

Production d'alcaloïdes par des champignons endophytes dans la fétuque élevée et le ray grass anglais dans le Sud de la France

Production of alkaloids by endophytic fungi in tall fescue and perennial ryegrass in southern France.

REPUSARD C. (1), ZBIB N. (1), TARDIEU D. (1) et GUERRE P. (1)

(1) Ecole Nationale Vétérinaire, Laboratoire Mycotoxicologie, 23 chemin des Capelles, BP87614, 31076 Toulouse Cedex 03

INTRODUCTION

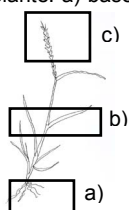
L'association mutualiste entre des champignons endophytes du genre *Neotyphodium* et la fétuque élevée (*Lolium arundinaceum*) (FE) ou le ray grass anglais (*Lolium perenne*) (RGA) fourragers peut être à l'origine de la synthèse d'alcaloïdes toxiques tels l'ergovaline (EV) et le lolitrem B (LB) (Kuldau *et al.*, 1997; Leyronas, 2005). Leur synthèse dépend du couple plante/champignon et des conditions environnementales (stress hydrique...) (Arechavaleta *et al.*, 1992; Scharld *et al.*, 2011). Lors d'une précédente étude, réalisée à Saint-Affrique (Aveyron) en 2010, les teneurs en EV et LB obtenues sur RGA et FE endophytés se sont révélées inférieures aux doses réputées toxiques chez les ovins (Repussard *et al.*, 2011). Différentes hypothèses pouvant expliquer ces résultats (hauteur de fauche trop élevée, facteurs climatiques peu favorables) deux essais expérimentaux ont été mis en place en 2011 dans le but de: 1) déterminer la répartition des alcaloïdes dans différentes parties consommables de la plante et 2) évaluer l'effet des conditions climatiques sur la synthèse des alcaloïdes.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. OBTENTION DU MATERIEL VEGETAL

Figure 1: Prélèvements des différentes parties de la plante: a) base, b) pointes des feuilles et c) épis.

Deux variétés végétales endophytées toxigènes, Kentucky 31 (FE) et Samson (RGA), ont été semées en 2009 sur le domaine expérimental de Saint-Affrique et en 2010 sur celui du Merle (Bouches-du-Rhône). Des prélèvements de plante entière ($\approx 500g$) et/ou de base (a), pointe de feuilles (b) et épis (c) ($\approx 200g$) ont été effectués entre le 18/3 et le 10/6/11 (Figure 1).



1.2. DOSAGE TOXINES

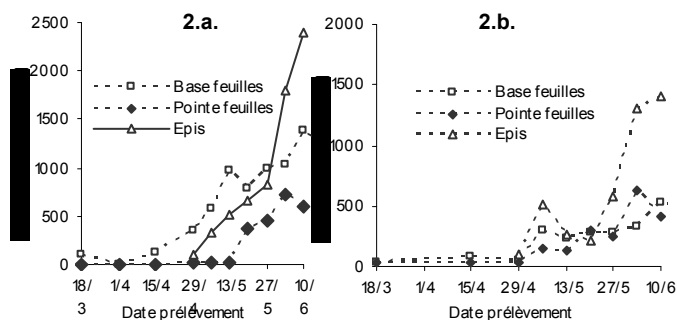
L'ergovaline et le lolitrem B ont été dosées par HPLC comme précédemment décrit (Repussard *et al.*, 2011). Les limites de quantification sont de 10 $\mu g/kg$ MS (matière sèche) pour l'ergovaline et de 50 $\mu g/kg$ MS pour le lolitrem B.

2. RESULTATS

2.1. REPARTITION DES TOXINES DANS PARTIES CONSOMMABLES

L'évolution des teneurs en LB dans le RGA et EV dans la FE est donnée dans la figure 2.

Figure 2: Évolution des teneurs en LB dans le RGA (2.a.) et en EV dans la FE (2.b.) en 2011.



2.2. EFFETS DES DIFFERENTES CONDITIONS PEDOCLIMATIQUES

Le tableau 1 présente les teneurs moyennes en LB et EV dans le RGA et la FE, sur plante entière, sur le domaine expérimental du Merle en 2011 et sur celui de St-Affrique en 2010 et 2011 à la mi-mai.

Tableau 1 : Comparaison des teneurs en EV et LB à la mi-mai sur les deux domaines expérimentaux.

	Saint-Affrique 2010	Saint-Affrique 2011	Le Merle 2011
Ray Grass anglais			
Ergovaline	20	94	145
Lolitrème B	225	223	1135
Fétuque			
Ergovaline	29	233	33

Ces résultats sont à mettre en relation avec les conditions pédo-climatiques de chacun des deux domaines (tableau 2).

Tableau 2 : Comparaison des facteurs pédo-climatiques des domaines expérimentaux de St-Affrique et du Merle.

	Saint-Affrique	Le Merle
Nature du sol	Argiles/Schistes rouges	Calcaires/Quartz
Altitude	279 m	53 m
Précipitations (Av/M/J)	216 mm	136 mm
T°C (Av/Mai/Juin)	12,5	16
Conduite parcelle	Pas d'irrigation	Irriguée

3. DISCUSSION

Les teneurs maximales en alcaloïdes sont obtenues dans les épis comme Lane *et al.* (1997) au stade de sénescence de la plante aussi bien pour le RGA (6241 μg EV /kg MS et 2392 μg LB /kg MS) que la FE (1406 μg EV/kg MS). Contrairement à l'hypothèse de 2010 ce n'est pas la hauteur de fauche qui explique les faibles niveaux en alcaloïdes mesurés sur le domaine expérimental de St-Affrique. A la même période, les teneurs en alcaloïdes sont nettement différentes sur les deux domaines expérimentaux. Dans le RGA, le rapport entre LB et EV au Merle est voisin de 8 alors qu'il est de 2,5 à St-Affrique. Par ailleurs, sur le site de St-Affrique, les niveaux en EV sont de 5 à 8 fois plus élevés en 2011 qu'en 2010 à la mi-mai. Les teneurs en alcaloïdes à la mi-mai au Merle en 2011 sont en revanche très comparables à celles obtenues à St-Affrique en 2010 début juin (pour le RGA, (358 μg EV/kg MS et 1290 μg LB/kg MS). Ce décalage pourrait être lié au stade végétatif de la plante, un décalage de deux à trois semaines étant constaté entre les deux domaines expérimentaux. Il apparaît donc que si les conditions pédo-climatiques sont susceptibles de modifier les teneurs en alcaloïdes dans la plante entière, elles pourraient agir de façon indirecte, en modifiant principalement la vitesse de maturation. En revanche l'âge de la prairie semble avoir un rôle différent, non directement relié au stade végétatif.

CONCLUSION

Ces résultats montrent que les doses réputées toxiques pour les ovins en FE et LB sur la FE et le RGA endophytés cultivés en France sont rarement atteintes même sous des conditions climatiques favorables à la toxigenèse ou lors de fauche rase de prairie. La cinétique de production dépend fortement du stade phénologique de la plante mais aussi très probablement de son âge. La répartition des toxines dans la plante est principalement influencée par son stade physiologique, les teneurs maximales étant obtenues dans les épis, les autres parties étant relativement homogènes.

Ce travail a été soutenu par le gouvernement français (Fond Unique Interministériel) et l'État de Midi-Pyrénées sur un projet labellisé par le Pôle de compétitivité français AGRIMIP-INNOVATION.

Arechavaleta *et al.*, 1992. Appl. Environ. Microbiol., 58, 857-861.

Kuldau *et al.*, 1997. Mycologia, 89, 431-441.

Lane *et al.*, 1997. Neotyphodium/grass interactions, Plenum Press, 65-67.

Leyronas, 2005. Thèse INAPG, 160p.

Repussard *et al.*, 2011. Renc. Rech. Ruminants, 2011.

Rottinghaus *et al.*, 1991. J. Agric. Food Chem., 39, 112-115.

Scharld *et al.*, 2012. Fungal ecology, 5, 331-344.

Tor-Agbidye *et al.*, 2001. Vet. Hum. Toxicol., 43, 140-146.