



Effet du trans-resvératrol sur la croissance et la production de l'ochratoxine A par les espèces *Aspergillus tubingensis* et *A. foetidus*

Souad QJIDAA¹, Adil LAAZIZ¹, Abdelouahed HAJJAJI^{1,2*} et Amina BOUSETA¹

¹ Laboratoire d'Agroalimentaire et Sécurité Sanitaire des Aliments, Département de Biologie, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès. B.P: 1796 Fès-Atlas, 30003 Maroc, Tél: +212(0)535642398, Fax: +212(0)535642500.

² Laboratoire de Biotechnologie et de Développement Durable des Ressources Naturelles, Département de Biologie, Faculté Polydisciplinaire, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal, BP: 592, Mghila, CP: 23000. Beni Mellal, Maroc, Tél : +212(0)5234246 85/16, Fax: +212(0)523424597

*Auteur correspondant ; E-mail : a.hajjaji@usms.ma

RESUME

Le recours au traitement des champignons par des molécules bioactives dotées d'une activité antifongique est un champ de recherche en plein essor. Le trans-resvératrol, un composé naturel des raisins exploité pour son activité anti-oxydante et antifongique, a été utilisé à différentes concentrations pour tester son effet sur la phase de latence, la croissance fongique et la production de l'ochratoxine A (OTA) par des souches d'*Aspergillus* isolées à partir de raisin noir marocain (six *Aspergillus tubingensis* et un *A. foetidus*) dont trois sont ochratoxinogènes et quatre sont non-ochratoxinogènes. Le resvératrol a été dilué dans l'éthanol, les concentrations finales utilisées sont : 0,2 ; 2 ; 20 et 200 µg/ml. L'étude a été faite à 25 °C à l'obscurité pendant sept jours. Les résultats ont montré que la phase de latence n'a pas été affectée par l'ajout du trans-resvératrol dans le milieu de culture alors que le taux de croissance radiale a été réduit selon la concentration appliquée. Parallèlement, aucune stimulation de la production d'OTA par les souches non-ochratoxinogènes n'a été détectée. Cependant, la production d'OTA par les souches ochratoxinogènes a été réduite chez toutes les souches testées. En conclusion le resvératrol pourrait réduire la croissance radiale des *Aspergillus* testés et réduire les taux d'ochratoxine A produite par les souches ochratoxinogènes.

© 2018 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: Trans-resvératrol, *Aspergillus*, croissance fongique, OTA, vigne.

Trans-resveratrol effect on growth and ochratoxine A production by *Aspergillus tubingensis* and *A. foetidus* species

ABSTRACT

The use of fungi treatment with bioactive molecules with antifungal activity is a field of research in full swing. Trans-resveratrol, a natural compound of the grapes exploited for its antioxidant and antifungal activity, was used at different concentrations to test its effect on the lag phase, fungal growth and production of ochratoxin A (OTA) by *Aspergillus* strains isolated from Moroccan black grapes (six *Aspergillus tubingensis* and one *A. foetidus*), three of which are ochratoxinogenic and four are non-ochratoxinogenic. The resveratrol was diluted in ethanol, the final concentrations used were: 0.2; 2; 20 and 200 µg / ml. The study was done at 25

°C in the dark for seven days. The results showed that the lag phase was not affected by the addition of trans-resveratrol in the culture medium while the radial growth rate was reduced according to the applied concentration. At the same time, no stimulation of OTA production by non-ochratoxinogenic strains was detected. However, OTA production by ochratoxinogenic strains was reduced in all tested strains. In conclusion, resveratrol could reduce the radial growth of *Aspergillus* tested and reduce levels of ochratoxin A produced by ochratoxinogenic strains.

© 2018 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Trans-resveratrol, *Aspergillus*, fungal growth, OTA, vine.

INTRODUCTION

L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine issue du métabolisme secondaire des moisissures appartenant principalement aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Lors de la dernière évaluation réalisée par le CIRC (IARC, 1993), l'OTA a été classée dans le groupe 2B: comme cancérigène possible pour l'homme, ceci en plus de ses propriétés mutagènes, tératogènes, néphrotoxiques, immunotoxiques démontrées (O'Brien et al., 2005 ; Larsen et al., 2005 ; Ringot et al., 2006 ; Pfohl Leszkowicz et Manderville, 2007; Njobeh et al., 2009 ; Lian et al., 2014 ; Loboda et al., 2017 ; Tao et al., 2018).

L'occurrence de l'OTA au Maroc a été démontrée dans plusieurs denrées alimentaires (Hajjaji et al., 2006 ; Zinedine et al., 2006, 2007). Selon Vega et al. (2009), 50% des denrées contaminées par l'OTA, destinées à l'alimentation humaine, proviennent des produits céréaliers. Le second groupe de produits contaminés par l'OTA sont les raisins et dérivés. D'autres études ont montré que les espèces de la section *Nigri* prédominent dans les produits de la vigne (Bejaoui et al., 2005 ; Leong et al., 2006 ; Selouane et al., 2009, Lasram et al., 2012) dont certaines espèces ont été reconnues comme espèces ochratoxinogènes et contaminants majeurs des raisins (Battilani et al., 2003, 2004 ; Belli et al., 2004 ; Bejaoui et al., 2005 ; Selouane et al., 2009).

L'utilisation de composés chimiques, pour éviter la contamination fongique et la production de mycotoxines, est une stratégie très importante. Mais il a été rapporté que l'application de certains fongicides peut stimuler la production de mycotoxines comme

réponse des champignons au stress (Jurado et al., 2008 ; Schmidt-Heydt et al., 2008 ; Zouhair et al., 2014). L'utilisation d'antioxydant tel que le resvératrol pour prévenir la contamination fongique et la production de mycotoxines est une alternative aux fongicides en plein essor. Le trans-resvératrol est une phytoalexine de la vigne, il a été démontré qu'il est fongitoxique contre *Botrytis cinerea* (Adrian et Jeandet, 2012). De même Fanelli et al. (2003) ont rapporté que le resvératrol inhibe dans certaines conditions, la production de l'OTA par *Penicillium verrucosum*. C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de notre travail qui consiste à tester *in vitro* l'effet du trans-resvératrol sur la croissance fongique et la production d'OTA par *A. tubingensis* et *A. foetidus* isolés à partir de raisin marocain.

MATERIEL ET METHODES

Espèces fongiques étudiées

L'étude est réalisée sur des champignons isolés à partir de vignobles à maturité de deux régions différentes du Maroc (Meknès et Tiflet). Les souches ont été isolées sur milieu DRBC, purifiées sur milieu CYA puis identifiées par voie macroscopique, microscopique et moléculaire. Les caractéristiques des isolats sont représentées dans le Tableau 1.

Préparation des concentrations de trans-resvératrol dans le milieu CYA

L'effet de la concentration en trans-resvératrol dans le milieu de culture CYA sur la croissance et la synthèse de l'OTA par les 7 souches d'*Aspergillus* a été évalué. En effet, à partir d'une solution mère (100 mg/5 ml) de trans-resvératrol standard (Sigma) préparé

dans l'éthanol, des volumes précis de la solution mère ont été incorporés aseptiquement dans les milieux CYA stériles maintenus en surfusion pour aboutir aux concentrations de 200, 20, 2 et 0,2 µg/ml en trans-resvératrol. Ensuite, chaque milieu contenant une concentration déterminée a été coulé aseptiquement (à l'obscurité) dans des boîtes de Pétri stériles de 90 mm de diamètre. 10 µl de la suspension sporale ajustée à 10⁵ spores/ml ont été déposés au centre de chaque boîte de Pétri. Tous les essais ont été réalisés en triple à chaque concentration et pour chaque souche. Le témoin a été réalisé dans les mêmes conditions en ajoutant le même volume de solvant (éthanol) dépourvu de resvératrol. Toutes les boîtes ont été incubées à 25 °C à l'obscurité pendant sept jours.

Evaluation de la croissance fongique et le taux d'inhibition du trans-resvératrol

Les boîtes de Pétri ont été examinées chaque jour au cours de la période d'incubation et les deux diamètres perpendiculaires des colonies en croissance ont été déterminés. La pente de la droite obtenue par régression linéaire du rayon de colonie en fonction du temps a été utilisée pour déterminer les taux de croissance (mm/jour). Par ailleurs, la phase de latence correspond au temps (en jours) au bout duquel chaque colonie atteint un diamètre de 5 mm (Astoreca et al. (2009)). Le pourcentage d'inhibition de la croissance a été déterminé par la formule suivante : $\% I = \frac{C_t - C_f}{C_t} * 100$

C_t = Taux de croissance des colonies témoins
C_f = Taux de croissance en présence du trans-resvératrol

Evaluation du pouvoir ochratoxinogène des souches isolées

L'extraction de l'OTA a été faite selon la méthode de Bragulat et al. (2001). Après sept jours d'incubation, trois carottes (7 mm de diamètre) ont été prélevées à l'emporte-pièce à partir de chaque colonie (qui ont servi pour l'évaluation du taux de croissance), pesées et introduites dans un tube Eppendorf. Après ajout de 1 ml de méthanol et broyage, les tubes Eppendorf ont été ensuite agités à

l'aide d'un vortex et incubés pendant 60 minutes à 25 °C. Après centrifugation des tubes 3 fois à 13000 t/min pendant 10 minutes, les surnageants ainsi obtenus ont été filtrés à l'aide de filtres seringues millipore (PVDF hydrophobic, Acrodisk LC 13 ; 0,2 µm de diamètre). L'ochratoxine A des extraits de culture a été analysée par HPLC et le pouvoir ochratoxinogène a été exprimé en µg/g de CYA.

Analyse des extraits par HPLC

L'analyse de l'OTA a été réalisée par HPLC modèle (HP Agilent Technologies série 1100) équipé d'une boucle d'injection de 20 µl et couplé à un détecteur fluorimétrique de type HP G132A. Les métabolites des extraits fongiques ont été séparés sur une colonne en phase inverse (Zorbax SB-C18 ; 4,6 x 250 mm, l'épaisseur du film est de 5 µm). La détection a été faite grâce à un détecteur fluorimétrique Agilent (FLD C 1321A) à une longueur d'onde d'excitation de 330 nm et une longueur d'onde d'émission de 460 nm. La phase mobile est pompée à un débit de 1 ml/min et l'OTA a été analysée en mode isocratique (Acétonitrile/eau/acide acétique : 44/2/54 ; V/V/V). Le volume d'injection est de 20 µl via un injecteur Rhéodyne 7725i (USA). L'OTA standard a un temps de rétention de 7 min. La concentration de l'OTA a été déterminée sur base d'une droite d'étalonnage de l'OTA standard, établie pour chaque série d'analyse et dans les mêmes conditions.

Analyse statistique

Dans tous les cas, les régressions linéaires de l'augmentation des rayons des colonies en fonction du temps (jours) ont été utilisées pour obtenir les taux de croissance (mm/jour). Ces régressions ont été obtenues par le programme Microsoft Excel version 2010. L'analyse de la variance pour l'effet de l'interaction des différents traitements sur la croissance et les concentrations d'OTA déterminées dans les milieux de culture a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, IL, USA).

Tableau 1 : Caractéristiques des isolats testés.

Code LASSA	Code MUCL	Source d'isolement	Production OTA	Espèces
Tf1	MUCL54477	Tiflet	-	<i>Aspergillus foetidus</i>
Tf4	MUCL54478	Tiflet	-	<i>Aspergillus tubingensis</i>
H-3	MUCL54485	Meknès	-	<i>Aspergillus tubingensis</i>
I-4	MUCL54486	Meknès	-	<i>Aspergillus tubingensis</i>
AV19	MUCL54481	Meknès	+	<i>Aspergillus tubingensis</i>
S2	MUCL54483	Tiflet	+	<i>Aspergillus tubingensis</i>
S3	MUCL54484	Tiflet	+	<i>Aspergillus tubingensis</i>

- : OTA non détectée, + : Production d'OTA

RESULTATS

Effet du trans-resvératrol sur la phase de latence et la croissance fongique d'*Aspergillus tubingensis* et *A. foetidus*

Les résultats de cette étude ont montré que la phase de latence n'a pas été affectée par l'ajout des différentes concentrations de trans-resvératrol. Le diamètre de la colonie a atteint 5 mm en un à deux jours pour tous les essais y compris les témoins (Tableau 2).

Les taux de croissance des isolats ochratoxinogènes et non-ochratoxinogènes sur milieu CYA supplémenté de resvératrol à différentes concentrations finales (0: témoin, 0,2 ; 2 ; 20 et 200 µg/ml) sont présentés sur le Tableau 3. Comme on peut le constater, les taux de croissance des isolats non-ochratoxinogènes en absence de resvératrol sont compris entre 7,92 et 8,43 mm/jour avec une moyenne de 8,11 mm/jour. Alors que chez les isolats ochratoxinogènes les taux de croissance sont compris entre 7,43 et 8,18 mm/jour avec une moyenne de 7,87 mm/jour.

L'ajout de resvératrol dans le milieu de culture a provoqué en général une réduction de la croissance radiale par rapport aux témoins, pour la plupart des concentrations et isolats testés. A titre d'exemple, les taux de croissance de l'isolat *Aspergillus foetidus* MUCL 54477 ont varié, selon la concentration appliquée, de 8,07 mm/jour pour le témoin à 6,43 mm/jour pour la plus grande concentration de resvératrol (200 µg/ml). A

cette concentration le taux d'inhibition maximal étant de 20,32%. Les moyennes des taux de croissance des isolats non-ochratoxinogènes sont de 7,22, 7,76, 7,46 et 6,40 mm/jour pour les concentrations respectives de resvératrol de 0,2, 2, 20 et 200 µg/ml. Alors que pour les isolats ochratoxinogènes, les moyennes des taux de croissance sont de 7,22, 6,53, 7,14 et 5,93 mm/jour pour les mêmes concentrations respectives de resvératrol. Par ailleurs les meilleurs taux d'inhibition ont été obtenus aussi bien pour les isolats non-ochratoxinogènes (21,09%) que pour les isolats ochratoxinogènes (24,65%) à la plus grande concentration de resvératrol (200 µg/ml). Cependant, l'augmentation de la concentration de resvératrol n'augmente pas systématiquement le taux d'inhibition. En effet la Figure 1 montre que pour des concentrations inférieures à 200 µg/ml, les taux d'inhibition (10,95%) à 0,2 µg/ml sont en général supérieurs à ceux obtenus à 2 µg/ml (4,31%) pour les isolats non-ochratoxinogènes, alors que c'est l'inverse qui a été observé pour les isolats ochratoxinogènes. En effet, le pourcentage d'inhibition moyen chez ces derniers à 0,2 µg/ml est de 8,26% contre 17% à 2 µg/ml.

L'analyse de la variance (Tableau 4) a montré que la concentration du trans-resvératrol et les isolats influencent de manière significative la croissance fongique

($p=0,000$ et $p=0,004$). Cependant, l'effet de l'interaction des concentrations en trans-resvératrol et des isolats d'*Aspergillus foetidus* et *A. tubingensis* sur la croissance fongique n'a pas été significative ($p=0,112$).

Effet du trans-resvératrol sur la production de l'OTA par *Aspergillus tubingensis* et *A. foetidus*

Les concentrations moyennes de l'OTA détectées dans les extraits des cultures sont présentées au Tableau 5. Ces résultats montrent que l'OTA n'a pas été détecté dans les milieux de culture des isolats non-

ochratoxinogène, quelle que soit la concentration du resvératrol testée. On peut déduire qu'aucune stimulation de la production de cette toxine n'a été quantifiée. Cependant pour les souches ochratoxinogènes, l'OTA n'a pas été détectée dans certaines conditions ou de faibles teneurs par rapport aux témoins ont été quantifiées. Le resvératrol semble inhiber la production de l'OTA. En effet, dans les extraits de cultures où l'OTA a été détectée, les concentrations ne dépassent pas 0,2 ng/g de gélose alors que les teneurs des témoins sont comprises entre 0,54 et 3,87 ng/g de gélose.

Tableau 2: Phase de latence des souches d'*Aspergillus tubingensis* et *A. foetidus* sur milieu CYA additionné de différentes concentrations de trans-resvératrol à 25 °C.

Trans-resvératrol (µg/g de gélose)	Isolats ochratoxinogènes <i>A. tubingensis</i> (3)	Isolats non-ochratoxinogènes <i>A. foetidus</i> (1) et <i>A. tubingensis</i> (3)
0 (Témoin)	1 à 2 jours	1 à 2 jours
0,2	1 à 2 jours	1 à 2 jours
2	1 à 2 jours	1 à 2 jours
20	1 à 2 jours	1 à 2 jours
200	1 à 2 jours	1 à 2 jours

Tableau 3 : Effet de différentes concentrations du trans-resvératrol sur le taux de croissance des isolats d'*A. tubingensis* et *A. foetidus*.

Isolats	Taux de croissance radiale (mm/jour)				
	Concentration de resvératrol dans le milieu CYA (µg/ml)				
	Témoins	0,2	2	20	200
Isolats non-ochratoxinogènes					
<i>A. foetidus</i> MUCL 54477	8,07±0,00	7,61±0,25	8,07±0,00	7,57±0,20	6,43±0,00
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54478	8,00±0,00	7,29±0,00	7,72±0,01	7,50±0,00	6,29±0,00
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54485	8,43±0,00	6,61±0,06	7,87±0,00	7,20±0,04	6,57±0,00
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54486	7,92±0,10	7,39±0,25	7,36±0,00	7,57±0,00	6,32±0,05
*MTC (mm/jour)	8,11	7,22	7,76	7,46	6,40
Isolats ochratoxinogènes					
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54481	8,00±0,00	6,47±0,06	5,75±0,85	6,93±0,00	6,21±0,11
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54483	7,43±0,00	7,43±0,00	6,50±0,00	6,93±0,00	5,36±0,00
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54484	8,18±0,05	7,77±0,00	7,36±0,00	7,57±0,00	6,23±0,00
MTC (mm/jour)	7,87	7,22	6,53	7,14	5,93

*MTC : Moyenne des taux de croissance

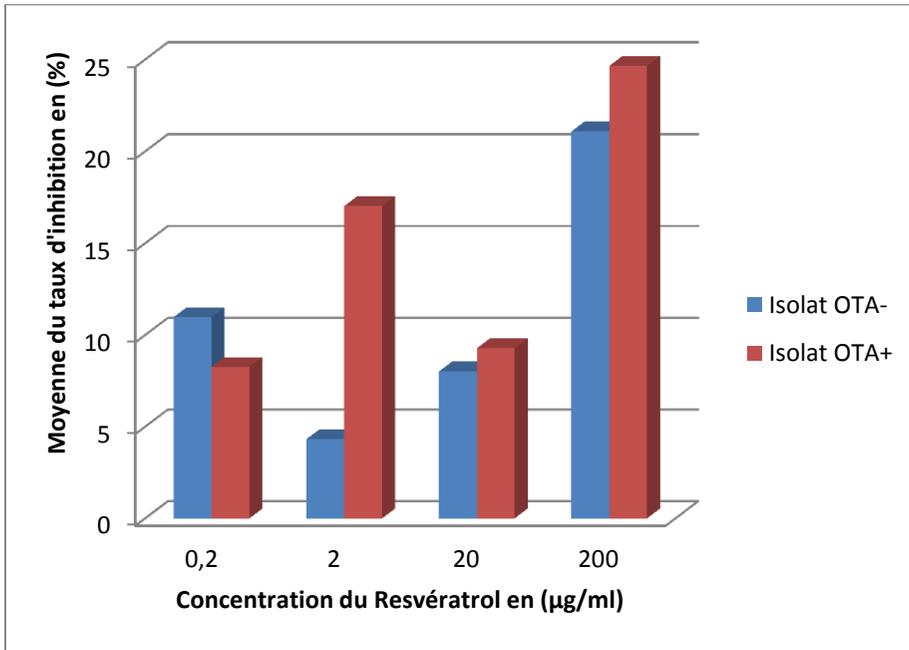


Figure 1: Moyennes des taux d’inhibition calculées pour tous les isolats d’*A. tubingensis* et *A. foetidus* sur milieu CYA en présence du trans-resvératrol à différentes concentrations (0: témoin; 0,2 ; 2 ; 20 et 200 µg/ml) à 25 °C.

Tableau 4: Analyse de la variance des effets du trans-resvératrol, des isolats et leurs interactions sur les taux de croissance d’*Aspergillus niger* agrégats (sept isolats : six *A. tubingensis* et un *A. foetidus*) sur milieu CYA.

Source	Somme des carrés de type III	ddl ^(a)	Moyenne des carrés	F ^(b)	P ^(c)
Modèle corrigé	37,272	34	1,096	6,142	0,000
Ordonnée à l'origine	3464,082	1	3464,082	19407,868	0,000
Souches	4,227	6	0,705	3,947	0,004
Concentration	26,346	4	6,587	36,902	0,000
Souches * Concentration	6,698	24	0,279	1,564	0,112
Erreur	6,247	35	0,178		
Total	3507,601	70			
Total corrigé	43,519	69			

^{a)} ddl: degré de liberté;

^{b)} F: Ratio

^{c)} P: signification.

Tableau 5: Effet du resvératrol sur la production de l'OTA par *A. tubingensis* et *A. foetidus* sur milieu CYA.

Isolats	Production de l'OTA (ng/g de gélose)				
	Concentration de resvératrol dans le milieu CYA				
	Témoin	(µg/ml)			
0,2		2	20	200	
Isolats non-ochratoxinogènes					
<i>A. foetidus</i> MUCL 54477	ND	ND	ND	ND	ND
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54478	ND	ND	ND	ND	ND
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54485	ND	ND	ND	ND	ND
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54486	ND	ND	ND	ND	ND
Isolats ochratoxinogènes					
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54481	0,54±0,51	ND	0,08±0,11	0,07±0,10	0,06±0,09
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54483	2,68±0,70	ND	ND	ND	0,07±0,10
<i>A. tubingensis</i> MUCL 54484	3,87±3,28	0,08±0,11	0,07±0,10	0,09±0,12	0,20±0,02

ND : non détecté

DISCUSSION

D'après Ahuja et al. (2012), les stilbènes sont des métabolites secondaires produits suite à un stress comme l'attaque par un agent pathogène. Ils peuvent s'accumuler dans les tissus végétaux pour inhiber la croissance fongique et sont donc considérés comme des phytoalexines. En outre, Fanelli et al. (2003) ont démontré que le resvératrol a la capacité d'inhiber la biosynthèse de certaines mycotoxines.

Pour tester l'effet d'une de ces phytoalexines sur la croissance fongique et la production de l'OTA par les isolats marocains, le resvératrol a été sélectionné pour son pouvoir antifongique et sa capacité à inhiber la production de certaines mycotoxines (Aldred et al., 2008). Nos résultats ont montré que l'ajout de différentes quantités de resvératrol (concentrations finales

de 0,2 à 200 µg/ml) au milieu de culture (CYA) inhibe la croissance radiale des souches d'*Aspergillus tubingensis* et *A. foetidus* isolées du raisin marocain. A titre d'exemple, à une concentration de 200 µg/ml, le taux d'inhibition de la croissance fongique est de 24,07% et 21,9% pour les ochratoxinogènes et non-ochratoxinogènes respectivement. De tels taux faibles d'inhibition ont également été rapportés par Filip et al. (2003). Ces auteurs ont montré que des concentrations de resvératrol de 11 et 22 µg/ml réduisent la croissance in vitro d'*A. niger* de 36,4 et 55,8%, respectivement. Jeandet et al., (2002) ont par ailleurs montré que la concentration du resvératrol nécessaire pour réduire de 50% les conidies en état de dormance ou le nombre de spores de *Botrytis cinerea* est supérieure à 200 mg/ml. Recemment, Xu et al. (2018) ont également

montré que le resvératrol et cinq autres composés phénoliques (catéchol, coumarine, naringénine, ptérostilbène et piceatannol) présentent une activité antifongique avec une inhibition de la croissance de plus de 20%.

A côté de son action antifongique, le resvératrol serait capable d'inhiber la biosynthèse de certaines mycotoxines. En effet, nos résultats n'ont montré aucune stimulation de la production de l'OTA pour les souches non-ochratoxinogènes quelle que soit la concentration du resvératrol (0,2 à 200 µg/L) dans le milieu de culture. Quant aux souches ochratoxinogènes, l'OTA n'a pas été détectée dans certaines conditions ou de faibles teneurs par rapport aux témoins ont été quantifiées. Le resvératrol semble inhiber la production de l'OTA. Ces résultats sont en accord avec ceux de Fanelli et al., (2003) qui ont aussi constaté que le resvératrol à 230 µg/g inhibait à 90% la production d'OTA par *P. verrucosum* sur des grains de blé stérilisées à une activité de l'eau de 0,95. Des études similaires ont également montré que le resvératrol peut contrôler les populations fongiques de différentes espèces (Aldred et al., 2008) ainsi que la biosynthèse de l'OTA par *Aspergillus ochraceus* dans les graines (Reverberi et al., 2010). De même Perrone et al., (2007) ont rapporté qu'il y avait une corrélation directe entre les concentrations élevées de stilbènes et la contamination des raisins par l'OTA. Des études ont en effet démontré que l'expression des gènes de la stilbène synthase est induite dans les raisins en cuve par *A. carbonarius* et l'induction est significativement plus élevée dans les variétés résistantes à la maladie par rapport aux variétés sensibles (Bavaresco et al., 2003 ; Vezzulli et al., 2007).

Conclusion

L'utilisation de resvératrol comme alternative aux fongicides pour prévenir la contamination fongique et la production de mycotoxines est une pratique en plein essor. De ce fait dans notre travail, nous avons testé in vitro l'effet de la concentration en resvératrol sur la croissance et la production

de l'OTA chez sept *Aspergillus* isolés de vignobles marocains.

Les résultats ont montré que l'ajout de resvératrol dans le milieu de culture provoque en général une réduction de la croissance radiale par rapport aux témoins pour la plupart des concentrations et isolats testés. A des concentrations élevées (200 µg/ml) de resvératrol les meilleurs taux d'inhibition atteint 21,9% chez les non-ochratoxinogènes et 24,65% pour les ochratoxinogènes.

Le resvératrol n'a pas stimulé la synthèse de l'OTA chez les souches non ochratoxingènes. Cependant chez les souches ochratoxinogènes, le resvératrol semble inhiber la production de l'OTA. Celle-ci n'a pas été détectée dans certaines conditions, ou de faibles teneurs par rapport aux témoins ont été quantifiées. On peut conclure que le resvératrol pourrait inhiber la croissance fongique et la production de mycotoxines.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'y a pas de conflits d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

SQ a réalisé tout le travail pratique et l'analyse statistique ainsi que l'interprétation des données de l'étude, elle a également contribué à la rédaction de la première version de cet article, AL a préparé les dilutions du resvératrol et a pris les mesures de croissance et a calculé les taux de croissance des souches testées, il a aussi effectué les dosages de l'OTA par HPLC. AH a contribué à la rédaction du protocole expérimental et à la rédaction du manuscrit et aussi a participé en tant qu'auteur correspondant pour la soumission de l'article. AB a dirigé les travaux de recherche et a contribué à la relecture du manuscrit.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient tout le personnel du Laboratoire de sécurité Sanitaire des Aliments, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès.

REFERENCES

- Adrian M, Jeandet P. 2012. Effects of resveratrol on the ultrastructure of *Botrytis cinerea* conidia and biological significance in plant/pathogen interactions. *Fitoterapia*, **83**(8): 1345–1350. DOI: 10.1016/j.fitote.2012.04.004
- Ahuja I, Kissen R, Bones AM. 2012. Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends Plant Sci.*, **17**(2): 73–90. DOI : 10.1016/j.tplants.2011.11.002
- Aldred A, Victoria Cairns-Fuller V, Magan N. 2008. Environmental factors affect efficacy of some essential oils and resveratrol to control growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *A. westerdijkiae* on wheat grain. *J. Stored Prod. Res.*, **44**(4): 341-346. DOI: org/10.1016/j.jspr.2008.03.004
- Astoreca A, Barberis C, Magnoli C, Combina M, Dalcerro A. 2009. Influence of ecophysiological factors on growth, lag phase and ochratoxine A production by *Aspergillusniger* aggregate strains in irradiated corn grains. *Int. J. Food Microbiol.*, **129**: 174-179. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.11.019
- Battilani P, Giorni P, Pietri A. 2003. Epidemiology of toxin-producing fungi and ochratoxine A occurrence in grape. *Eur. J. Plant Pathol.*, **109**: 715-722. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1026030408338>
- Battilani P, Logrieco A, Giorni P, Cozzi G, Bertuzzi T, Pietri A. 2004. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* on some grape varieties grown in Italy. *J. Sci. Food Agr.*, **84**: 1736-1740. DOI: 10.1002/jsfa.1875
- Bavaresco L, Vezzulli S, Battilani P, Giorni P, Pietri A, Bertuzzi T. 2003. Effect ochratoxin A producing *Aspergilli* on stilbenic phytoalexin synthesis in grapes. *J. Agric. Food Chem.*, **51**(21): 6151-6157. DOI: 10.1021/jf0301908
- Bejaoui H, Mathieu F, Taillandier P, Lebrihi A. 2005. Conidia of *black Aspergilli* as new biological adsorbents for ochratoxin A in grape juices and musts. *J. Agric. Food Chem.*, **53**(21): 8224-8229. DOI: 10.1021/jf051029v
- Belli N, Ramos AJ, Sanchis V, Marin S. 2004. Incubation time and water activity effects on ochratoxine A production by *Aspergillus* section *Nigri* strains isolated from grapes. *Lett. Appl. Microbiol.*, **38**: 72-77. DOI:10.1046/j.1472-765X.2003.01445.x
- Bragulat MR, Abarca ML, Cabanes FJ. 2001. An easy screening method for fungi producing Ochratoxin in Pure Culture. *Int. J. Food Microbiol.*, **71**: 139-144. DOI: org/10.1016/S0168-1605(01)00581-5
- Fanelli C, Taddei F, Trionfetti Nisini P, Jestoi M, Ricelli A, Visconti A, Fabbri AA. 2003. Use of resveratrol and BHA to control fungal growth and mycotoxin production in wheat and maize seeds. *Asp. Appl. Biol.*, **68**: 63-71.
- Filip V, Plocková M, Šmidrkal J, Špičková Z, Melzoch K, Schmidt S. 2003. Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. *Food Chem.*, **83**(4): 585-593. DOI: org/10.1016/S0308-8146(03)00157-2
- Hajjaji A, El Otmani M, Bouya D, Bouseta A, Mathieu F, Collin S, Lebrihi A. 2006. Occurrence of mycotoxins (ochratoxin A, deoxynivalenol) and toxigenic fungi in Moroccan wheat grains: impact of ecological factors on the growth and ochratoxin A production. *Mol. Nutr. Food Res.*, **50**: 494-499. DOI: 10.1002/mnfr.200500196
- Hongguang Lian, Jinfeng Cui, Yuan Wang, Jing Liu, Juan Wang, Haitao Shen, Lingxiao Xing, Junling Wang, Xia Yan, Xianghong Zhang. 2014. Down regulation of Rad51 participates in OTA-induced DNA double-strand breaks in GES-1 cells in vitro. *Toxicol. Lett.*, **226**(2): 214-221. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.02.02>

- IARC (International Agency for research on cancer) 1993. Ochratoxin A. In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances; food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins (Vol 56). IARC: Lyon; 489-521
- Jeandet P, Anne-Breuil AC, Bessis R, Debord S, Sbaghi M, Adrian M. 2002. Phytoalexins from the Vitaceae: Biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity and metabolism. *J. Agric. Food Chem.*, **50**: 2731-2741. DOI: 10.1021/jf011429s
- Jurado M, Marin P, Magan N, Gonz´ales-Jaen MT. 2008. Relationship between solute and matrix potential stress, temperature, growth and FUM1 gene expression in two *Fusarium verticillioides* strains from Spain. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**(7): 2032-2036. DOI: 10.1128/AEM.02337-07
- Larsen TO, Smedsgaard J, Nielsen KF, Hansen ME, Frisvad JC. 2005. Phenotypic taxonomy and metabolite profiling in microbial drug discovery. *Nat. Prod. Rep.*, **22**: 672-695. DOI: 10.1039/b404943h
- Lasrama S, Oueslati S, Mliki A, Ghorbel A, Silar P, Chebil S. 2012. Ochratoxin A and ochratoxigenic black *Aspergillus* species in Tunisian grapes cultivated in different geographic areas. *Food Control.*, **25**: 75-80. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.10.006
- Leong SL, Hocking AD, Varelis P, Gannikopoulos G, Scott ES. 2006. Fate of Ochratoxin A during vinification of Semillon and Shiraz grapes. *J. Agric. Food Chem.*, **54**: 6460-6464. DOI: 10.1021/jf061669d
- Loboda A, Stachurska A, Sobczak M, Podkalicka P, Mucha O, Jozkowicz A, Dulak J. 2017. Nrf2 deficiency exacerbates ochratoxin A-induced toxicity in vitro and in vivo. *Toxicology*, **389**: 42-52. DOI: 10.1016/j.tox.2017.07.004.
- Njobeh PB, Dutton MF, Chuturgoon AA, Koch SH, Steenkamp PA, Stoev SD. 2009. Identification of novel metabolite and its cytotoxic effect on human lymphocyte cells in comparison to other mycotoxins., *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **3**(3): 524-531.
- O'Brien E , Prietz A, Dietrich DR. 2005. Investigation of the teratogenic potential of ochratoxin A and B using the FETAX system. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.*, **74**(5): 417-23. DOI: 10.1002/bdrb.20054
- Perrone G, Nicoletti I, Pascale M, De Rossi A, De Girolamo A, Visconti A. 2007. Positive correlation between high levels of ochratoxin A and resveratrol related compounds in red wines. *J. Agric. Food Chem.*, **55**: 6807-6812. DOI: 10.1021/jf0709931
- Pfohl-Leskowicz A , Manderville RA. 2007. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol Nutr Food Res.*, **51**(1): 61-99. DOI : 10.1002/mnfr.200600137
- Reverberi M, Punelli F, Scarpari M, Camera E, Zjalic S, Ricelli A, Fanelli C, Fabbri AA. 2010. Lipoperoxidation affects ochratoxine A biosynthesis in *Aspergillus ochraceus* and its interaction with wheat seeds. *Appl. Microbiol. Biote.*, **85**: 1935-1946. DOI: 10.1007/s00253-009-2220-4
- Ringot D , Chango A, Schneider YJ, Larondelle Y. 2006. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chem Biol Interact.* **159**(1):18-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.10.106>
- Schmidt-Heydt M, Magan N, Geisen R. 2008. Stress induction of mycotoxin biosynthesis genes by abiotic factors. *FEMS Microbiol. Lett.*, **284**(2): 142-149. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01182.x
- Selouane A, Zouhair S, Bouya D, Lebrihi A, Bouseta A. 2009. Natural occurrence of ochratoxigenic *Aspergillus* species and ochratoxin A in Moroccan grapes. *World Appl. Sci. J.*, **7**(3): 297-305. DOI: [http://idosi.org/wasj/wasj7\(3\)/4.pdf](http://idosi.org/wasj/wasj7(3)/4.pdf)

- Tao Y, Xie S, Xu F, Liu A, Wang Y, Chen D, Pan Y, Huang L, Peng D, Wang X, Yuan Z. 2018. Ochratoxin A: Toxicity, oxidative stress and metabolism. *Food Chem Toxicol.*, **112**: 320-331. DOI: 10.1016/j.fct.2018.01.002
- Vega M, Munoz K, Sepulveda C, Aranda M, Campos V, Villegas R. 2009. Solid-phase extraction and HPLC determination of Ochratoxin A in cereals products on Chilean market. *Food Control.*, **20**(7): 631-634. DOI: org/10.1016/j.foodcont.2008.09.014
- Vezzulli S, Battilani P, Bavaresco L. 2007. Stilbene-synthase gene expression after *Aspergillus carbonarius* infection in grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, **58**: 132-134.
- Xu D., Y. Deng, T. Han, L. Jiang, P. Xi, Q. Wang, Z. Jiang, L. Gao. 2018. In vitro and in vivo effectiveness of phenolic compounds for the control of postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.*, **139**: 106-114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.08.019>
- Zinedine A, Soriano JM, Juan C, Mojemmi B, Moltó JC, Bouklouze A, Cherrah Y, Idrissi L, El Aouad R, Mañes J. 2007. Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Salé area, Morocco. *Food Addit. Contam.*, **24**(3): 285-291. DOI: 10.1080/02652030600967230
- Zinedine A, Brera C, Elakhdari S, Catano C, Debegnac FR, Angelini S, De Santis B, Faid M, Benlemlih M, Minardi V, Miraglia M. 2006. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control*, **17**: 868-874. DOI: org/10.1016/j.foodcont.2005.06.001
- Zouhair S, Qjidaa S, Selouane A, Bouya D, Decock C, Bouseta A. 2014. Effect of five on growth and ochratoxine A production by two *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus niger* isolated from Moroccan grape. *South Asian J. Exp. Biol.*, **4**(3): 118-126.