

	NOM ET PRENOM	GRADE	ETABLISSEMENT
Président	Pr EL HASSOUNI Mohammed	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès
Directeur de thèse	Pr BELKHOUE Rajae	PES	Ecole Supérieure de Technologie - Fès
Rapporteurs	Pr EL IMACHE Ahde	PES	Ecole Supérieure de Technologie - Fès
	Pr BRAGARD Claude	PH	Université Catholique de louvain-la-Neuve
	Pr HAJJAJI Hassan	PH	Faculté des Sciences - Meknès
Membres	Pr ENNAHAR Said	PH	Faculté de pharmacie Strasbourg-France
	Pr MONTET Didier		CIRAD Montpellier - France

Résumé :

Différents fruits, notamment les raisins, sont susceptibles d'être contaminés et altérés par plusieurs champignons pathogènes que ce soit en récolte et/ou en post-récolte. Deux espèces sont particulièrement concernées, *A. carbonarius* et *Aspergillus niger* aggregate qui, en plus de leur capacité à causer la pourriture noire des raisins, elles menacent la santé humaine et animale par la production de mycotoxines, essentiellement l'ochratoxine A (OTA). Bien que l'application d'antifongiques d'origine chimique reste l'un des outils les plus puissants pour lutter contre les champignons et leurs mycotoxines, leur utilisation reste limitée, à cause des effets néfastes sur la santé humaine et sur l'environnement et en raison du développement de résistances par les souches fongiques. Pour faire face à ces problèmes, les bactéries lactiques ont été largement étudiées pour leur capacité à inhiber la croissance fongique et peuvent être considérées comme une stratégie prometteuse pour le bio-contrôle des fruits. L'objectif de cette thèse porte principalement sur l'évaluation de l'activité antifongique de bactéries lactiques isolées à partir des produits marocains contre des espèces d'*Aspergillus* sp. ainsi que sur la production de l'OTA. Parmi les souches isolées, 4 ont montré une activité antifongique et leur identification par séquençage de l'ADNr 16S a montré qu'il s'agissait d'une souche de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LL-F) et de 3 souches de *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* (LM-I, LM-C et LM-D). L'activité des surnageants des 4 souches a montré des pourcentages d'inhibition de la croissance fongique assez importante allant de 28,69 % à 53,31 %. De même, la production d'OTA par les deux souches d'*Aspergillus* sp. a été significativement réduite en présence des surnageants de la souche *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LL-F) et de la souche *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* (LM-I), avec des pourcentages de réduction allant de 19,35 % jusqu'à 89,38 %. La caractérisation par UPLC/ Q-Tof des composés antifongiques présents dans les surnageants a permis d'identifier 5 acides organiques: l'acide phényllactique, l'acide DL- α -hydroxyphényllactique, l'acide (S)-2 hydroxyisocaproïque, l'acide 3-hydroxydécanoïque et l'acide DL- β -Hydroxymyristique. Seul l'acide phényllactique utilisé *in vitro* a montré une inhibition totale de la croissance d'*A. carbonarius* et d'*A. niger* à une concentration de 16 mg. mL⁻¹. De plus, l'utilisation du surnageant de la souche *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LL-F sur des raisins frais inoculées par *A. carbonarius*, a montré clairement l'efficacité de ce surnageant par inhibition de la prolifération de la souche fongique sur les raisins traités.

Mots clés : Bactéries lactiques, activité antifongique, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, ochratoxine A, biocontrôle.

Detection and characterization of antifungals metabolites from lactic acid bacteria isolated from terroir

Several fruits, especially grapes, are exposed to contamination and deterioration by different pathogenic fungi, either during harvest and/or post-harvest. Two species are particularly concerned, *A. carbonarius* and *Aspergillus niger* aggregate, which, in addition to their ability to cause black rot of grapes, can affect human and animal health by producing mycotoxins, mainly ochratoxin A (OTA). Although the application of chemical antifungals remains one of the most powerful strategies to control fungi and their mycotoxins, their use remains limited due to the harmful effects on human health and the environment and the development of resistance by fungal strains. To face these problems, lactic acid bacteria have been widely studied for their ability to inhibit fungal growth. They can be considered a promising strategy for fruit biocontrol. The objective of this thesis is focused on the evaluation of the antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from Moroccan produce against *Aspergillus* sp. species and OTA production. Among the isolated strains, 4 showed antifungal activity and their identification by 16S rDNA sequencing showed that they were one strain of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LL-F) and 3 strains of *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* (LM-I, LM-C and LM-D). The activity of the supernatants of the 4 strains showed significant inhibition of fungal growth ranging from 28.69% to 53.31%. Similarly, OTA production by both *Aspergillus* sp. Strains was significantly reduced in the presence of the supernatants of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LL-F) and *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* (LM-I), with percentages of reduction ranging from 19.35% to 89.38%. Characterization by UPLC/ Q-Tof of the antifungal compounds present in the supernatants identified 5 organic acids: phenyllactic acid, DL- ρ hydroxyphenyllactic acid, (S)-2 hydroxyisocaproic acid, 3-hydroxydecanoic acid and DL- β -hydroxymyristic acid. Only phenyllactic acid used in vitro showed complete growth inhibition of *A. carbonarius* and *A. niger* at a concentration of 16 mg. mL⁻¹. Moreover, the use of the supernatant of the strain *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LL-F on fresh grapes inoculated with *A. carbonarius* clearly showed the effectiveness of this supernatant by inhibiting the proliferation of the fungal strain on the treated grapes.

Key words: Lactic acid bacteria, antifungal activity, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, ochratoxin A, biocontrol.