

Levures contre pourritures des fruits

Évaluation de levures indigènes contre les maladies post-récolte

Guillaume Thébault, Yannick Barth et François Lefort*
 Institut Terre Nature Environnement, HEPIA, HES-SO Genève.
 * Auteur correspondant : francois.lefort@hesge.ch

RÉSUMÉ

La réduction du risque phytosanitaire posé par les pesticides chimiques de synthèse nécessite d'évaluer toutes les solutions alternatives dont les microorganismes. Ici, nous avons évalué 25 souches de levures indigènes isolées en Suisse romande comme agents de lutte biologique contre trois importants pathogènes post-récolte des fruits à pépins : *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* et *Penicillium digitatum*.

INTRODUCTION

La diminution de l'utilisation des produits chimiques antifongiques et la nécessité de réduire les pertes post-récolte font émerger des alternatives. L'emploi de micro-organismes comme agents de lutte biologique contre les pathogènes de post-récolte, en particulier de levures (Spadaro & Droby 2016) suscite un intérêt grandissant. L'usage de levures comme agent de lutte biologique contre les maladies fongiques s'inscrit dans la démarche de réduction de l'usage de pesticides de synthèse, que mettent en œuvre de nombreux états, dont la Suisse et son Plan National d'Action Phytosanitaire, pour diminuer le risque que font peser les pesticides sur la santé humaine et sur l'environnement (OFAG 2021). La diversité des modes d'actions dont disposent les levures leur confèrent un grand potentiel comme moyen de traitement biologique contre les pathogènes post-récolte sur fruits. Le présent travail évalue le potentiel de 25 souches de levures isolées en Suisse romande lors de précédents travaux, comme agents de lutte biologique contre trois importants pathogènes post-récolte des fruits à pépins : *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* et *Penicillium digitatum*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans la collection de levures de HEPIA, 22 espèces sur 51 espèces présentes ont déjà montré, d'après la littérature disponible, un effet inhibiteur contre au moins un des pathogènes post-récolte étudiés dans ce travail, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* et *Penicillium*

digitatum. Sur la base de cette sélection préliminaire, 25 souches de levures appartenant à 13 espèces différentes ont été sélectionnées pour être utilisées lors d'essais de confrontation in vitro contre les différents pathogènes post-récolte. S'inspirant de méthodes utilisées dans d'autres études, le protocole expérimental de ce travail vise à confronter chacune des souches de levures aux différents pathogènes, sur milieu de culture en boîte de Petri, en conditions complètement stériles (Pretscher *et al.* 2018; Walker *et al.* 1995). Dans la mesure où les produits à base de levures déjà disponibles sur le marché sont commercialisés en traitement préventif, ce protocole vise à reproduire en labora-



Figure 1. *Penicillium expansum*.

toire les conditions d'application d'un traitement préventif. À J0, un trait de levure est tracé au centre d'une boîte de Petri à partir de colonies de levures âgées de 72h. À J+3, deux explants de mycélium sont prélevés à la périphérie d'une culture pure in vitro du champignon pathogène et disposés de part et d'autre du trait de levure (fig. 2). Dès J0, toutes les boîtes de Petri sont placées en incubateur, à l'obscurité à 22 ± 2 °C et à



Figure 2. Dispositif expérimental avec au centre de la boîte de Petri le trait de levure, 2,5 cm et à gauche et à droite de ce trait les explants mycéliens du champignon pathogène (5 mm de diamètre) qui, sur la photo se sont développés. En rouge les paramètres mesurés pour calculer la croissance radiale et, *in fine*, le taux d'inhibition.

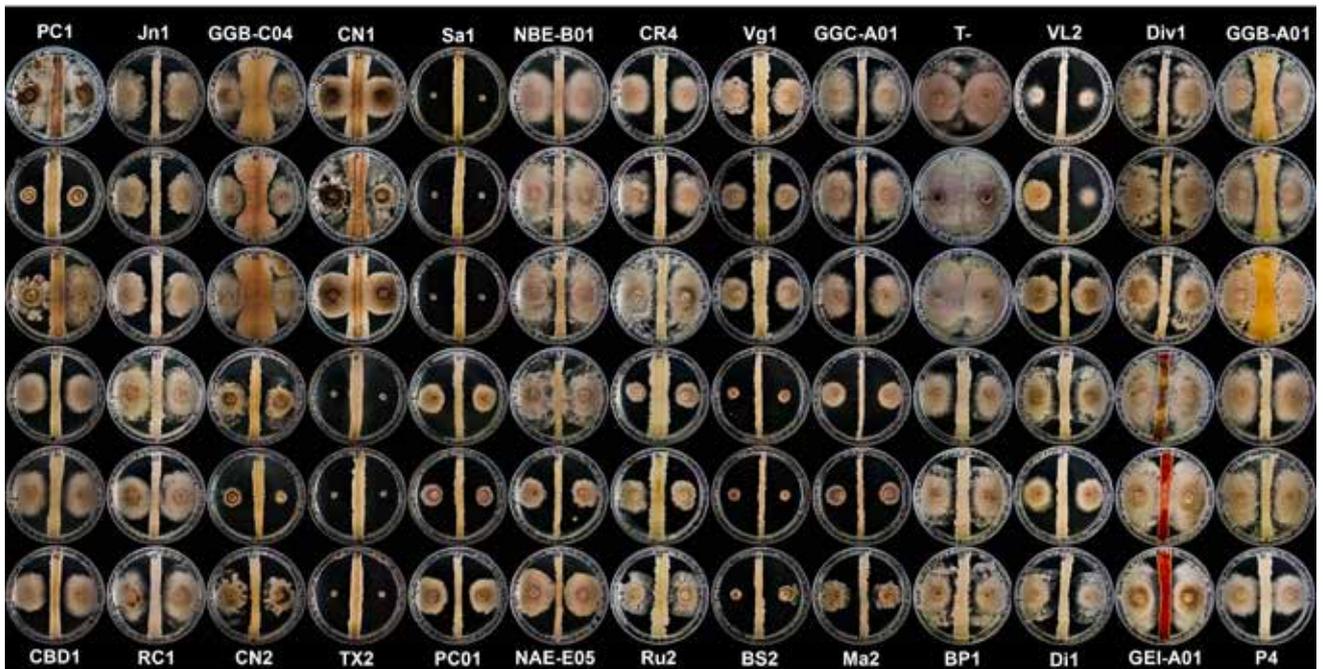


Figure 3. Photo à J+12 de l'essai de confrontation *in vitro* des 25 souches de levures contre *B. cinerea*, les trois répétitions d'une même modalité sont superposées les unes sur les autres, il y a deux modalités par colonne.

humidité ambiante durant toute la durée de l'essai. Des mesures de croissance radiales sont effectuées à l'aide d'un pied-à-coulisse toutes les 48h, durant 12 jours. Trois répétitions sont faites par modalité de traitement lors de ce criblage (fig. 3). Un témoin constitué de la mise en culture de deux explants mycéliens du champignon pathogène permet de comparer l'évolution de la croissance des champignons pathogènes en absence et en présence de levures et de calculer l'inhibition produit par la levure. Le traitement statistique a été effectué avec une ANOVA et le test non-paramétrique de Kruskal-Wallis pour les cas où cela était nécessaire.

RÉSULTATS

Les 25 souches de levures ont toutes montré un effet inhibiteur sur *B. cinerea*, dès le premier relevé de mesures, en conditions *in vitro*. Seules certaines souches de levures ont montré une inhibition statistiquement significative au seuil de 5 %. Les levures ayant montré le meilleur effet inhibiteur statistiquement significatif au seuil de 5 % au 12^{ème} jour de relevé sont les souches Sa1 et Tx2 de *Wickerhamomyces anomalus* qui ont complètement inhibé la croissance de *B. cinerea* dès le premier jour et ce durant toute la durée d'observation (92,56 %).

Ensuite c'est la souche BS2 de la levure *Metschnikowia fructicola* qui a le plus inhibé le développement de *B. cinerea* (79,02 %) suivi de la souche Ma2 de *Metschnikowia pulcherrima* (65,24 %) et de la souche CN2 de *Hanseniaspora uvarum* (61,87 %) (fig. 4).

Cinq souches de levures sur 25 ont montré un effet inhibiteur lors du premier relevé (J+2) contre *P. digitatum*. Au quatrième relevé (J+8), toutes les souches de levures ont montré un effet inhibiteur sur le développement de *P. digitatum*. Les souches dont l'effet d'inhibition sur *P. digitatum* a été statistiquement significatif au seuil de 5 % lors du dernier relevé (J+12) sont les souches Sa1 et Tx2 de *W. anomalus* qui ont respectivement inhibé la croissance de *P. digitatum* de 59,80 % et 59,69 %. Les souches PC1 et CN1 de *Pichia membranifaciens* et la souche RU2 de *Pichia kluyveri* ont aussi montré un effet inhibiteur respectivement de 45,14 %, 30 % et 27,41 %. Toutefois ces valeurs ne sont pas statistiquement significatives au seuil de 5 % (fig. 5).

23 de levures sur 25 ont montré un effet inhibiteur contre *P. expansum* à J+2. À J+4 toutes les souches de levures présentaient un effet inhibiteur sur le patho-

gène. Dès J+6 la tendance s'inverse. À J+18, seules quatre souches de levures, GGB-C04 de *Aureobasidium pullulans*, Ma2 de *M. pulcherrima*, NBE-B01 de *Meyerozyma caribbica* et Tx2 de *W. anomalus* ont montré un effet inhibiteur sur *P. expansum* de respectivement 4,3 %, 22,22 %, 6,78 % et 14,84 %. Toutefois, à J+18, aucune de ces différences de développement du pathogène entre les modalités de confrontation avec levures et la modalité témoin négatif n'ont présenté de différences statistiquement significatives au seuil de 5 % (fig. 6).

CONCLUSION

Les maladies fongiques post-récolte causent d'importants dégâts sur la production. L'emploi systématique de fongicides chimiques pour lutter contre ces pathogènes est de plus en plus contesté en raison des risques que ces produits représentent pour la santé humaine, l'environnement, mais aussi pour leur efficacité sur le long terme en raison de certaines résistances qui émergent (Lucas *et al.* 2015). L'usage de levures indigènes comme agents de lutte biocontrôle contre les pathogènes post-récolte représente une piste de recherche prometteuse (Spadaro & Droby 2016).

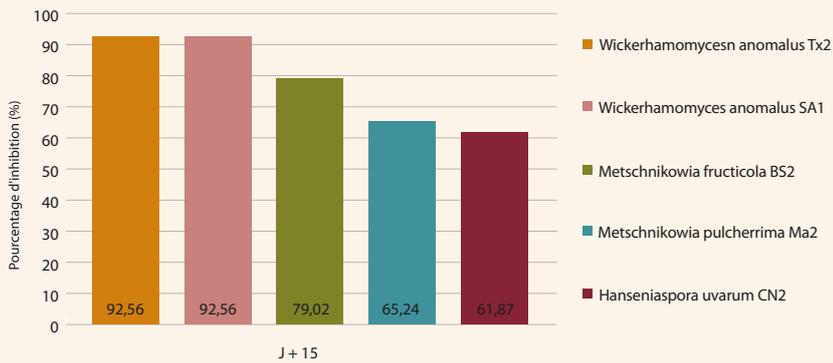


Figure 4. Pourcentage d'inhibition de *B. cinerea* par les différentes souches de levures à J+12 en conditions *in vitro*.

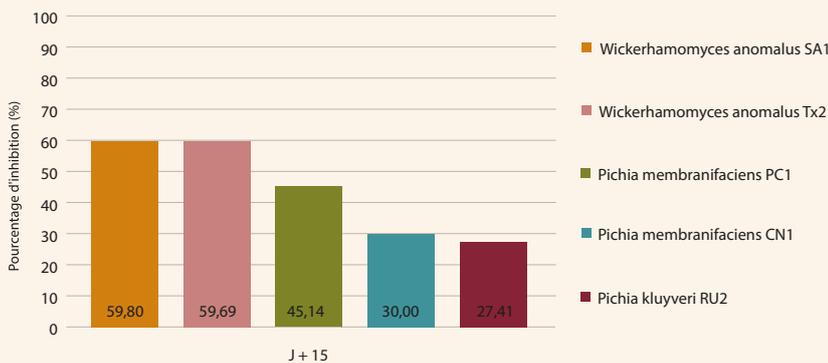


Figure 5. Pourcentage d'inhibition de *P. digitatum* par les différentes souches de levures à J+12 en conditions *in vitro*.



Figure 6. Pourcentage d'inhibition de *P. expansum* par les différentes souches de levures à J+12 en conditions *in vitro*.

Après une recherche dans la littérature scientifique, 22 espèces de levures disponibles dans la collection de HEPIA ont montré des effets contre au moins un des pathogènes d'intérêt pour ce travail. Des essais de confrontation en laboratoires sur 25 souches de levures ont été menés en conditions *in vitro* pour confirmer les résultats obtenus dans la littérature. Ces essais ont permis de mettre en évidence le potentiel d'inhibition de neuf souches de levures. Toutes ces souches ont inhibé de manière significative au moins un des pathogènes en conditions *in vitro*. CN1, PC1, RU2, Tx2 et Sa1 ont inhibé *P. digitatum*. Ma2, NBE-B01, Tx2 et Sa1 ont inhibé *P. expansum*. BS2, CN2, Ma2, Tx2 et Sa1 ont inhibé *B. cinerea*.

Les deux souches Sa1 et Tx2 de l'espèce *Wickerhamomyces anomalus* ont montré une activité inhibitrice significative contre les trois pathogènes. Elles méritent donc d'être étudiées de façon plus approfondie afin de pouvoir être considérées comme un possible agent de lutte biologique contre les maladies post-récoltes qui pourrait être appliqué en culture ou juste avant la récolte. D'autres recherches dans ce sens nécessiteront d'être menées afin de confirmer ces résultats et d'évaluer les effets de ces deux souches de levures en conditions réelles d'application sur fruits.

Plus généralement, un approfondissement de la compréhension des modes d'actions des levures et de leur fonctionnement permettrait de proposer des produits commerciaux les plus performants possible et ainsi répondre aux attentes des producteurs. ■

Bibliographie

- Lucas J.A., Hawkins N.J., Fraaije B.A., 2015. The evolution of fungicide resistance. *Adv. Appl. Microbiol.* **90**, 29–92.
- OFAG, 2021. Plan d'action Produits phytosanitaires. <https://www.blw.admin.ch/blw/fr/home/nachhaltige-produktion/pflanzenschutz/aktionsplan.html>
- Pretschner J., Fischkal T., Branscheidt S., Jäger L., Kahl S., Schlander M., Thines E., Claus H., 2018. Yeasts from different habitats and their potential as biocontrol agents. *Fermentation* **4**(2), p31.
- Spadaro D., Droby S., 2016. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends Food Sci. Technol.* **47**, 39–49.
- Walker G.M., Mcleod A.H., Hodgson V.J., 1995. Interactions between killer yeasts and pathogenic fungi. *FEMS Microbiol. Lett.* **127**(3), 213–222.