

# Dernières avancées de la recherche pour une maîtrise de la contamination des céréales par les mycotoxines

F. RICHARD-FORGET , L.PINSON-GADAIS



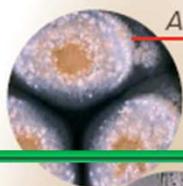
*INRA UR 1264 MYCSA - Mycologie et Sécurité des Aliments  
71, av. E. Bourlaux BP n°81 - 33883 Villenave d'Ornon*

25 % des denrées destinées à l'homme ou à l'animal sont contaminées

Champignons

Toxines

Denrées



Aspergillus

Aflatoxines,  
Ochratoxine A

Maïs, arachides, graines de coton,  
riz, haricots, lait, ensilage,  
denrées d'origine animale, raisin



Fusarium

Trichothécènes,  
Zéaralénone,  
Fumonisines

Blé, maïs, orge, riz, seigle,  
avoine, noix, tomate



Penicillium

Patuline,  
Ochratoxine A

Fruits, jus de fruits, blé, riz,  
fromage, noix, tissus d'animaux,  
ensilage, fromage, orange, citron,  
pain, cantal



Byssochlamys

Patuline

Fruits et jus de fruits, ensilage

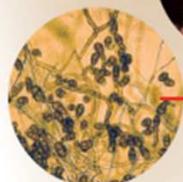


Claviceps



Alcaloïdes de l'ergot

Seigle, blé et dérivés



Alternaria

Alternariol

Fruits, légumes et produits dérivés  
de pommes et tomates, colza,  
pomme de terre





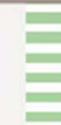
*F. graminearum*



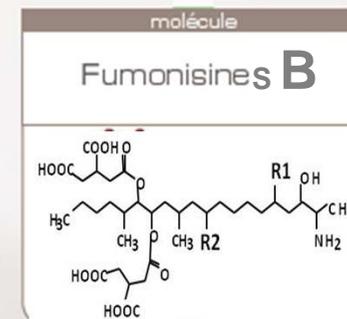
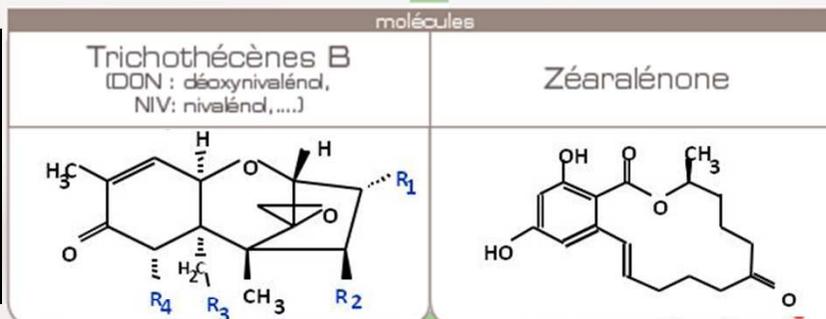
*F. culmorum*



*F. verticillioides*



	R1	R2	R2	R4
Deoxynivalenol	OH	H	OH	OH
3 Acetyl DON	OAc	H	OH	OH
15 Acetyl DON	OH	H	OAc	OH
Nivalenol	OH	OH	OH	OH
FusarenoneX	OH	OAc	OH	OH



Améliorer la maîtrise du risque « fusariotoxines » implique...

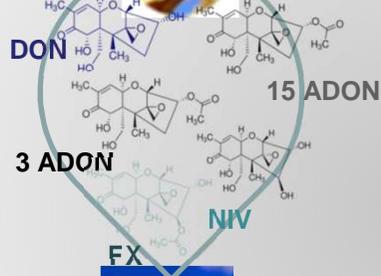
Décrypter les mécanismes et événements conduisant à la contamination des grains?



Stratégies de maîtrise



floraison



Maturité

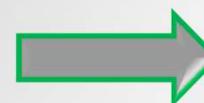
Mieux appréhender la toxicité



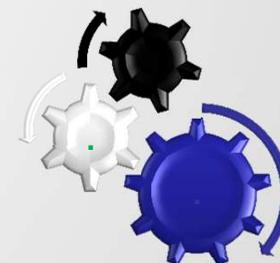
Pour une meilleure évaluation du risque



Identifier des mécanismes de détoxification

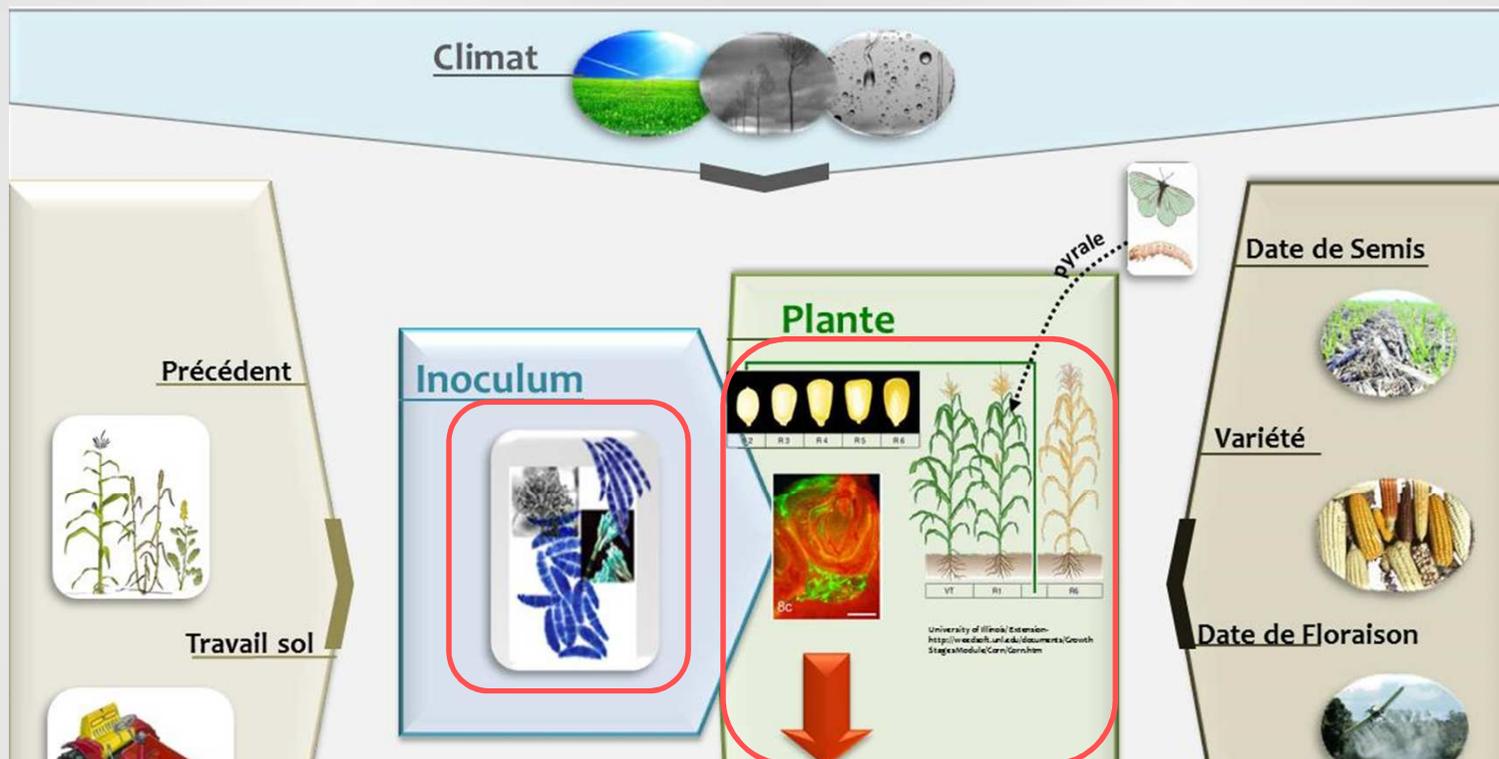


Maîtrise du risque



## Les avancées scientifiques les plus prometteuses pour une maîtrise des niveaux de contamination des grains

La bonne connaissance des facteurs climatiques et agronomiques favorisant la contamination des grains n'est pas suffisante ...



- × Deux orientations prometteuses, principales cibles des chercheurs:
- × Ecologie microbienne
- × Régulation de la biosynthèse de toxines lors de l'infection



## ANR DON & Co

Mycotoxinogénèse chez le blé, de la diversité de la microflore Fusarienne à la toxicologie



## MYCOTEK

Constitution d'une mycothèque des champignons pathogènes du blé tendre et mise au point d'outils permettant la caractérisation et la quantification de ces espèces



**REGION** Qualité Sanitaire des Aliments en Aquitaine:  
Volet Mycotoxines



## CASDAR Multicontaminants:

Gestion agronomique des sols et des résidus :  
quels impacts sur la qualité sanitaire des productions végétales de grande culture ?



## CASDAR ITA EcoFusa :

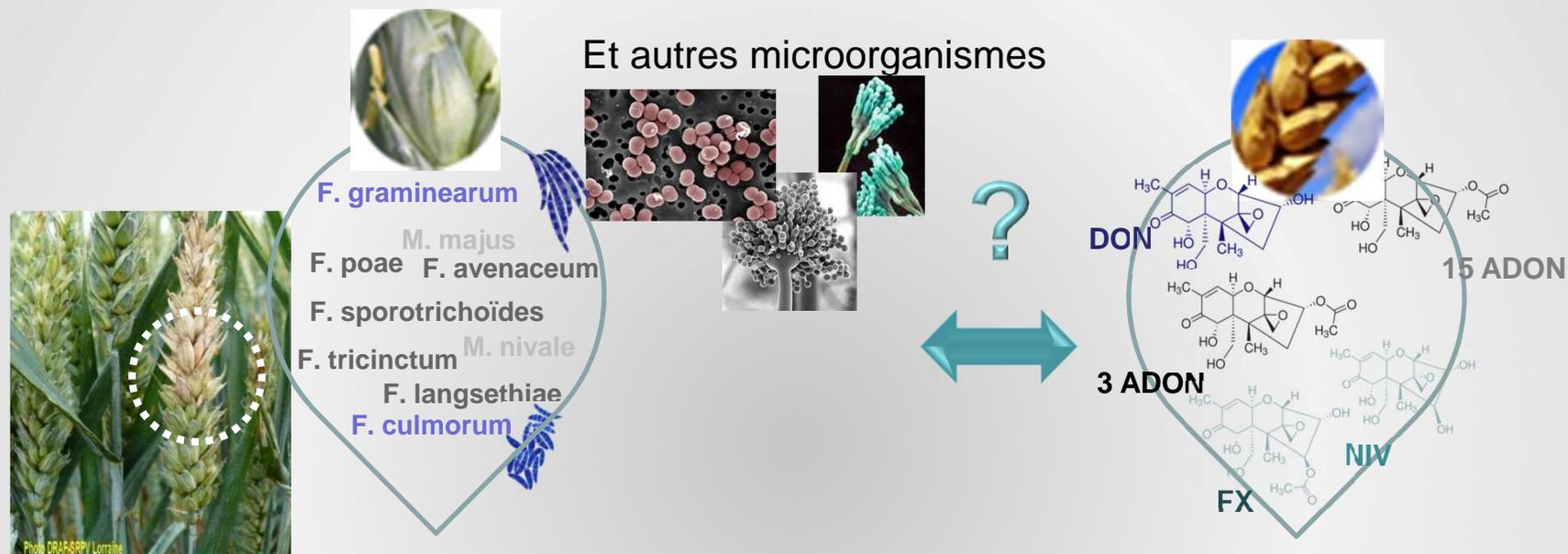
Lutte contre les fusarioses des épis de blés : de l'utilisation raisonnée des fongicides aux méthodes de luttes alternatives

---

# **Une connaissance approfondie des agents toxinogènes et de leurs interactions avec la microflore du grain**

---

## L'accumulation de toxines dans les grains est fortement modulée par la composition de la microflore de l'épi



Anticipation de nouveaux risques

Des outils moléculaires de prédiction du risque de contamination

Une optimisation des modèles de prédiction de risque

Identification d'antagonistes biologiques



ANR DON & Co

## Evaluation de l'impact de la diversité de la flore fusarienne sur les teneurs en mycotoxines des blés

### Un des objectifs majeurs du projet ANR CESA DON&Co



- **300 échantillons blé**
- Données toxines , Itinéraire technique, Paramètres pédoclimatiques

**28000  
données  
générées**

- **7 espèces fusariennes et 2 microdochium spécifiquement quantifiées**

Développement et validation d'outils moléculaire pour la quantification de ces espèces: F. graminearum , F. culmorum, F. poae, F. avenaceum, F. tricinctum , F. langsethiae, F. sporotrichioides, Microdochium nivale, Microdochium majus

**Analyse  
statistique des  
résultats**

Nature des interactions entre agents pathogènes responsables de la fusariose

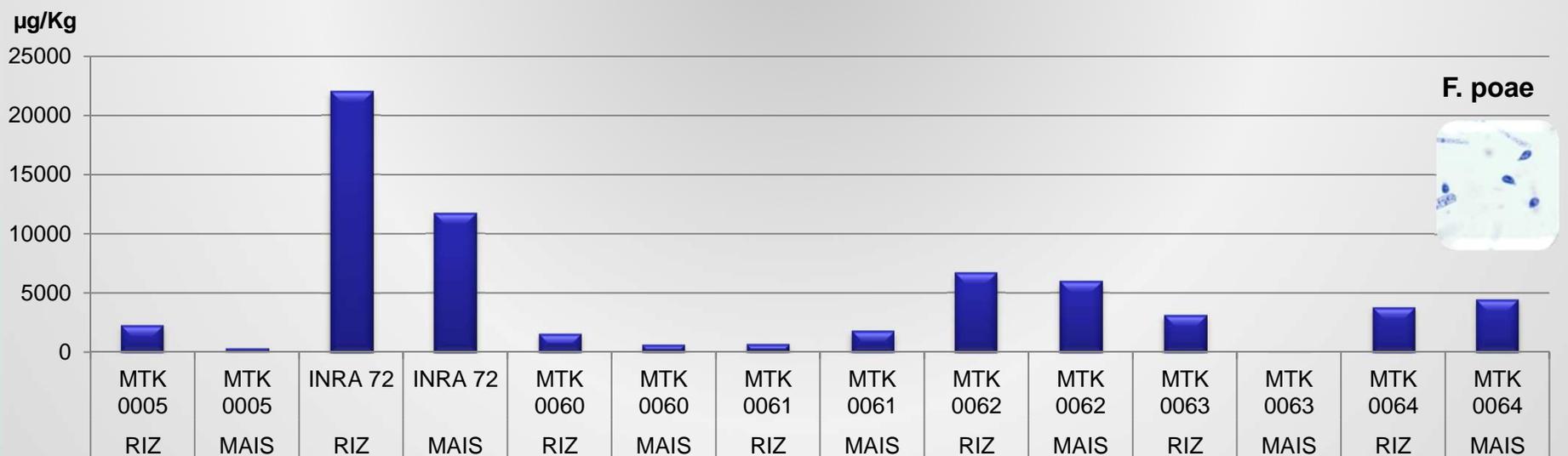
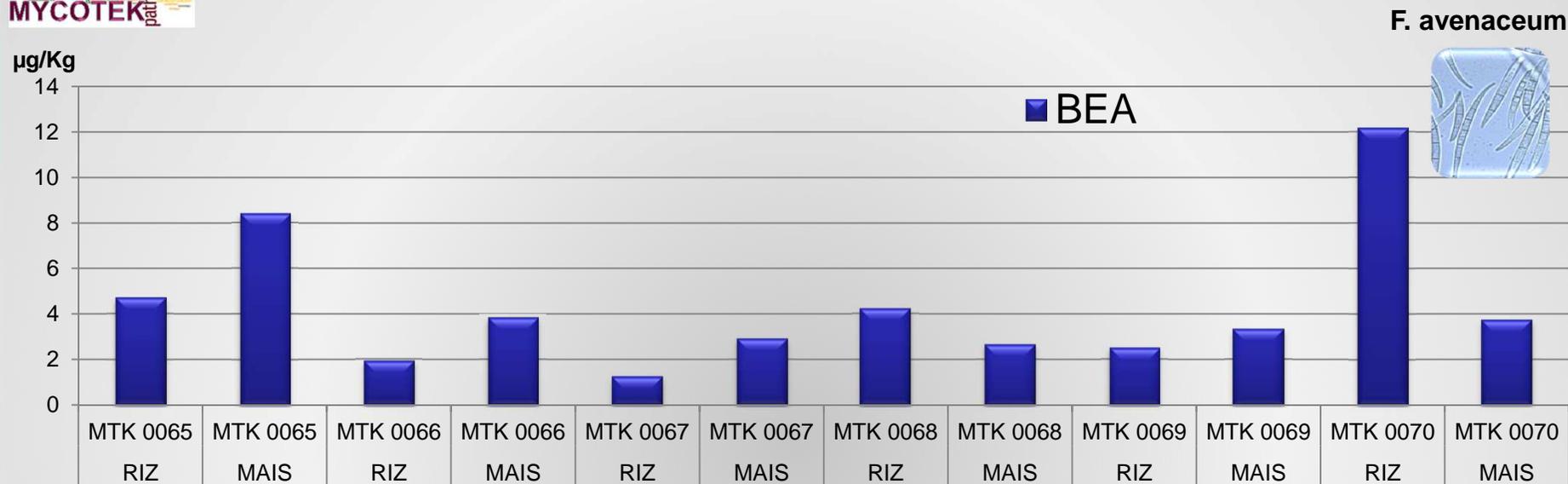
- Quel impact sur la teneur en mycotoxines des grains de blé
- La microflore est-elle différente entre l'espèce blé tendre et blé dur ?
- Lien itinéraire technique Flore/Toxines ?
- Quel est l'effet des conditions pédoclimatiques sur la microflore du grain ?







## Beauvericin production by *F. poae* and *F. avenaceum*





❑ **Moniliformin** production by *F. poae* et *F. avenaceum*

➔ ***F. avenaceum* and *F. poae* strains do not produce moniliformin**

❑ **In short**

Species	ENNS				Nb producing strain	BEA	Nb producing strain	MON
	A1	A	B	B1				
<i>F. poae</i>	0	+	0	0	5/6	+++++	6/6	0
<i>F. avenaceum</i>	++	++	+++++	+++++	3/6	+	6/6	0

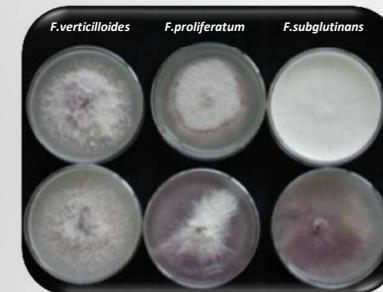


REGION

- Identification des espèces de Fusarium complexes impliqués dans l'accumulation fumonisines B dans des conditions naturelles
- Interactions entre les espèces
- Mieux comprendre l'environnement d'installation de ces quatre espèces de complexe fujikuroi Gibberella

MAÏS

<i>F. graminearum</i>	TCTB, ZEA
<i>F. verticillioïdes</i>	FUM, MON
<i>F. proliferatum</i>	FUM, MON, BEA
<i>F. subglutinans</i>	BEA, MON, rare FUM



*F. subglutinans* ⇨ *F. temperatum*

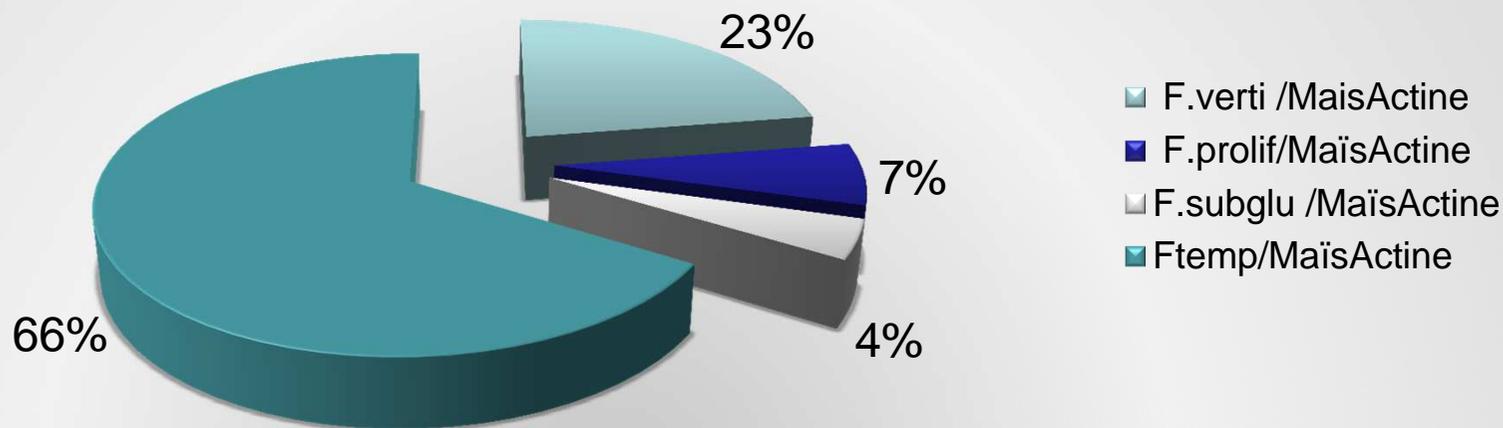
(Scauflaire, J.; Gourgue, M.; Callebaut, A.; Munaut, F. European Journal of Plant Pathology 2012 Vol. 133 No. 4 pp. 911-922.)

*F. equiseti*  
*F. oxysporum*  
*F. Pseudograminearum*

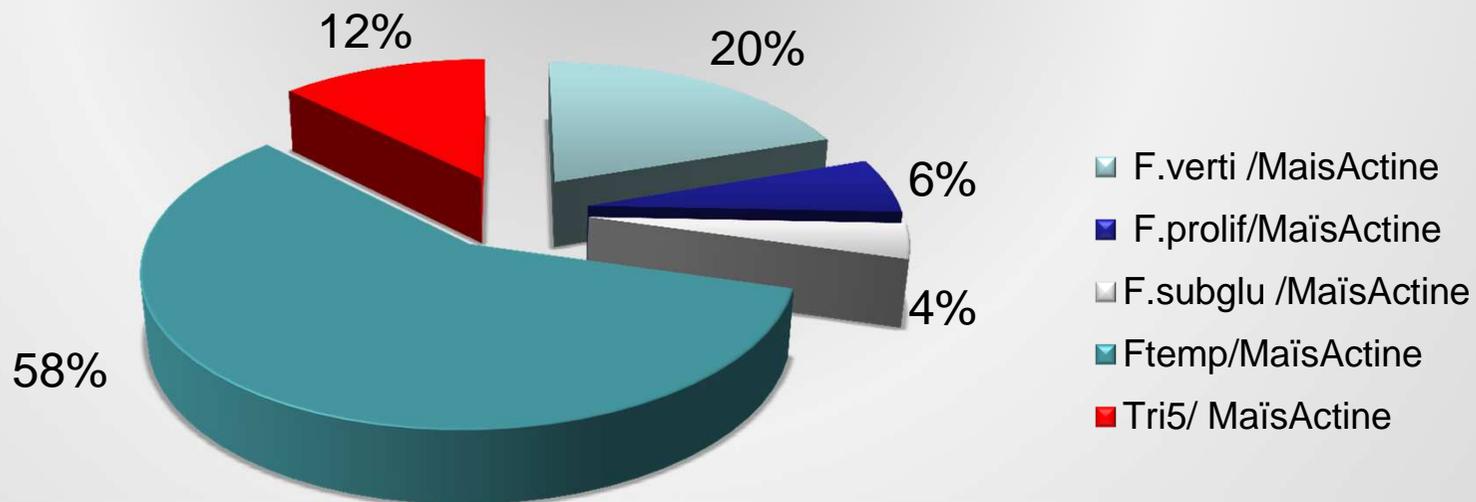
TCTA et B, ZEA  
Fumonisines C  
TCTB

MON: moniliformine BEA: Beauvericine ZEA: Zearalenone ENNS: Enniatins

**% des différentes espèces de Fusarium de la section liseola présentes sur épis de maïs**



**% des différentes espèces de Fusariose de la section liseola et producteur de TCT présentes sur épis de maïs**



## Impact of their presence and their coexistence on the levels of fumonisin B of samples corn?

Variables	F.verti /MaisActine	F.prolif/MaisActine	F.subglu /MaisActine	Ftemp/MaisActine	Fumo
F.verti /MaisActine	1,000	0,475	-0,254	0,443	<b>0,595</b>
F.prolif/MaisActine	0,475	1,000	0,037	0,318	<b>0,412</b>
F.subglu /MaisActine	-0,254	0,037	1,000	0,074	0,121
Ftemp/MaisActine	0,443	0,318	0,074	1,000	0,191
Fumo	<b>0,595</b>	<b>0,412</b>	0,121	0,191	1,000

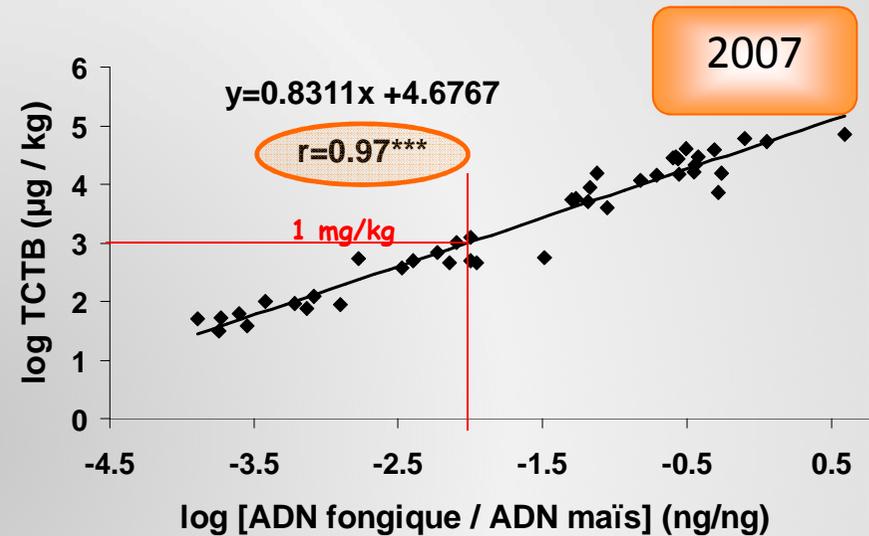
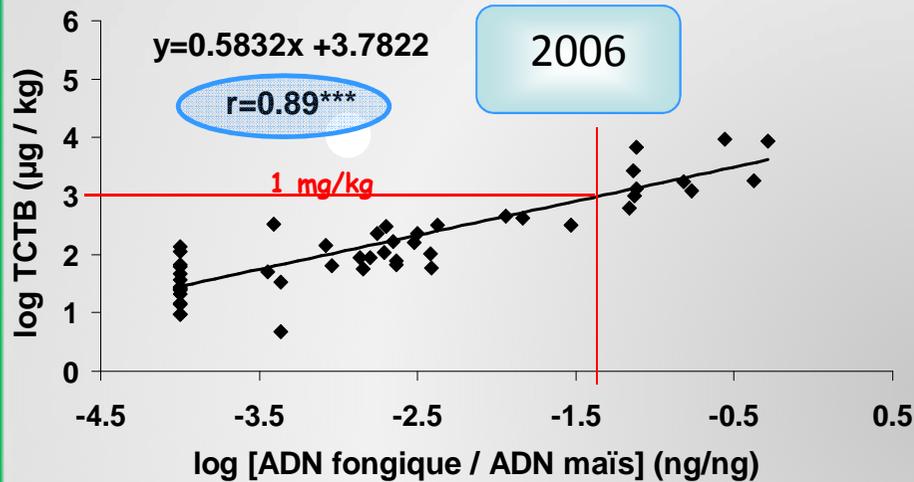
***F. temperatum***

**MON, BEA, ENNS et FB1**

(Scaufflaire, J.; Gourgue, M.; Callebaut, A.; Munaut, F. European Journal of Plant Pathology 2012 Vol. 133 No. 4 pp. 911-922.)



## Corrélations entre l'abondance des producteurs de trichothécènes et les teneurs en toxines des maïs



Pons et al, 2010

### Excellentes corrélations



La quantification de l'ADN des agents toxigènes permet de prédire le niveau de toxines présent dans des lots de maïs.



Une corrélation qui dépend du type de mycotoxine



Optimisation de la performance et fiabilité par l'introduction de la variable « flore toxino-gène »

## Vers l'identification d'agents microbiens antagonistes : agents fongiques non toxinogènes, bactéries, levures....

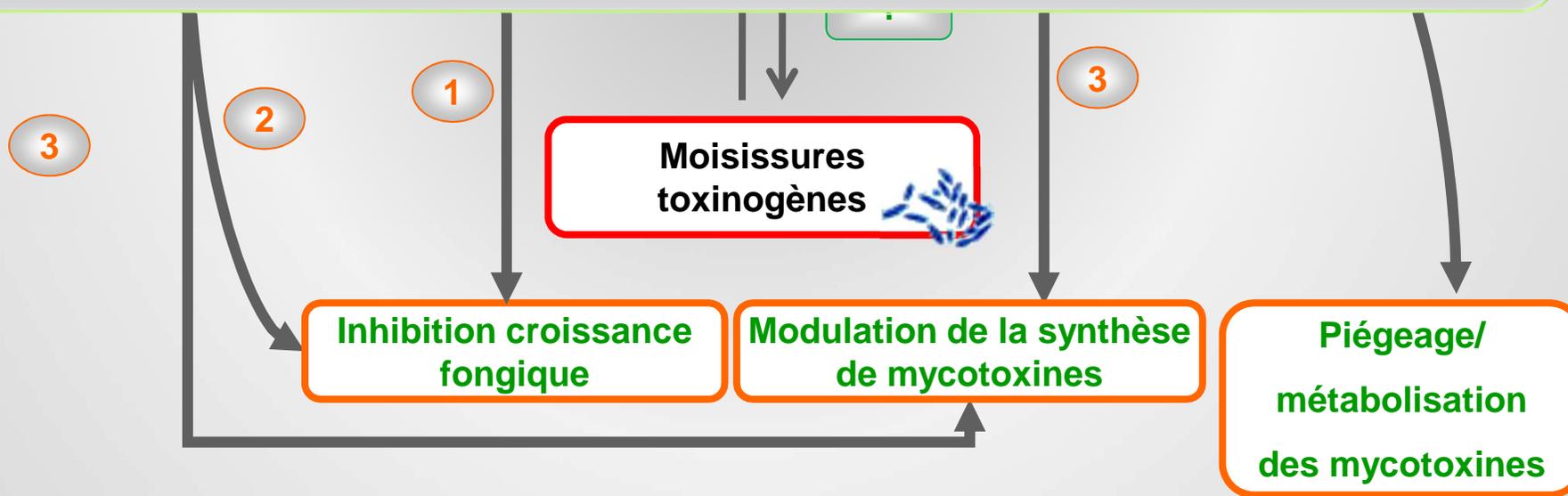
Les bactéries lactiques: d'excellents candidats avec un mécanisme d'action complet !

Production de métabolites antifongiques et/ou

Bactéries lactiques



L'efficacité de ces agents antagonistes a été rarement validée in planta !



## Certaines levures et bactéries sont capables de métaboliser les mycotoxines...

**DON**

Karlovsy, 2011

Minéralisation

*Curtobacterium sp*, 114-2,  
*pseudotaphrina kochii*



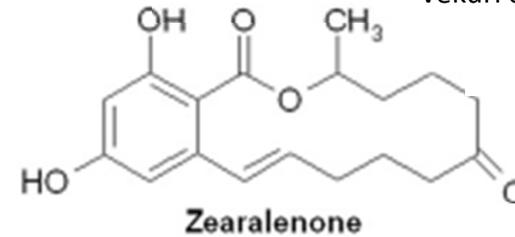
Des activités souvent instables chez des bactéries, levures isolées de sol ou compartiments intestinaux...

Deepoxidation

*Eubacterium sp*, BBSH 797

**ZEA**

Vekuri et al., 2010

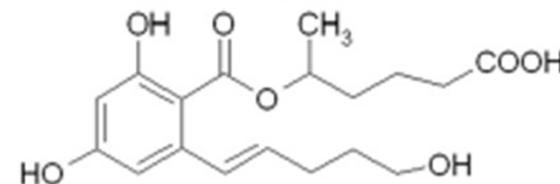


*Trichosporon  
mycotoxinivorans*

Comment les exploiter ?

hypothetical ZON-intermediate

specific  
esterase/lactonase

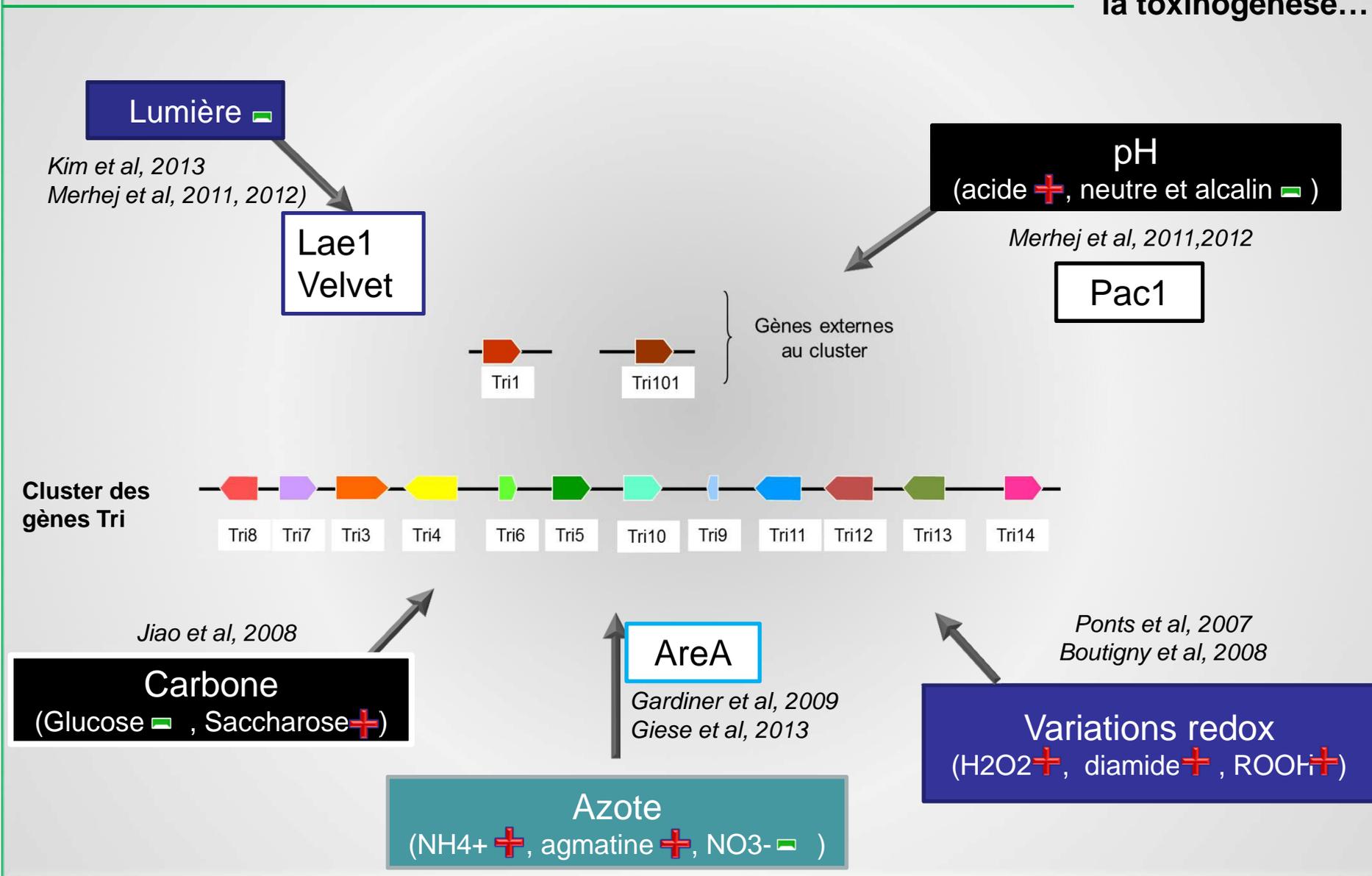


---

# Une connaissance approfondie des mécanismes de production et des évènements de régulation

---

## De nombreux facteurs sont susceptibles de moduler la toxinogénèse...

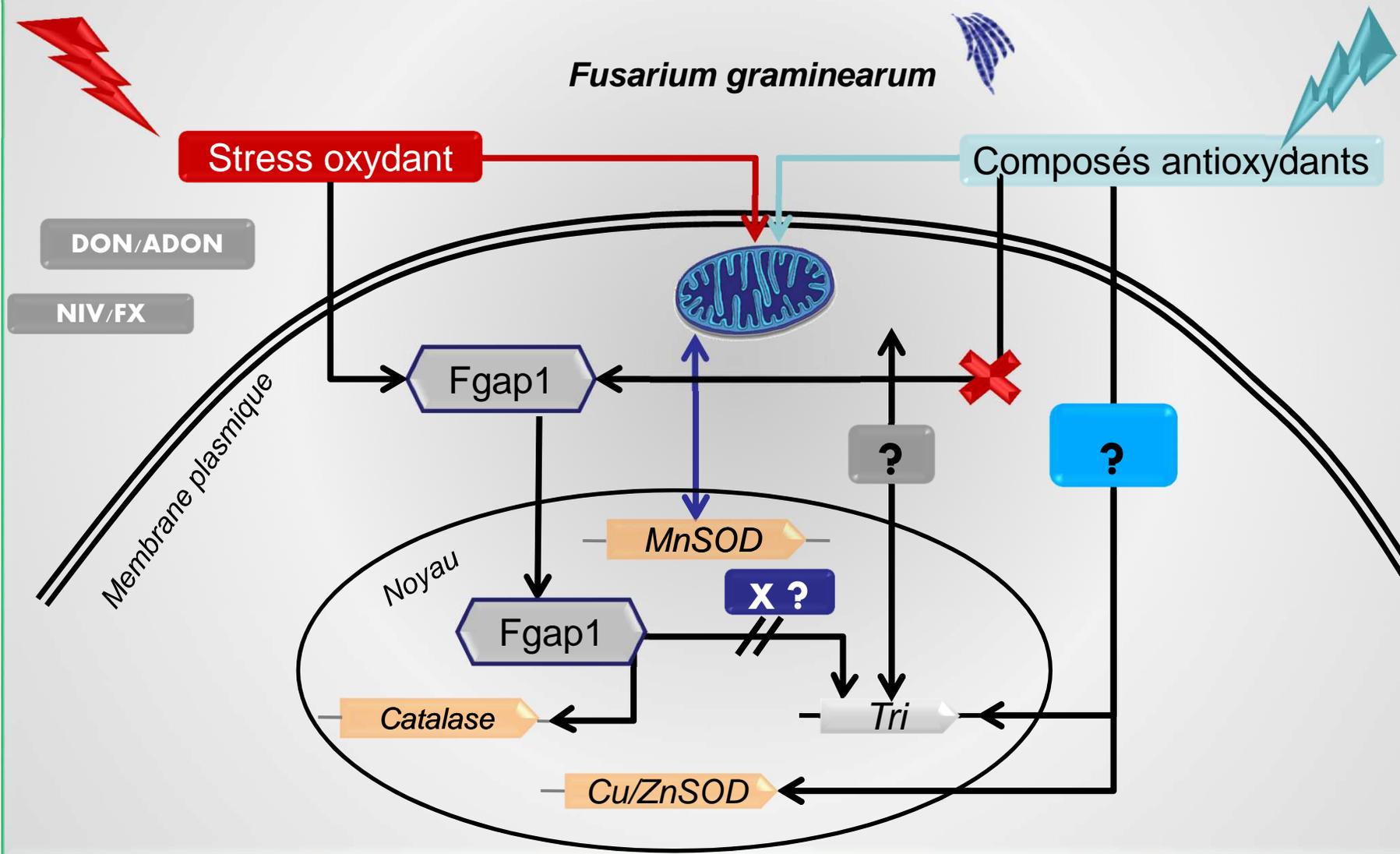




ANR DON & Co



REGION





## Efficiency of phenolic acids to inhibit TCTB biosynthesis



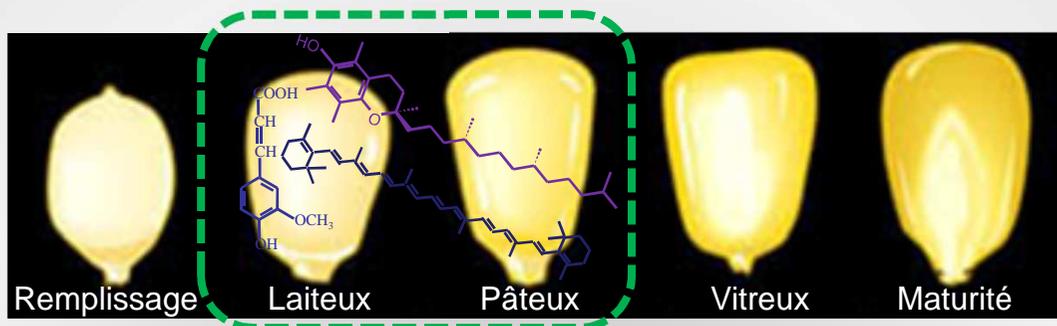
Chemotype	Strain	Caffeic acid	Chlorogenic acid	Ferulic acid
		0.5 mM	0.5 mM	0.5 mM
DON/15ADON	Fg 349	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue
DON/15ADON	Fg 156	Light Red	Light Blue	Light Blue
DON/15ADON	Fg PH1	Dark Blue	Light Blue	Dark Blue
DON/15ADON	Fg 214	White	White	White
DON/3ADON	Fc 117	Dark Blue	Dark Blue	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

- 0.5 mM does not affect fungal growth
- Caffeic acid & chlorogenic acid are the most efficient inhibitors of TCTB synthesis
- Their effect is strain dependent

Inhibition No effect Activation

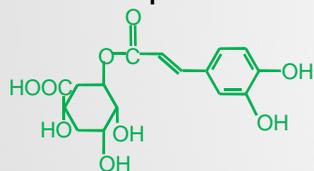


## Cinétique de croissance du grains de maïs : composition en antioxydant



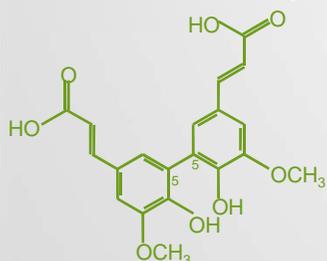
### ● Acides Phénoliques:

Free phenolic acids

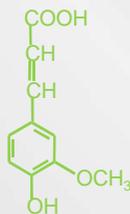


Chlorogenic acid

Cell-wall-bound phenolic acids

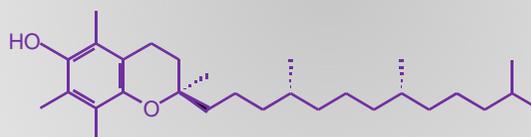


5-5'Ferulic acid dimer

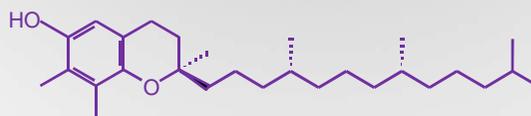


Ferulic acid

### ● Tocophérols:

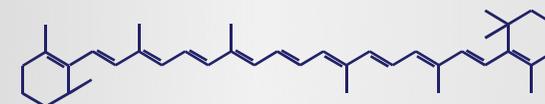


α-tocopherol



γ-tocopherol

### ● Caroténoïdes:



β-carotène

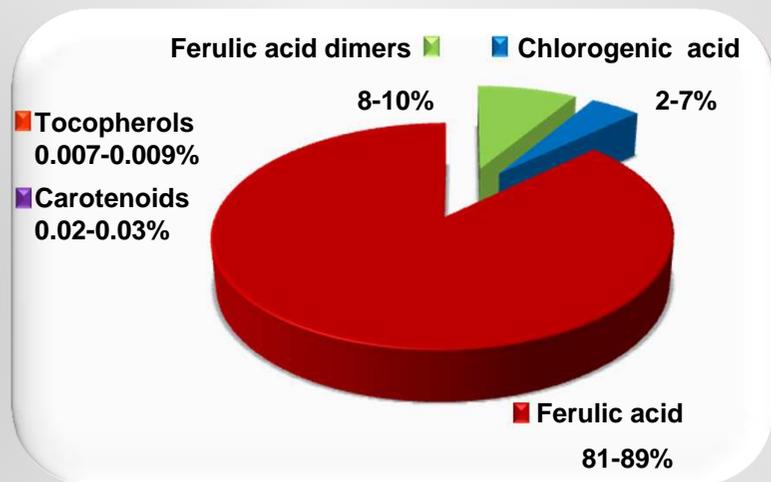
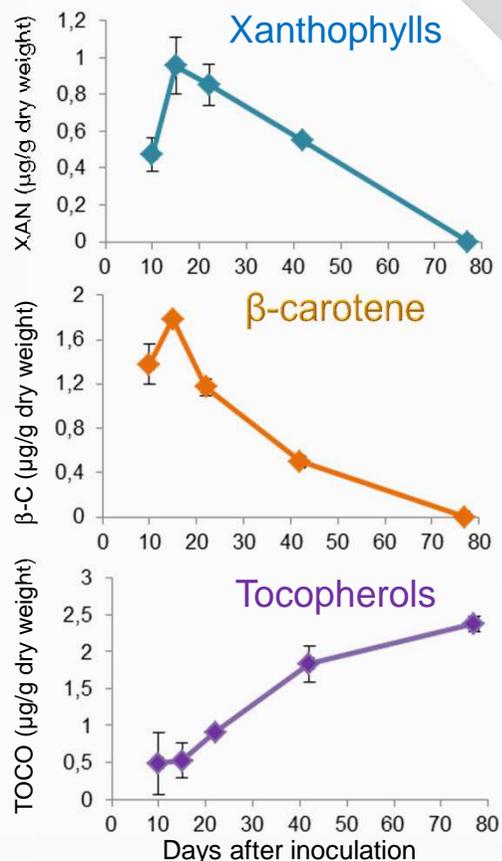
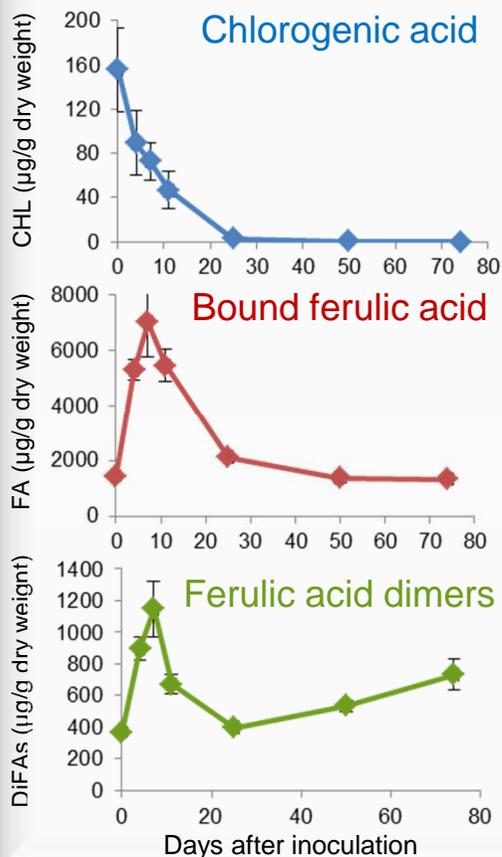
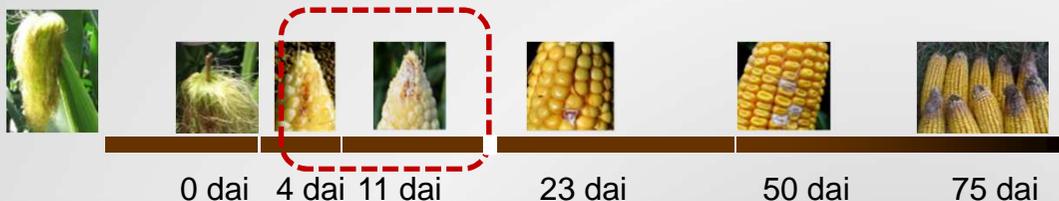


Lutein



Zeaxanthin

## Cinétique de croissance du grains de maïs : composition en antioxydant



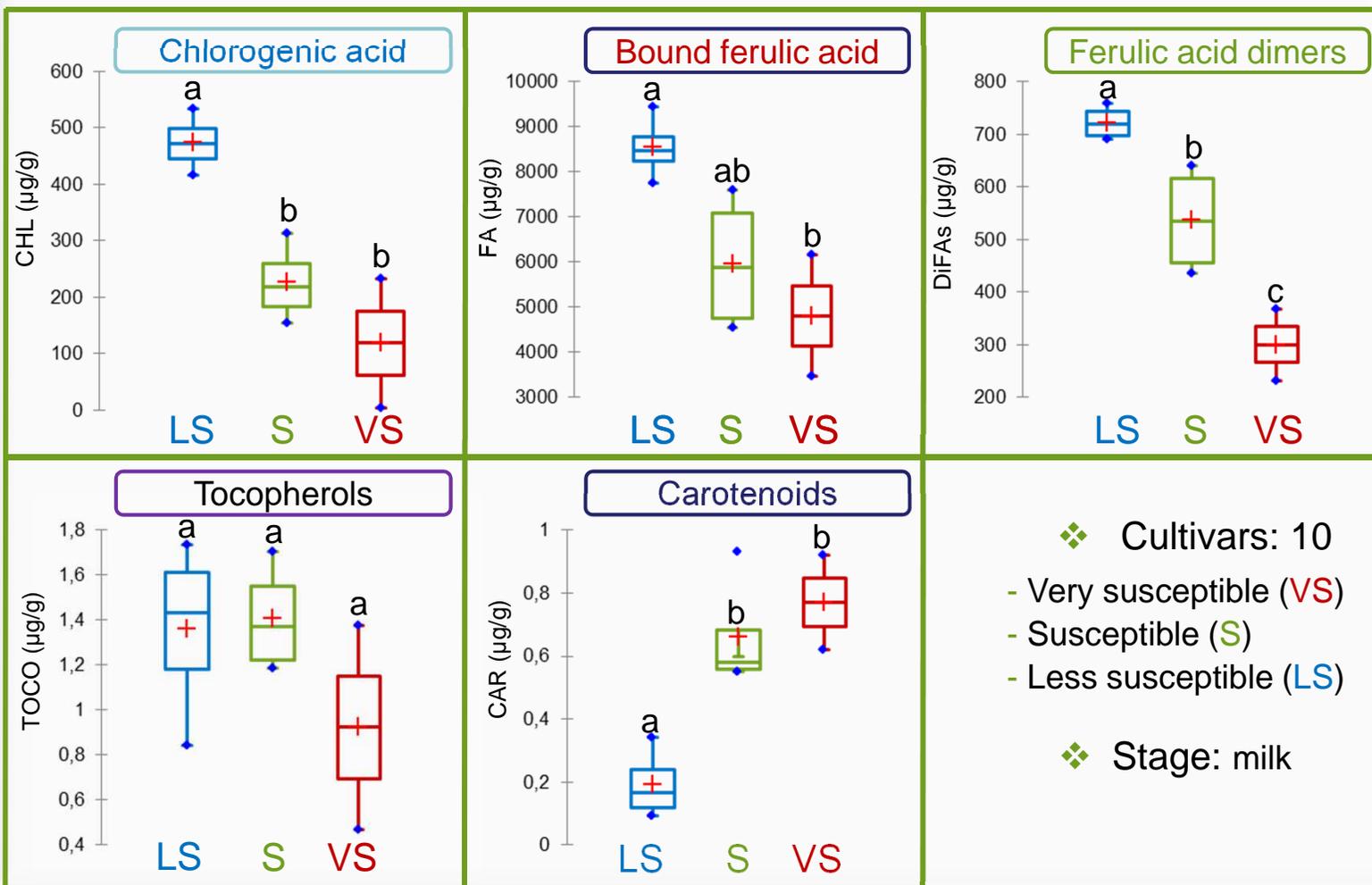
➤ Acides Phénoliques sont les composés antioxydants dominants dans les grains de maïs au stade laiteux

**Relation entre niveau de résistance et teneurs en antioxydants des grains de maïs au stade précoce ?**

## Relation entre le niveau de résistance au GER et teneur en antioxydants dans les stades précoces des grains de maïs ?



### → *Gibberella Ear Rot Resistance (F. graminearum)*



## Quels outils dans un avenir proche !



*F. graminearum*  
*M. majus*  
*F. poae* *F. avenaceum*  
*F. sporotrichoïdes*  
*F. tricinctum* *M. nivale*  
*F. langsethiae*  
*F. culmorum*

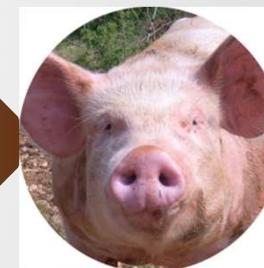
**Comprendre les mécanismes de contamination**



- Modèles de prédiction + précis + fiables
- Perspectives de biocontrôles
- Identification de biofongicides
- Sélection de variétés résistantes



**Mieux évaluer la toxicité**



■ Outils pour orienter les lots de grains

■ Réglementation + "protectrice"

■ Bactéries, levures, adsorbants:  
 ► Voies de détoxification

## Une problématique en constante évolution

Une réglementation en évolution avec la prise en considération de nouvelles familles de toxines.

- Trichothécènes de type A
- Fusariotoxines "émergentes "

Les résistances végétales se contournent et les agents pathogènes deviennent résistants aux fongicides.



Tout changement (climatique, pratiques agronomiques) est susceptible de modifier les équilibres de flore et en conséquence les toxines potentiellement produites.

- Aflatoxine en pré-récolte?
- Alcaloïdes d'ergot

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



**Merci pour votre attention**



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