



**HAL**  
open science

## Identification de composés naturels de la pêche affectant la pathogénicité de *Monilinia* Spp.

Marie-Noëlle Corre

► **To cite this version:**

Marie-Noëlle Corre. Identification de composés naturels de la pêche affectant la pathogénicité de *Monilinia* Spp.. Rencontres du GIS Fruits, GIS, Oct 2020, Webinaire, France. hal-03269430

**HAL Id: hal-03269430**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03269430>**

Submitted on 24 Jun 2021

**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.

# Identification de composés naturels de la pêche affectant la pathogénicité de *Monilinia Spp.*

Marie-Noëlle CORRE- INRAE GAFL



Rencontres du GIS Fruits - 28 octobre 2020

## Contexte

Contexte

Introduction

Objectifs

1<sup>ère</sup> approche

2<sup>ème</sup> approche

Conclusions et perspectives



## La pourriture brune (moniliose)

- Un champignon
- Principales espèces: *Monilia laxa*, *M. fructicola* et *M. fructigena*
- Provoque le dessèchement des fleurs et des rameaux et la pourriture des fruits
- Peut provoquer 30 à 40% de pertes de récoltes

**Une des maladies les plus dommageables du pêcher et des espèces du genre *Prunus***



Règne : *Fungi*

Embranchement: *Ascomycota*

Famille: *Sclerotiniaceae*

Genre: *Monilia*

## Contexte

Contexte

Introduction

Objectifs

1<sup>ère</sup> approche

2<sup>ème</sup> approche

Conclusions et perspectives

La prophylaxie n'est pas assez efficace

La lutte chimique est largement utilisée sur fleurs et fruits

- Impacts sur l'environnement
- Problèmes de santé publique



« La solution »: cultiver des variétés résistantes.

- ! Il n'existe pas de variétés vraiment résistantes pour les producteurs  
Aucun facteur de résistance majeur n'a été identifié

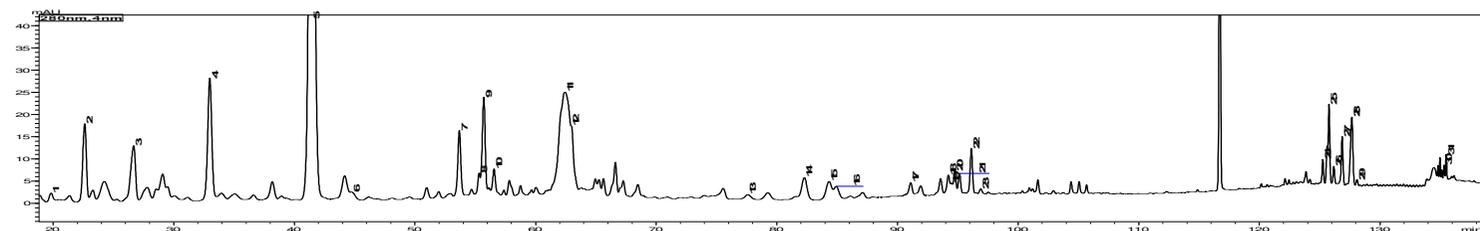
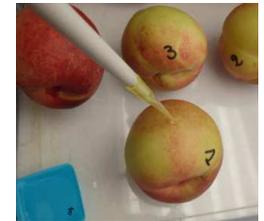
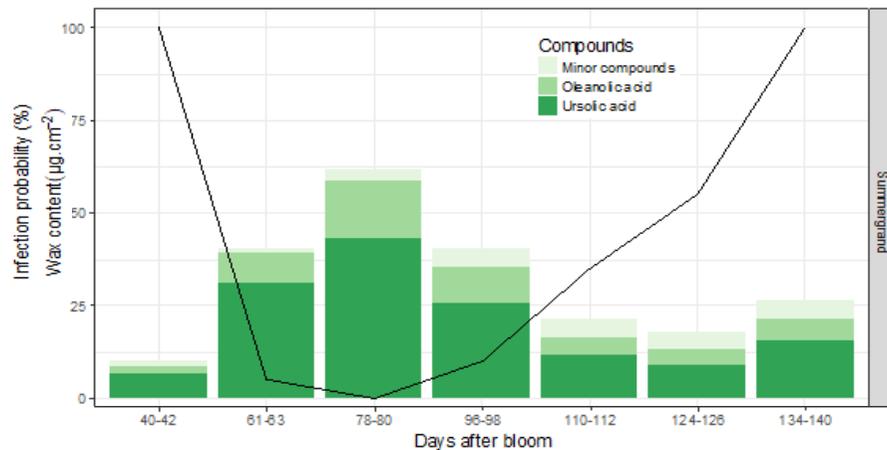
Comprendre l'interaction *Monilia*-pêcher pour créer des variétés de Pêcher résistantes.

## Introduction: travaux antérieurs

- Etude de la **résistance** au cours du **développement du fruit**
- ainsi que l'**évolution de la composition biochimique** de l'épiderme.



- **Des corrélations entre la probabilité d'infection et des composés (phénoliques, terpénoïdes et dérivés)**



L. Oliveira Lino, thèse 2014-2016

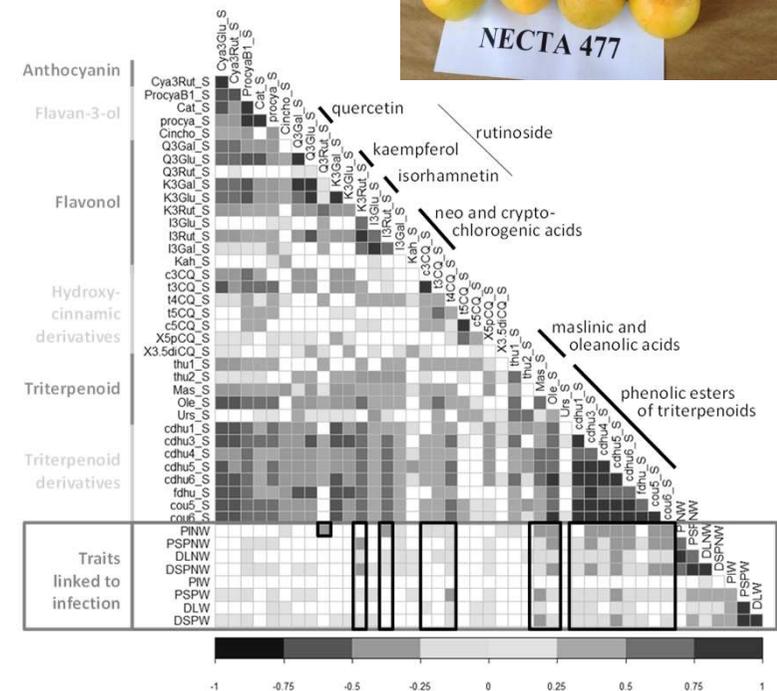
## Introduction: travaux antérieurs

- Exploration de la **diversité** de la **résistance** à la pourriture brune dans les **ressources génétiques** du Pêcher,
- ainsi que la **diversité** de la **composition biochimique** de l'épiderme du fruit

250 génotypes étudiés x 2 années (population interspécifique et collection)

- Infections contrôlées en laboratoire et au verger (8 paramètres)
- Profil des principaux métabolites spécialisés de l'épiderme (43 composés),
- Analyses statistiques

➤ **Des corrélations entre des traits d'infection et des composés (phénoliques, terpénoïdes et dérivés)**



L. Oliveira Lino, thèse 2014-2016

S. Scariotto, thèse 2018

Oliveira Lino et al, JXB 2020

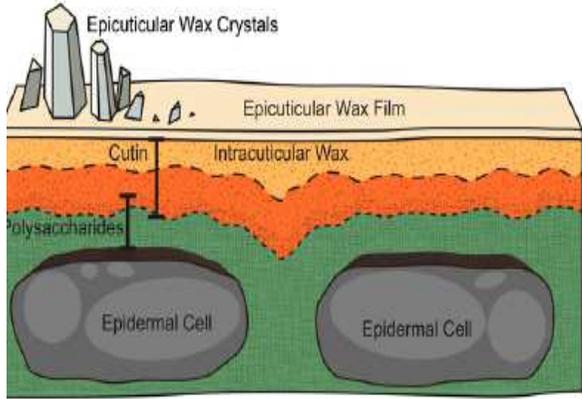
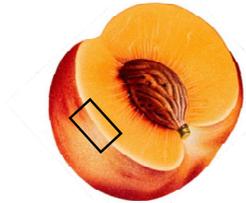
# Introduction: littérature

Contexte  
 Introduction  
 Objectifs  
 1<sup>ère</sup> approche  
 2<sup>ème</sup> approche  
 Conclusions et perspectives

## Effets des composés de l'épiderme dans les infections fongiques

Groupes	Compounds	Pathogen and plant host	References
<b>Phenolic derivatives</b>	methyl p-coumarate methyl caffeate syringic acid	mold fungi on <b>sorghum</b> grain	Shaik et al, 2016
<b>Hydroxycinnamic derivatives</b>	chlorogenic and caffeic acids	<i>M. Fructicola</i> <b>peach</b>	Gradziel & Wang, 1993 Lee & Bostock, 2007
		<i>Venturia inaequalis</i> <b>apple</b>	Picinelli et al, 1995
<b>Triterpenoïds</b>	ursolic acid, oleanoic acid,	<i>Penicillium</i> <b>orange</b>	Mahlo & Eloff, 2014
		mold fungi on <b>sorghum</b> grain	Shaik et al, 2016
<b>Waxes</b>	cuticular lipids hexacosanal	<i>M. Laxa</i> <b>peach</b>	Oliveira Lino et al, 2020
		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <b>avocado</b>	Podia et al, 1993
	wax extracted	<i>Blumeria graminis</i> (powdery mildew) <b>barley</b>	Zabka et al 2007, Hansjakob et al 2010
		<i>Alternaria alternata</i> <b>Pear</b>	Li et al, 2013

Effet inducteur ou reconnaissance  
 Effet inhibiteur



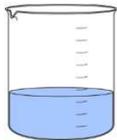
## Objectif des stages M2: *Tests in-vitro*

➤ **OBJECTIF: évaluer par des tests *in vitro* l'effet fongicide de ces composés sur le champignon**

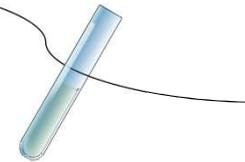
- Des molécules pures lorsque disponibles dans le commerce,



- Des extraits naturels de surface de fruits



- 2 souches de champignon entretenues au laboratoire: *M. Laxa*, *M. Fructicola*



Des mises au point de protocoles nécessaires  
Réalisation des tests avec des répétitions  
Analyse statistique

## Objectif des stages M2: *Tests in-vitro*

11 composés purs identifiés

8 Composés phénoliques

3 Triterpénoïdes

Molécules synthétiques disponibles dans le commerce

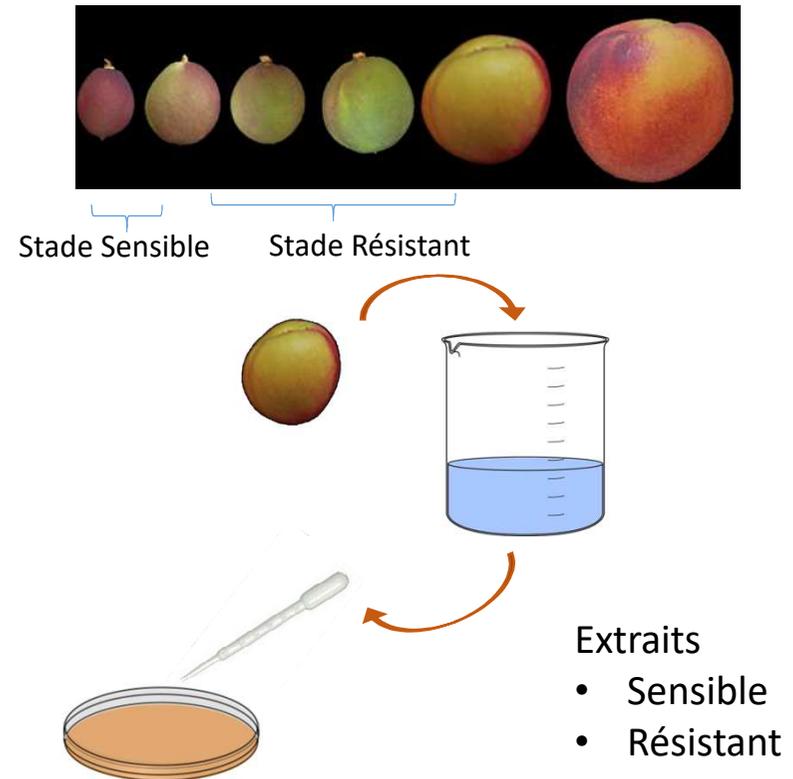
**Composés hydrophiles**

Composés phénoliques:  
Catéchine, épicatechine, acide chlorogénique, acide caféique, acide férulique, cyanidine-3-glucoside, quercétine-3-glucoside, quercétine-3-rutinoside

**Composés hydrophobes**

Triterpénoïdes:  
Acide oléanolique, acide maslinique, acide bétulinique

Evaluer des extraits naturels de Pêche



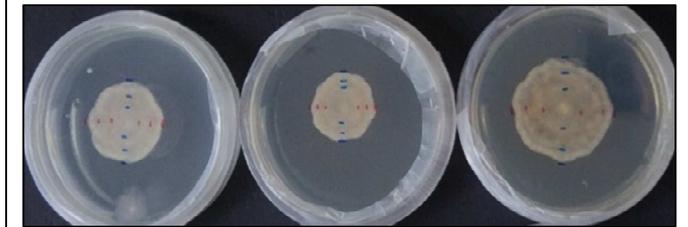
2 types de protocoles:  
Molécules hydrophiles, incorporées dans le milieu  
Molécules hydrophobes, déposées en surface du milieu

# 1<sup>ère</sup> approche

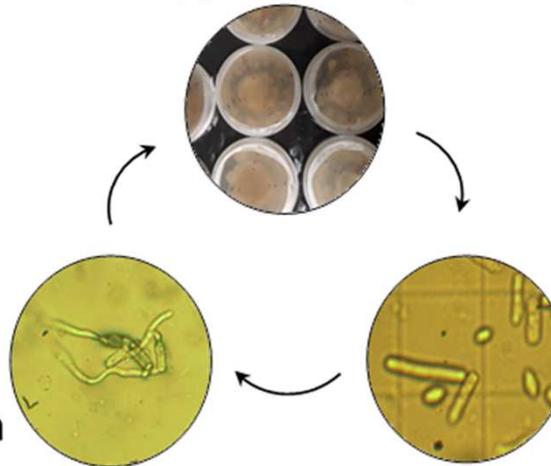
## Tester l'effet sur la croissance du champignon

- Développement mycélien (taille de la colonie)
- Sporulation (quantification des spores produites)
- Germination (% de spores germées)

Mesure du diamètre pendant 7 jours



### Développement mycélien



### Germination



La solution de spores est inoculée sur un milieu. Après 24H, comptage des spores germées au microscope

### Sporulation



Après 10 jours de croissance, récupération des spores et comptage à la cellule de Malassez sous microscope

Stage M2 - 2018, L. Latchoumane

Contexte

Introduction

Objectifs

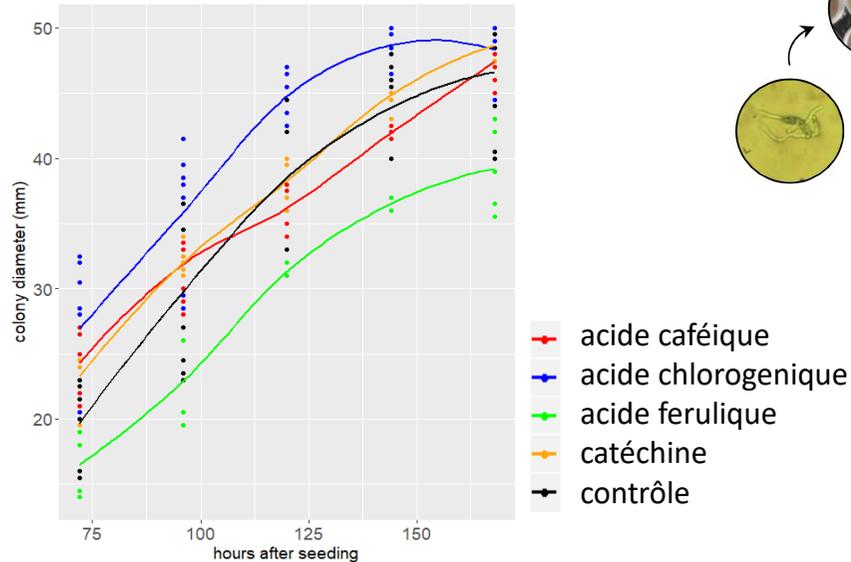
1<sup>ère</sup> approche

2<sup>ème</sup> approche

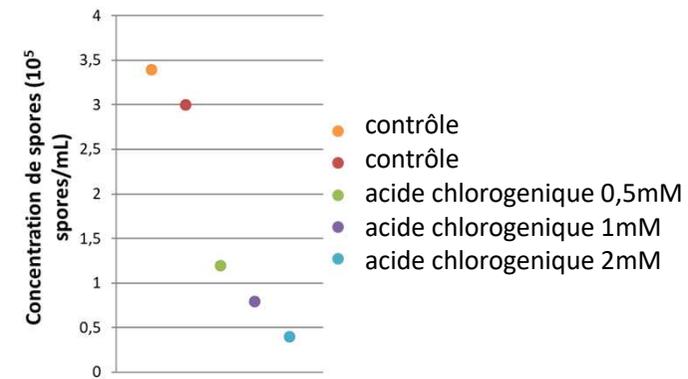
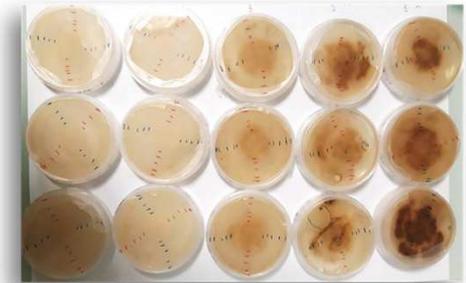
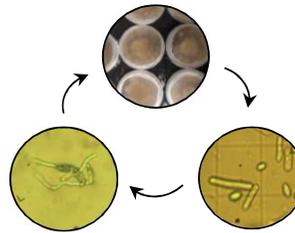
Conclusions et perspectives

# 1<sup>ère</sup> approche

## Tester l'effet sur la croissance du champignon



Cinétique de la croissance mycélienne sur un milieu contenant une molécule



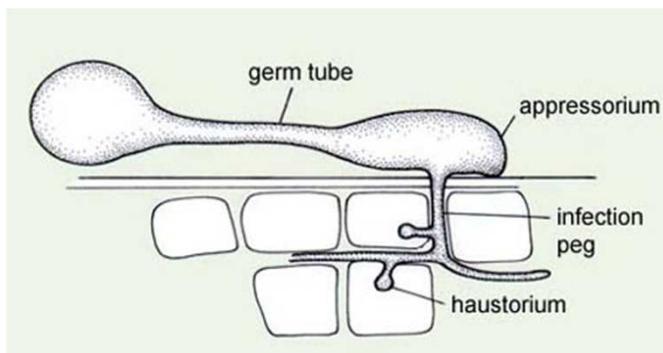
Effet de l'acide chlorogénique sur la sporulation

### Pas de toxicité

Des effets différents suivant les composés: des composés inhibiteurs, des composés activateurs de la croissance, Des effets plus ou moins intéressants sur la sporulation et la capacité germinative

## 2<sup>ème</sup> approche

Tester l'effet sur d'autres facteurs de pathogénicité du champignon:  
sur la production des enzymes nécessaires à la pénétration dans le fruit



*CIV:*

*Culture en milieu liquide  
pour obtention du  
sécrétome*

*Biochimie:*

*Dosage des protéines  
Analyse protéomique*

*Biologie moléculaire:*

*Extraction d'ARN  
Analyse des gènes exprimés*

Des mises au point de protocoles nécessaires

Une molécule: l'acide Chlorogénique (ou acide caféoylquinique (ACQ))

Une espèce: *Monilia Fructicola*

Stages M2- 2019-20, C. Saccaram, A. Lemozy

Rencontres du GIS Fruits - 28 octobre 2020

Contexte

Introduction

Objectifs

1<sup>ère</sup> approche

2<sup>ème</sup> approche

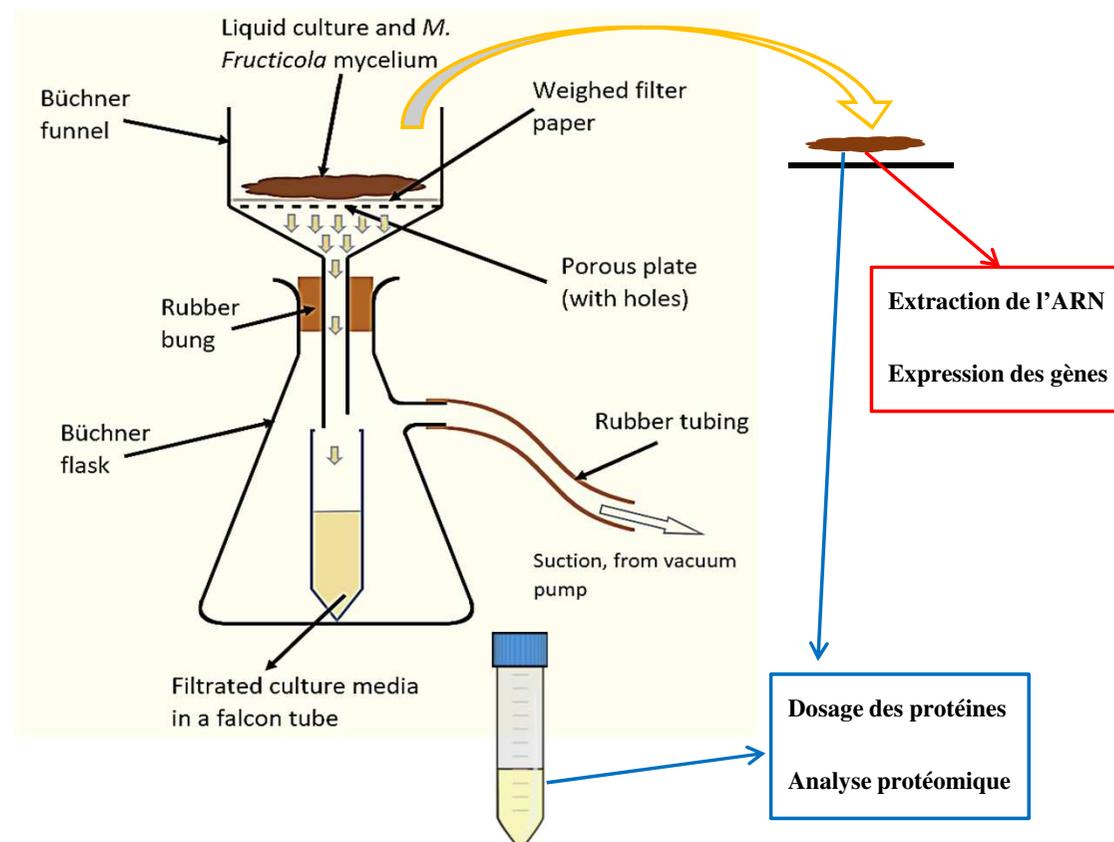
Conclusions et perspectives

## 2<sup>ème</sup> approche

Tester l'effet sur d'autres facteurs de pathogénicité du champignon:  
sur la production des enzymes nécessaires à la pénétration dans le fruit



+13 jours



Milieux de culture:

- additionné en ACQ
- contrôle

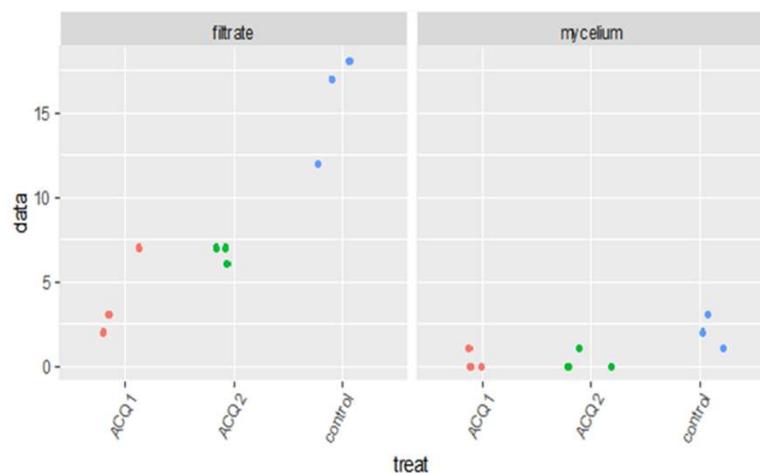
Stages M2- 2019-20, C. Saccaram, A. Lemozy

Rencontres du GIS Fruits - 28 octobre 2020

## 2<sup>ème</sup> approche

Tester l'effet sur d'autres facteurs de pathogénicité du champignon:  
sur la production des enzymes nécessaires à la pénétration dans le fruit

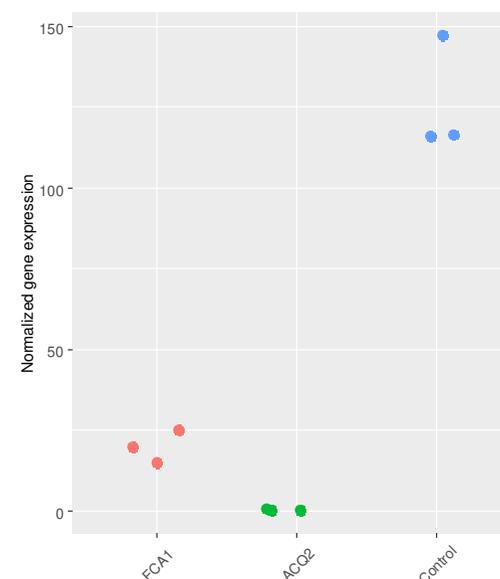
Teneur en cutinase dans le filtrat et dans le mycélium



**ACQ diminue la production de cutinase**

➤ 172 protéines spécifiques au sécrétome

Expression du gène *MfCut1*



**ACQ diminue l'expression du gène *MfCut1***

➤ 3 autres gènes de dégradation de l'épiderme étudiés *MfPG1*, *MfPG3*, *MfPG6*

Stages M2- 2019-20, C. Saccaram, A. Lemozy

Rencontres du GIS Fruits - 28 octobre 2020

## Conclusions et Perspectives

- Les protocoles développés (culture en milieu liquide pour obtention du sécrétome) permettent l'extension possible à l'étude d'autres composés
- Des protocoles sont encore en développement concernant les molécules hydrophobes et les extraits naturels de fruits
- L'expression de gènes de *Monilia* va être poursuivie, suite aux résultats de protéomique et par la recherche d'homologie avec des gènes de virulence connus dans d'autres espèces de champignon de la famille des *Sclerotiniaceae*

**Pas de toxicité directe des composés testés**

**Les composés affectent différentes fonctions du champignon:**

**L'acide chlorogénique favorise le développement du mycélium mais diminue la sporulation**

**L'acide chlorogénique diminue la production des enzymes nécessaires à la pénétration dans le fruit.**

## Conclusions et Perspectives

Contexte

Introduction

Objectifs

1<sup>ère</sup> approche

2<sup>ème</sup> approche

Conclusions et perspectives

L'acide chlorogénique et ses isomères sont les composés majeurs de l'épiderme. Les résultats montrent qu'ils pourraient limiter la propagation de la maladie en réduisant l'inoculum dans le verger (moindre capacité à produire des spores), en diminuant la pénétration dans les fruits (blocage de la production des enzymes de dégradation de l'épiderme)

**Prise en compte dans les programmes d'amélioration variétale pour la résistance à la pourriture brune et de création de variétés cumulant des résistances aux autres maladies du pêcher**

Création de descendances intégrant:

- les géotypes présentant:
  - les meilleurs niveaux de résistance aux tests de phénotypage,
  - des fortes teneurs pour les composés de l'épiderme identifiés,
- des géotypes résistants du Brésil et des USA ainsi que *Prunus Davidiana*

# Remerciements



Au GIS Fruits pour le financement des 3 stages de M2 des étudiants:

Lorraine Latchoumane (2018)

Chandrodhay Saccaram (2019)

Arthur Lemozy (2020)

Aux partenaires: GRAB et Terralia

A la plateforme de protéomique ProGenomix (CEA-INRAE-Li2D):

Jean Armengaud

Aux collègues de Pathologie Végétale INRAE PACA:

P. Nicot, C. Troulet, M. Duffaud

Aux collègues de INRAE GAFL:

Bénédicte Quilot-Turion

Laure Heurtevin

Véronique Signoret

Léandro Oliveira Lino (doc 2014-2016)

Silvia Scariotto (doc 2015-2018)

Alexia Grau (stage L3 2019)

Maximiliano Dini Viñoli (doc Brésil 2018)

Majid Mustafa (doc Italie 2020)



**Rencontres du GIS Fruits - 28 octobre 2020**