

Guerre chimique entre champignons: un arsenal de molécules bioactives

Stéphanie Schürch¹, Katia Gindro¹, Olivier Schumpp¹, Michel Monod², Julie Verrier², Nadine Bohni³ et Jean-Luc Wolfender³

¹Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, 1260 Nyon

²Service de dermatologie et vénéréologie, Centre hospitalier universitaire vaudois CHUV, 1011 Lausanne

³Phytochimie et Produits Naturels Bioactifs, Ecole de Pharmacie Genève-Lausanne, Université de Genève, Université de Lausanne, 1211 Genève

Renseignements: Katia Gindro, e-mail: katia.gindro@acw.admin.ch, tél. +41 22 363 43 74



Photo: ACW

Les champignons du genre *Fusarium* sont responsables de nombreuses maladies chez les plantes et de graves mycoses chez l'homme.

Des champignons du genre *Fusarium* sont de redoutables pathogènes pour les plantes et pour l'homme. Les infections qu'ils provoquent répondent mal aux traitements usuels. Dans une approche novatrice, la recherche envisage d'exploiter la guerre chimique que se livrent les champignons comme source de molécules

antifongiques utilisables aussi bien en médecine qu'en agronomie. Soutenu par le Fond national suisse de la recherche scientifique (SNF), ce projet interdisciplinaire fédère trois institutions de l'Arc lémanique: la station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, le CHUV et l'Université de Genève.

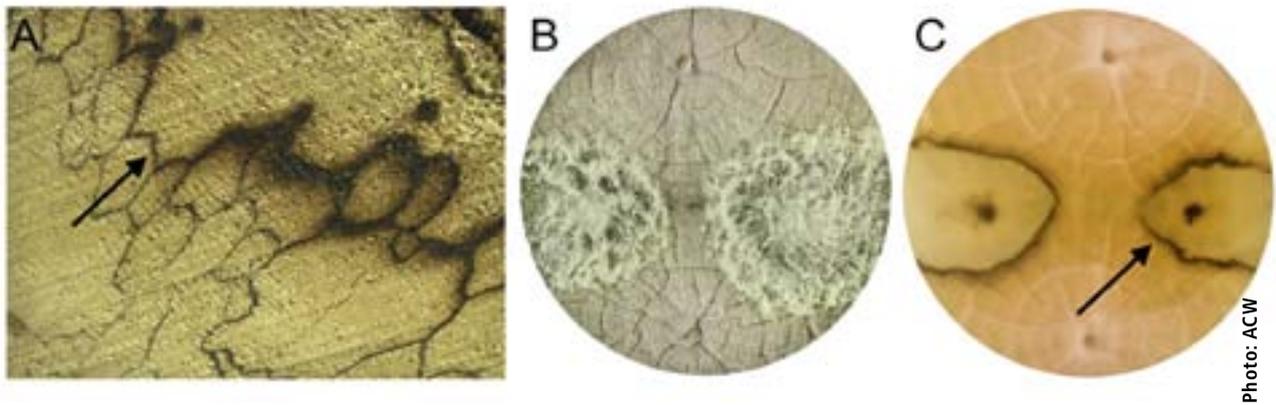


Figure 1 | Reproduction sur milieu artificiel des zones de confrontation formées naturellement entre champignons dans le bois. A: lignes noires sur bois. B et C: co-culture de deux espèces de champignons dégradant le bois (*Eutypa lata* et *Botryosphaeria obtusa*) sur milieu artificiel, vu de dessus (B) et de dessous (C).

Les *Fusarium*: pathogènes des hommes et des plantes

En Europe, 3 à 10 % de la population souffrent d'affections fongiques des ongles, ou onychomycoses. La plupart des champignons isolés des ongles infectés appartiennent à deux espèces de dermatophytes, *Trichophyton rubrum* et *T. interdigitale*. Cependant, d'autres espèces sont fréquemment isolées des onychomycoses. Ainsi, 4 % des infections analysées au CHUV entre 2002 et 2005 étaient dues à *Fusarium* spp., principalement *F. oxysporum* et *F. solani* (Monod *et al.* 2006 ; Ninet *et al.* 2005). Alors que les dermatophytes répondent bien aux traitements antifongiques actuels, les *Fusarium* y répondent mal ou pas du tout (Baudraz-Rosselet *et al.*; Garcia-Effron *et al.* 2004). Par ailleurs, *F. oxysporum*, *F. solani* et *F. proliferatum* causent aussi des infections invasives chez les patients immunodéficients. En conséquence, il est primordial d'examiner soigneusement les ongles des patients avant de les soumettre à un traitement immunodépresseur. Les infections invasives sont très difficiles à traiter et leur issue est souvent fatale. Il est donc absolument nécessaire de disposer d'un antifongique efficace.

Parallèlement, en agriculture, de nombreuses maladies des végétaux sont dues aux *Fusarium* et causent des pertes économiques substantielles (Agrios 2005). Un exemple bien connu est *F. graminearum*, un des agents de la fusariose de l'épi du blé et du maïs. Ce pathogène réduit fortement le remplissage des grains, mais produit aussi des toxines qui contaminent la récolte et nuisent à la santé du consommateur ou du bétail affouragé. Les espèces isolées des tissus humains sont aussi connues comme pathogènes en agronomie : *F. oxysporum* est

associé à des maladies vasculaires chez plusieurs hôtes, comme la tomate, le pois ou la betterave. *F. solani* est l'agent étiologique de nombreuses maladies comme la fusariose de la pomme de terre ou une maladie des racines chez le pois. La lutte contre les fusarioses par des traitements fongicides est généralement difficile.

Défendre son territoire

La découverte de nouveaux traitements antifongiques est donc un objectif central, en médecine comme en agronomie. D'une manière générale, les champignons constituent une source importante de composés naturels, par exemple pour l'industrie pharmaceutique (antibiotiques et immunosuppresseurs) ou agro-alimentaire (arômes et ferments). Ils génèrent aussi des molécules extrêmement toxiques, telles que l'amanitine, les aflatoxines ou les trichothécènes, toutes produites par des moisissures des denrées alimentaires. De plus, lorsque plusieurs espèces de champignons se rencontrent dans un même substrat, elles peuvent interagir et se combattre mutuellement en synthétisant des toxines, les mycoalexines (Glaser *et al.* 2009). Ce phénomène est particulièrement visible dans un substrat tel que le bois, où le territoire de chaque champignon est délimité par une bande noire (fig. 1A). Ces zones d'interaction ont pu être recréées sur des milieux de culture artificiels en plaçant à une certaine distance deux souches de champignons dégradant le bois et en observant leur croissance (fig. 1B et C). De façon plus générale, les interactions entre deux colonies peuvent être classées en quatre types selon leur aspect morphologique et celui de leur zone de contact (Schumpp *et al.* 2010):

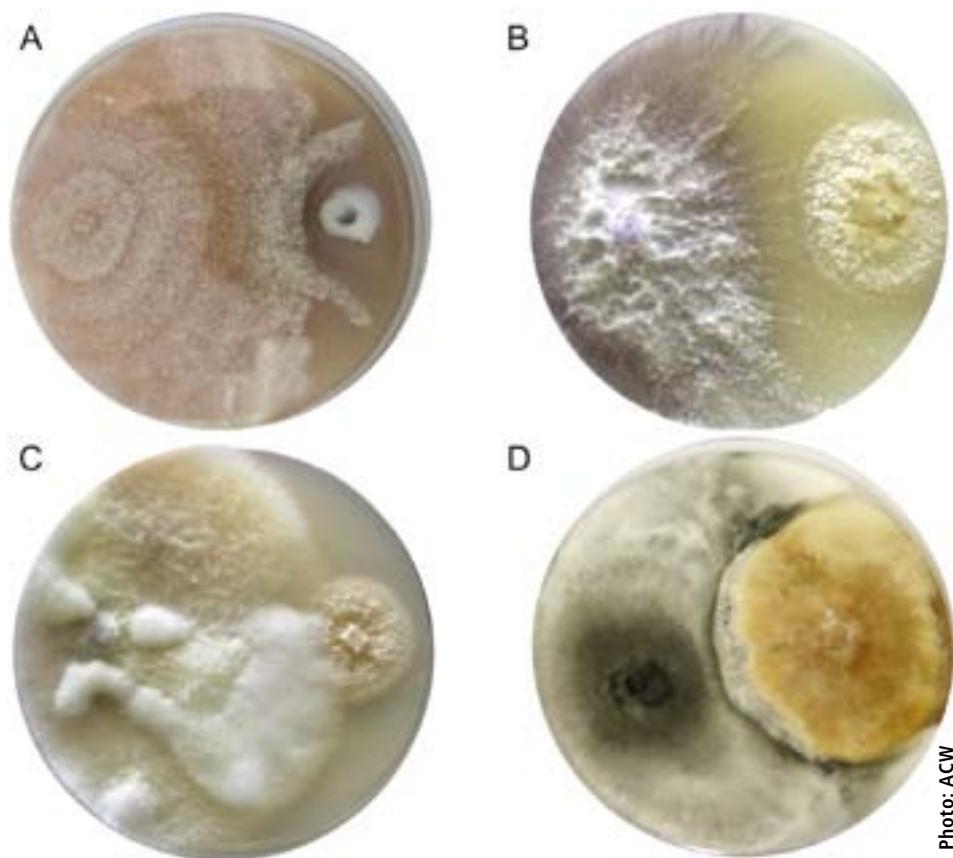


Photo: ACW

Figure 2 | Les quatre types d'interactions entre champignons : A: inhibition à distance. B: inhibition par contact. C: chevauchement. D: formation d'une zone de barrage.

- **Inhibition à distance** : une zone exempte de mycélium subsiste entre les partenaires (fig. 2A).
- **Inhibition par contact** : la croissance est stoppée lorsque les hyphes se touchent (fig. 2B).
- **Chevauchement** : un mycélium croît par-dessus l'autre (fig. 2C).
- **Formation de «zones de barrage»** : au point de contact des colonies, une zone infranchissable brun foncé est formée (fig. 2D).

Menace chimique : les mycoalexines

Afin d'étudier la production de composés induits par ces interactions, les profils métaboliques des cultures pures et des zones de confrontation ont été analysés par chromatographie liquide à ultra-haute pression (UHPLC) couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol (TOFMS). Des confrontations entre champignons dégradant le bois ont montré que de nombreux métabolites secondaires sont synthétisés *de novo* dans la zone d'interaction (Glauser et

al. 2009). Le profilage métabolique par UHPLC-TOFMS permet de déterminer en ligne les formules moléculaires des mycoalexines. La structure chimique d'un des métabolites les plus fortement induits, la O-méthylmelléine, a été élucidée par résonance magnétique nucléaire capillaire (CapNMR). L'activité biologique de ce composé a ensuite été évaluée, en particulier ses propriétés fongicides, antibiotiques, phytotoxiques ou encore cytotoxiques (= anticancéreuses ; fig. 3). On voit ainsi que des modifications métaboliques importantes peuvent avoir lieu dans les zones de confrontation et constituer un réservoir de molécules bioactives. Actuellement, des confrontations de *Fusarium* issus d'onchomycoses sont en cours. L'identification des molécules nouvellement synthétisées (Wolffender *et al.* 2009) et l'évaluation de l'activité biologique de ces mycoalexines permettent d'espérer découvrir des antifongiques d'intérêt pharmaceutique et agronomique, une des grandes forces de ce projet étant de réunir des spécialistes d'horizons très différents. ■

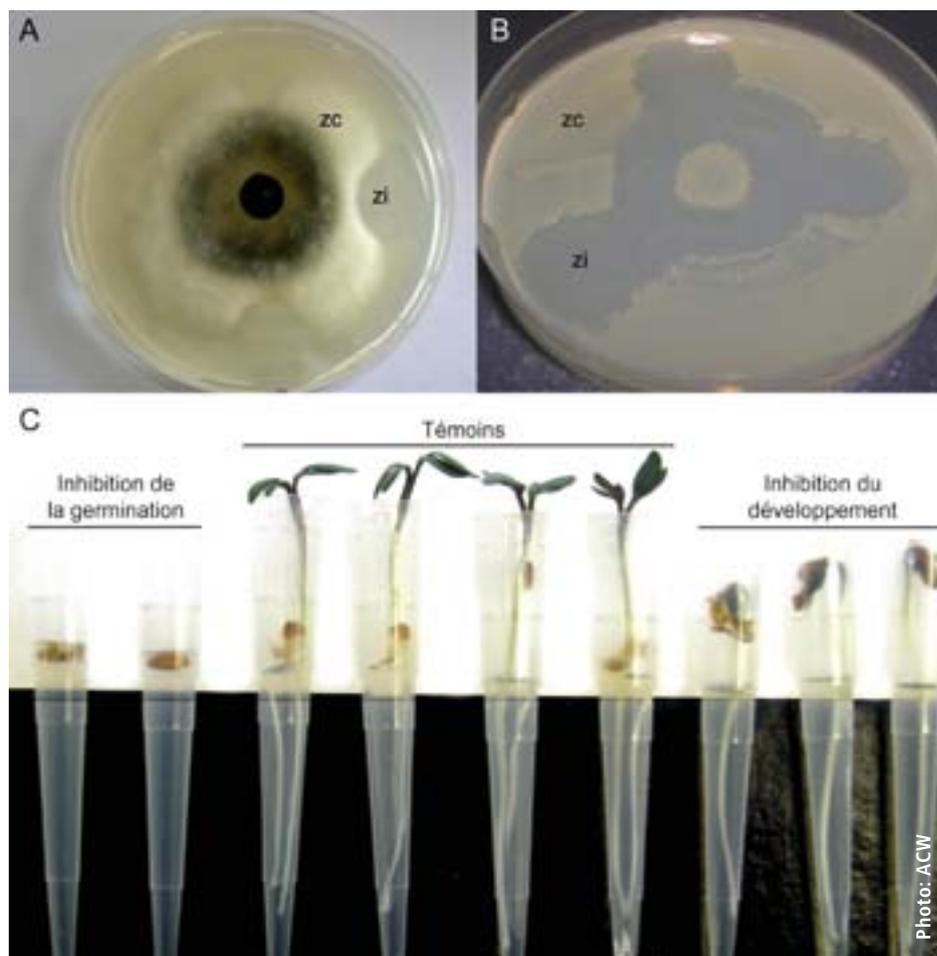


Figure 3 | Tests d'activité biologique réalisés sur les extraits bruts des zones de confrontation ainsi que sur O-méthylmelléine purifiée. A: activité fongicide illustrée par l'inhibition de la croissance de *Botryosphaeria obtusa* (zc: zone de croissance ; zi: zone d'inhibition). B: activité bactéricide mise en évidence par l'inhibition de la croissance bactérienne en présence de O-méthylmelléine. C: activité phytotoxique de la O-méthylmelléine qui, à forte concentration, inhibe la germination des graines de cresson et, à plus faible concentration, perturbe le développement des germes.

Bibliographie

- Agrios G. N., 2005. Plant pathology. Elsevier Academic Press, Burlington, MA, 922 p.
- Baudraz-Rosselet F., Ruffieux C., Lurati M., Bontems O. & Monod M., 2010. Onychomycosis Insensitive to Systemic Terbinafine and Azole Treatments Reveals Non-Dermatophyte Moulds as Infectious Agents. *Dermatology* 220 (2),164–168.
- Garcia-Effron G., Gomez-Lopez A., Mellado E., Monzon A., Rodriguez-Tudela J. L. & Cuenca-Estrella M., 2004. In vitro activity of terbinafine against medically important non-dermatophyte species of filamentous fungi. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53 (6),1086–1089.
- Glauser G., Gindro K., Fringeli J., De Joffrey J.-P., Rudaz S. & Wolfender J.-L., 2009. Differential analysis of mycoalexins in confrontation zones of grapevine fungal pathogens by ultrahigh pressure liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and capillary nuclear magnetic resonance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 1127–1134.
- Monod M., Bontems O., Zaugg C., Lechenne B., Fratti M. & Panizzon R., 2006. Fast and reliable PCR/sequencing/RFLP assay for identification of fungi in onychomycoses. *Journal of Medical Microbiology* 55,1211–1216.
- Ninet B., Jan I., Bontems O., Lechenne B., Jousson O., Lew D., Schrenzel J., Panizzon R. & Monod M., 2005. Molecular identification of Fusarium species in onychomycoses. *Dermatology* 210, 21–25.
- Schumpp O., Bohni N., Bujard A., Wolfender J. L., Monod M., Schürch S. & Gindro K., 2010. Competitive interactions between fungi induce the production of a large diversity of new metabolites. 9th International Mycological Congress, 1–6 August 2010, Edinburgh, UK.
- Wolfender J. L., Glauser G., Boccard J. & Rudaz S., 2009. MS-based Plant Metabolomic Approaches for Biomarker Discovery. *Natural Product Communications* 4 (10),1417–1430.