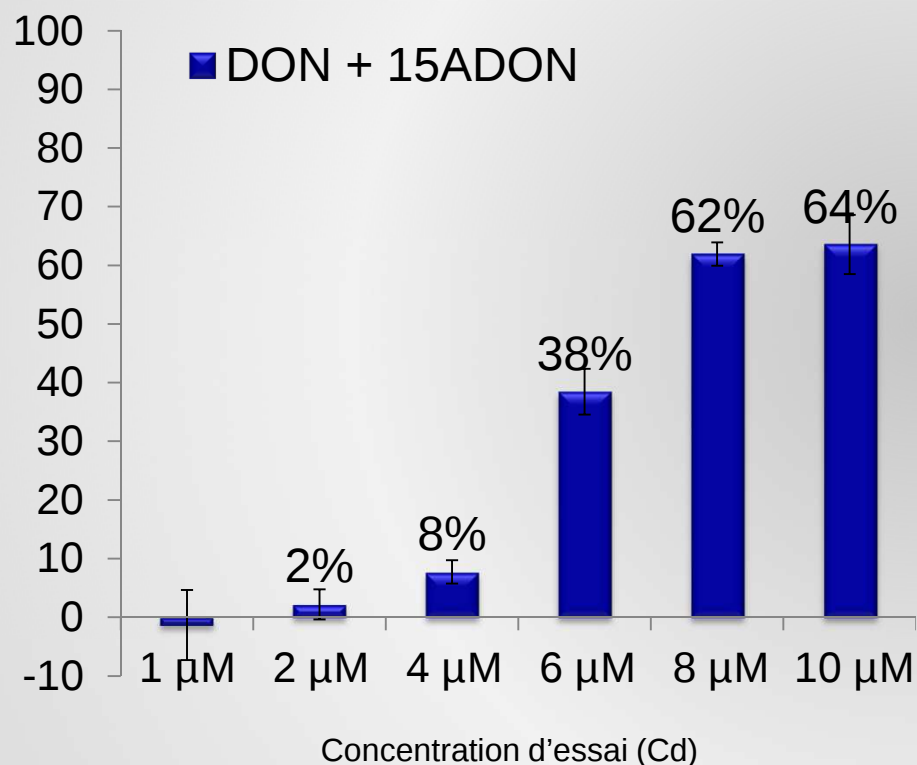
En milieu liquide: CI_{50} de l'ordre de 10 μM

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Effet Cd sur la production de toxines

F. graminearum 215

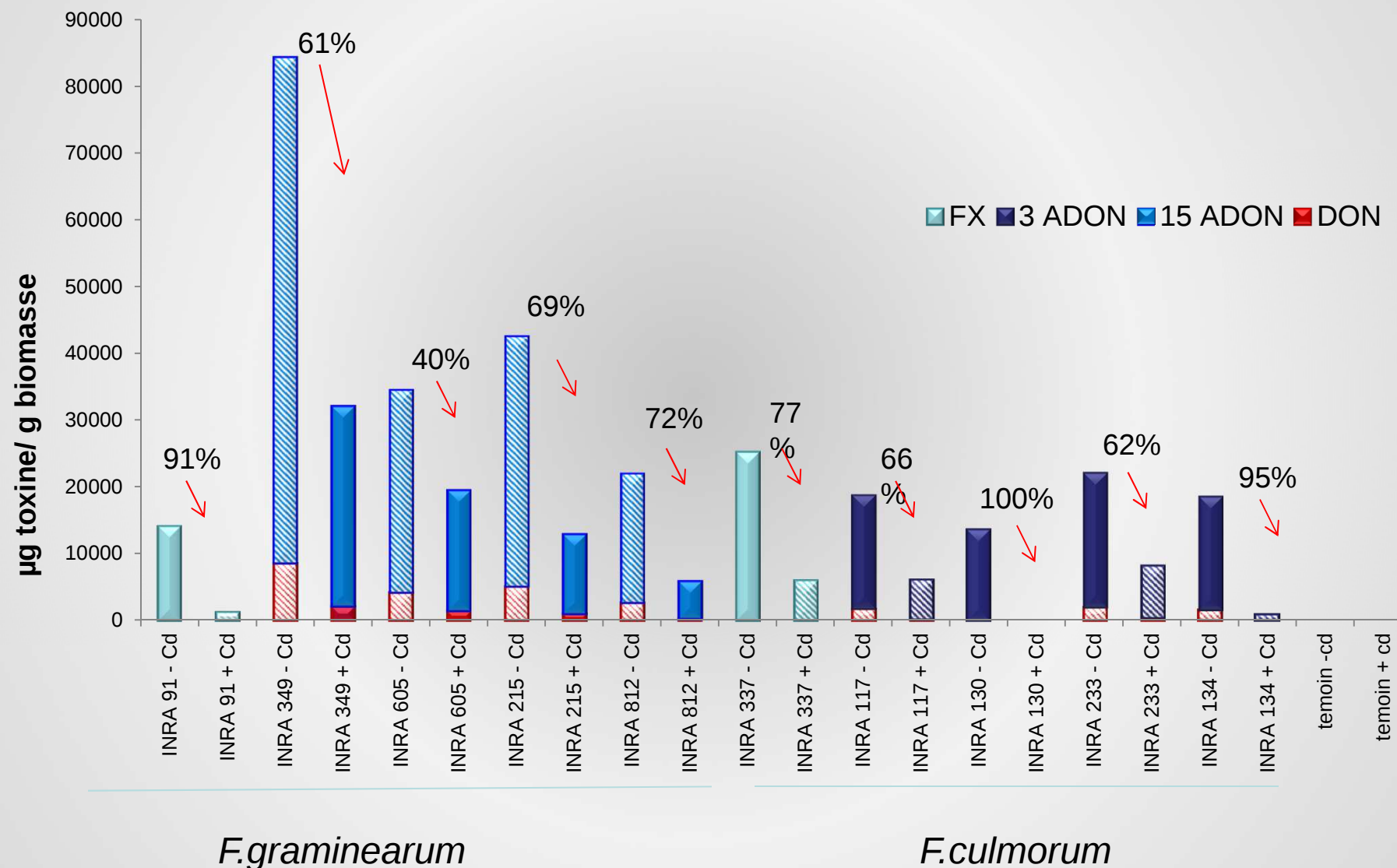
F. culmorum 337



Inhibition de la productivité (%) à t= 15J

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Effet Cd à 4μM sur la production de toxines
après 12 jrs de culture



HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Conclusion des expérimentations In Vitro

* Cd inhibe la croissance fongique, sensibilité différente des souches.
 CI_{50} proches de 200 μM en milieu solide et 10 μM en milieu liquide

* Cd inhibe significativement la production de toxines, quelle que soit l'espèce, la souche ou le chémotype.
 Sensibilité différente des souches: % d'inhibition entre 40 et 100 % avec 4 μM Cd

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

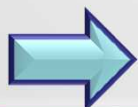
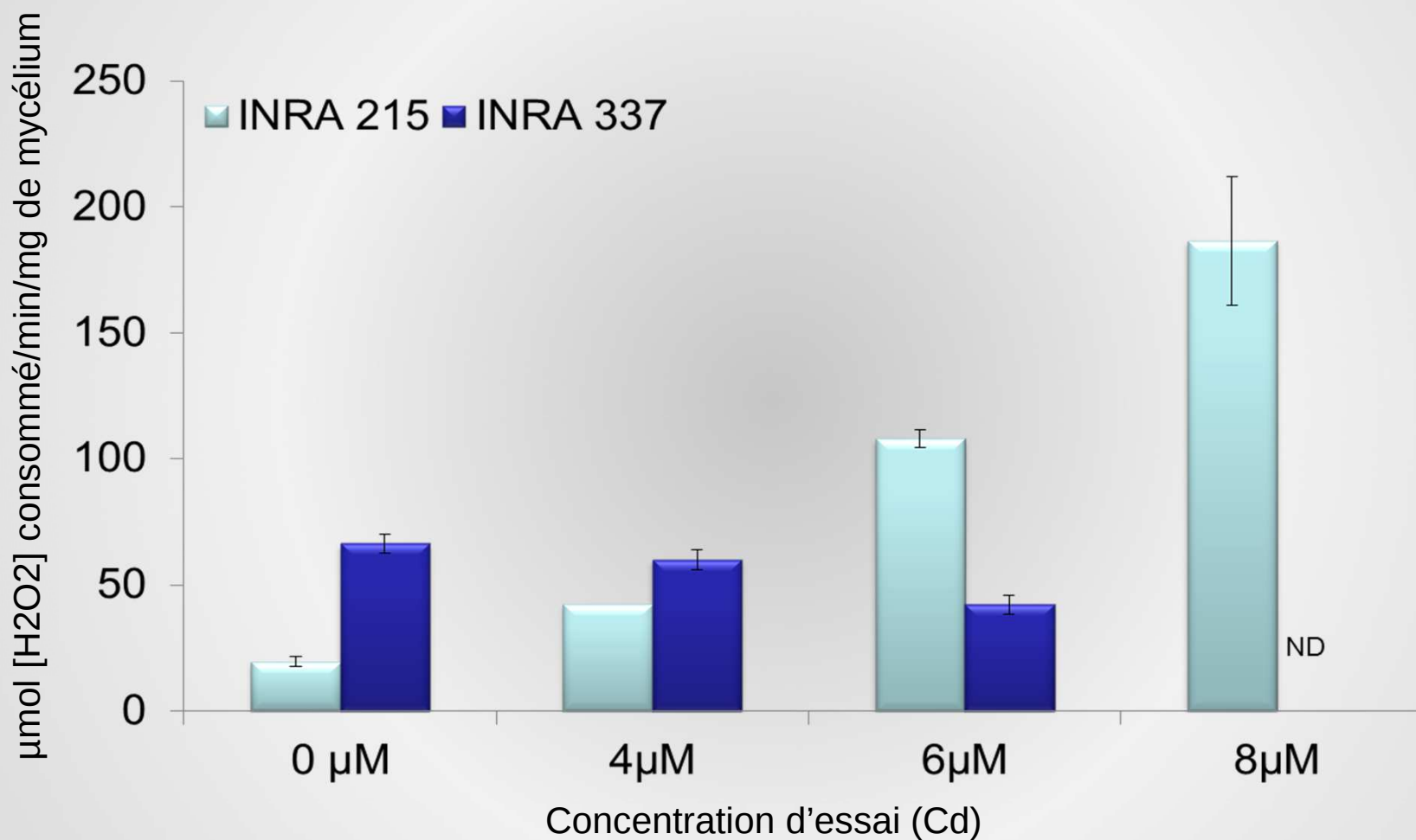
Quels sont les mécanismes mis en jeu dans l'effet de Cd sur croissance et toxinogénèse de *F. graminearum*?

- Modulation des activités enzymatiques impliquées dans la réponse au stress oxydant (Exemple des catalases)?
- La Modulation de la toxinogénèse en présence de Cd serait un élément de réponse de *F. graminearum* au stress oxydant induit par Cd: utilisation de souches affectées dans leur réponse au stress oxydant (délétées pour la facteur FgAP1)?

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Modulation de l'activité catalase par le Cadmium

Dosage de l'activité enzymatique catalase, souches INRA 215 et 337 à t= 4 J



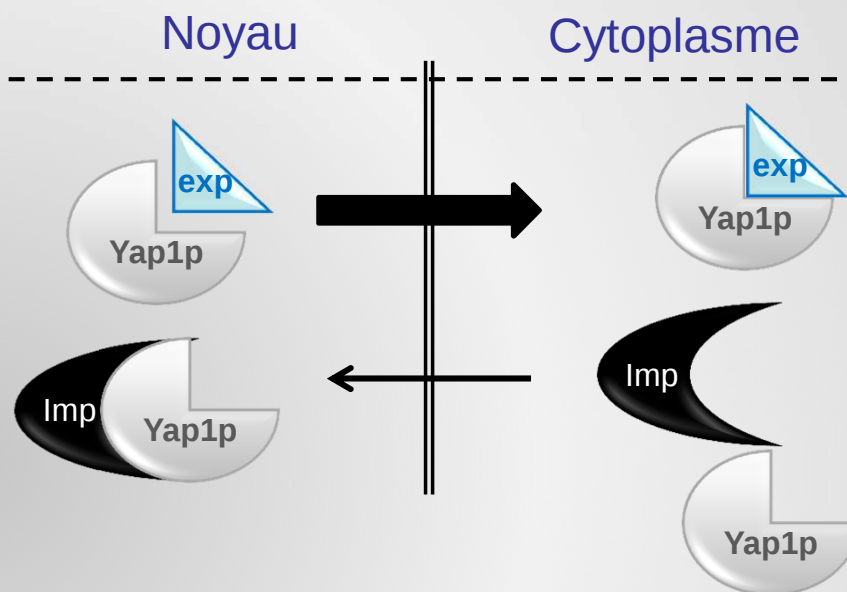
Induction d'un stress oxydant chez INRA 215

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

FgAP1/Yap-1p (levure) et la réponse au stress oxydant chez *F. graminearum*

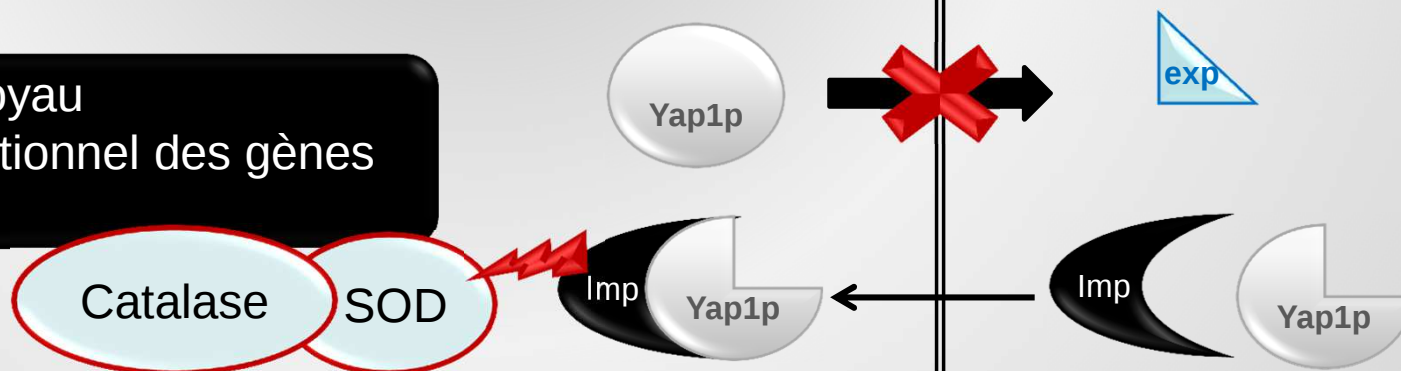
Conditions normales

→ Localisation cytoplasmique



Conditions oxydantes

→ Localisation au noyau
→ Contrôle transcriptionnel des gènes de détoxification



HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Etude du stress oxydant induit par le Cadmium 4 μ M à 4 et 12 jrs de culture

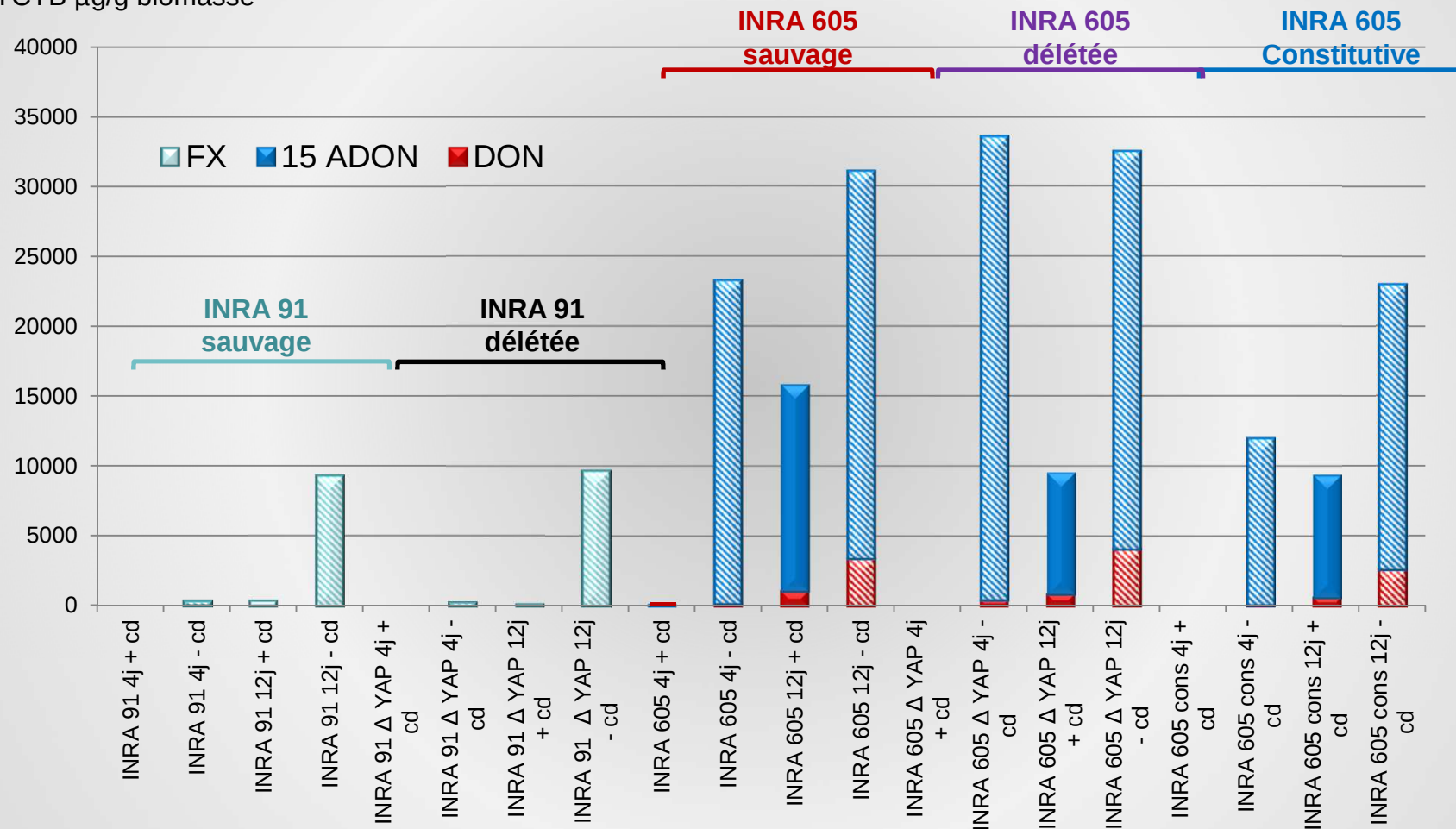
- 2 conditions : Avec ou sans Cadmium
- 2 temps : 4 jours: Biomasse, dosage TCTB, mesure expression gènes
12 jours : Biomasse , dosage TCTB.
- Mutant YAP : étude stress oxydant induit par cadmium.
- YAP connu pour être impliqué dans réponse stress oxydant.

Espèce	Souche	Chemotype
F.graminearum	INRA 91, INRA 91 Δ YAP	NIV/FX
	INRA 605, INRA 605 Δ YAP, INRA 605 constitutive	DON/ 15ADON

HYPOTHÈSE I : EXPÉRIMENTATION IN VITRO

Effet comparé du Cadmium (4 μ M) sur souches sauvages et délétées FgAP1

TCTB μ g/g biomasse



Effet Cd ne met pas en jeu la réponse au stress oxydant régulé par FgAP1



HYPOTHÈSE I : CONCLUSION

- Les souches fusariennes se développant sur des lots de blé issus de parcelles contaminées en Cd peuvent être affectées pour leur développement et productivité en toxines.
- Les différences de concentration de Cd dans les grains ne sont pas responsables des effets sur la croissance fongique et production de toxines.
 - Autres éléments traces contenus dans les grains? Modification de la composition biochimique des grains après culture sur sols contaminés?
 - Pour aller plus loin: tests avec inoculation à la floraison.
- Cette étude a mis en évidence l'effet fongitoxique du Cd vis-à-vis des *Fusarium* toxinogènes ainsi que sa capacité à moduler négativement la production de NIV/FX et DON/ADON.
 - Progresser dans l'élucidation des effets du Cd (contrôle transcriptionnel?)

Projet ANR CaDON

